

# BOSQUE

## CONTENIDO

### OPINIONES

- Salas-Eljatib C, A Promis. **Un llamado a la activación real de la Sociedad Chilena de Ciencias Forestales.** 209

### REVISIONES

- Gonçalves D, FA Rocco Lahr. **Deterioro y preservación de maderas mediante el uso de preservadores naturales de potencial interés en Brasil.** 213
- Santelices-Moya R, R Vergara, A Cabrera-Ariza, S Espinoza-Meza, P Silva-Flores. **Variación intra-específica en *Nothofagus glauca* una especie endémica de los bosques mediterráneos de Chile.** 221

### ARTÍCULOS

- Gómez Velázquez A, AE Tadeo Noble, L Beltrán-Rodríguez, E Guízar Nolasco, M Apodaca Martínez, Á Leyva Ovalle. **Coefficiente de asociación entre especies de selva mediana subperennifolia en Calakmul, México.** 233
- Sidnei Fior C, L Pinto Paim, M Caumo, L da Silva Alves, SF Schwarz. **Fertilización en la formación de plantas de *Butia odorata*.** 241
- Şahin U, M Özcan. **Efecto de diferentes métodos de conservación del suelo y plantación con el arbusto chamiza (*Atriplex canescens*) sobre la erosión del suelo en una región semiárida de Turquía.** 253
- Gomes Pires de Paula G, CR de Souza, V Andrade Maia, N de Aguiar-Campos, NC Alencar Fagundes, F Moreira Gianasi, D Teixeira Girardelli, AJ Rodrigues Pais, WB da Silva, RM dos Santos. **Estudio de la composición florística, funcional y filogenética de árboles en poco tiempo en un fragmento de bosque del bosque atlántico, Brasil.** 261
- Barrera Ramírez R, R González Cubas, EJ Treviño Garza, B González Larreta, R López Aguillón. **Áreas potenciales para establecer Unidades Productoras de Germoplasma Forestal con dos variedades de *Pinus pseudostrobus* en México.** 277
- Tunçkol B, N Aksoy, S Çoban, H Zengin. **Diversidad y ecología de las comunidades forestales en el Parque Nacional de las Montañas de Küre de Turquía.** 289
- Velasco-Bautista E, H de los Santos-Posadas, H Ramírez-Maldonado, G Rendón-Sánchez, JR Valdez-Lazalde, M Acosta-Mireles. **Estimadores para atributos forestales en una población simulada de selva mediana del sur de México.** 307
- dos Santos Vieira D, ML Romarco de Oliveira, JR Vasconcelos Gama, EL Mendonça Machado, B Lafeté Oliveira, AS Figueiredo. **Altura de Lorey para estratificación vertical de bosques naturales.** 321
- Alfonso OB, D Ariza-Mateos, G Palacios-Rodríguez, A Ginhas Manuela, FJ Ruiz-Gómez. **Perfiles proteómicos de *Pinus greggii* y *Pinus patula* a través de análisis de genómica funcional.** 333
- Azevêdo TKB, AAA Carnaval, BR F Silva, JGM Ucella Filhob, EVSB Sampaio, AS Pimenta, MJN Rodal. **Relación entre brote y raíz de especies leñosas de grupos funcionales fenológicos de bosque seco.** 345
- Dantas D, LO Rodrigues Pinto, M de Castro Nunes Santos Terra, N Calegario, M Leles Romarco de Oliveira. **Reducción de la intensidad de muestreo en inventarios forestales para estimar la altura total de eucaliptos.** 353
- Guarienti Rorato D, M Machado Araujo, AM Griebeler, C Gouvêa Redin, A Falcão Dutra, S Carpenedo Aimi, F Turchetto. **Variaciones estructurales en remanentes de bosque umbrófilo mixto en el extremo sur de Brasil.** 365

### NOTAS

- de Oliveira Fragoso R, CA Stuepp, A Aparecido Carpanezzi, I Wendling, KC Zuffellato-Ribas, H Soares Koehler. **Enraizamiento de esquejes de *Ficus enormis*: concentraciones de ácido indol butírico y variaciones estacionales.** 373
- Loewe Muñoz V, R Del Río, M Balzarini. **Crecimiento y producción de piñas de pino piñonero (*Pinus pinea*) en Chile en función de la densidad de plantación.** 381

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 Mayor, 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 Ilharreborde**

Revisora de Inglés: **Amapola López**

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

Fono: 56 (63) 2221743. Correo electrónico: [revistabosque@uach.cl](mailto:revistabosque@uach.cl)

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

Toda correspondencia respecto a publicaciones debe ser remitida al editor ([revistabosque@uach.cl](mailto: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, Valdivia, Chile.**

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

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

Correspondence dealing with publications must be sent to editor ([revistabosque@uach.cl](mailto: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

### OPINIONS

- Salas-Eljatib C, A Promis. **A call to awaken the Chilean Society of Forest Science.** 209

### REVIEWS

- Gonçalves D, FA Rocco Lahr. **Deterioration and preservation of wood by using natural preservatives of potential interest in Brazil.** 213
- Santelices-Moya R, R Vergara, A Cabrera-Ariza, S Espinoza-Meza, P Silva-Flores. **Intra-specific variation in *Nothofagus glauca*, an endemic species of the Mediterranean forests of Chile.** 221

### ARTICLES

- Gómez Velázquez A, AE Tadeo Noble, L Beltrán-Rodríguez, E Guízar Nolasco, M Apodaca Martínez, Á Leyva Ovalle. **Association coefficient between species of semi-evergreen forest in Calakmul, Mexico.** 233
- Sidnei Fior C, L Pinto Paim, M Caumo, L da Silva Alves, SF Schwarz. **Fertilization in *Butia odorata* seedlings formation.** 241
- Şahin U, M Özcan. **Effect of different soil conservation methods and planting with four-wing salt bush (*Atriplex canescens*) on soil erosion in a semi-arid region of Turkey.** 253
- Gomes Pires de Paula G, CR de Souza, V Andrade Maia, N de Aguiar-Campos, NC Alencar Fagundes, F Moreira Gianasi, D Teixeira Girardelli, AJ Rodrigues Pais, WB da Silva, RM dos Santos. **Study of the floristic, functional and phylogenetic composition of trees in a short time in a forest fragment of the Atlantic Forest, Brazil.** 261
- Barrera Ramírez R, R González Cubas, EJ Treviño Garza, B González Larreta, R López Aguillón. **Potential areas to establish Forest Germplasm Production Units with two varieties of *Pinus pseudostrobus* in Mexico.** 277
- Tunçkol B, N Aksoy, S Çoban, H Zengin. **Diversity and ecology of forest communities in Küre Mountains National Park of Turkey.** 289
- Velasco-Bautista E, H de los Santos-Posadas, H Ramírez-Maldonado, G Rendón-Sánchez, JR Valdez-Lazalde, M Acosta-Mireles. **Estimators for forest attributes on a simulated population of medium-sized tropical forest in southern Mexico.** 307
- dos Santos Vieira D, ML Romarco de Oliveira, JR Vasconcelos Gama, EL Mendonça Machado, B Lafeté Oliveira, AS Figueiredo. **Lorey height for vertical stratification of an Alluvial Ombrophilous Forest.** 321
- Alfonso OB, D Ariza-Mateos, G Palacios-Rodríguez, A Ginhas Manuela, FJ Ruiz-Gómez. **Seed protein profile of *Pinus greggii* and *Pinus patula* through functional genomics analysis.** 333
- Azevêdo TKB, AAA Carnaval, BR F Silva, JGM Ucella Filhob, EVSB Sampaio, AS Pimenta, MJN Rodal. **Relationship between shoot and root of woody species of phenological functional groups of dry forest.** 345
- Dantas D, LO Rodrigues Pinto, M de Castro Nunes Santos Terra, N Calegario, M Leles Romarco de Oliveira. **Reduction of sampling intensity in forest inventories to estimate the total height of eucalyptus trees.** 353
- Guarienti Rorato D, M Machado Araujo, AM Griebeler, C Gouvêa Redin, A Falcão Dutra, S Carpenedo Aimi, F Turchetto. **Structural variations in remnants of Mixed Ombrophilous Forest in the extreme South of Brazil.** 365
- NOTES
- de Oliveira Fragoso R, CA Stuepp, A Aparecido Carpanezzi, I Wendling, KC Zuffellato-Ribas, H Soares Koehler. ***Ficus enormis* cuttings rooting: concentrations of indole butyric acid and seasonal variations.** 373
- Loewe Muñoz V, R Del Río, M Balzarini. **Stone pine (*Pinus pinea*) growth and cone yield as a function of planting density in Chile.** 381





## OPINIONES

**Un llamado a la activación real de la Sociedad Chilena de Ciencias Forestales**

## A call to awaken the Chilean Society of Forest Science

**Christian Salas-Eljatib<sup>a,b,c\*</sup>, Álvaro Promis<sup>c</sup>**\*Autor de correspondencia: <sup>a</sup> Universidad Mayor, Centro de Modelación y Monitoreo de Ecosistemas, Jose Toribio Medina 29, Santiago, Chile, cseljatib@gmail.com<sup>b</sup> Universidad de La Frontera, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, Temuco, Chile.<sup>c</sup> Universidad de Chile, Departamento de Silvicultura y Conservación de la Naturaleza, Santiago, Chile.

## SUMMARY

While the Chilean Society of Forest Sciences (SOCIFOR) was created by a group of forest-related institutions, its inactivity has wakened its progress. Here, we point out certain shortcomings of SOCIFOR, and propose actions to address them. We suggest increasing the number of members, restructuring its regulatory statutes - modeled on those used by other scientific societies-, taking an active role in the organization of the national forest science congress and editing the Chilean journal of forest science (i.e. Bosque). Strengthening SOCIFOR would help to improve the standing of forest sciences in the country. Our proposal is ambitious, though doable, if the keys come together to achieve a common goal: strengthening forest sciences in Chile.

*Key words:* forest research, scientific society, representativeness, journals, conferences.

## RESUMEN

Aunque en lo formal existe la Sociedad Chilena de Ciencias Forestales (SOCIFOR), creada por un grupo de instituciones ligadas al sector forestal, lamentablemente su inactividad ha debilitado su progreso. En el presente trabajo se exponen algunas desventajas de la SOCIFOR, así como se proponen acciones para mejorarla. Se sugiere, entre otras, ampliar la base de formación y funcionamiento de SOCIFOR, re-estructurar sus estatutos empleando el de sociedades similares, tomar un rol activo en la organización del congreso nacional de ciencias forestales, y así también en la edición de la revista chilena de ciencias forestales (i.e., Bosque). La presente propuesta es ambiciosa, pero alcanzable si los actores involucrados se unen en torno a un horizonte común: fortalecer las ciencias forestales de Chile.

*Palabras clave:* investigación forestal, sociedad científica, representación, revistas científicas, conferencias.

## INTRODUCCIÓN

La creación de una sociedad científica es fundamental para la mantención y fomento de una disciplina científica. Esta es una organización que mantiene y fomenta el conocimiento disciplinar, actuando como custodia de sus valores y tradiciones (Frankel 2000, Cappeletti 2011), potenciando el intercambio intelectual y la diversificación científica (Schwartz *et al.* 2008). El rol de las sociedades científicas se puede resumir en: la representación de la disciplina; la promoción de prácticas responsables de investigación y de conductas éticas de sus integrantes; la difusión del conocimiento y su intercambio, a través de reuniones (i.e., congresos) y la mantención de revistas científicas; la representación de sus integrantes en el desarrollo de políticas públicas basadas en conocimiento científico y en la educación de la opinión pública, a través de la valoriza-

ción de la ciencia que la sociedad genera (Frankel 2000, Schwartz *et al.* 2008, Cappeletti 2011).

Tales sociedades son asociaciones sin fines de lucro y con un propósito científico y educacional. Estas promueven el conocimiento de una disciplina específica mediante una comunicación y difusión eficiente de la disciplina. Una sociedad de este tipo podría también influir en políticas públicas, aglomerar actores activos científicos en un ente único y contribuir a una conciencia social (e.g., ética ambiental) (Carroll 2014). La divulgación del conocimiento científico contribuye al desarrollo de la sociedad y al progreso humano (Annan 2003). Por lo tanto, además de las publicaciones, una sociedad científica debería visualizar de mejor manera resultados científicos relevantes, e interactuar activamente en la contingencia actual. En Estados Unidos y otros países, sociedades de este tipo son comunes, como, por ejemplo, la Sociedad de Ecología Ame-

ricana (ESA 2020) y la Sociedad Americana de Forestales (SAF 2020). Si bien estas sociedades tienen diferencias en su énfasis científico, ambas cumplen un rol regulador en la conducta de sus miembros. Es decir, van más allá de lo netamente científico. Esto último se asemeja a lo que realiza el Colegio Médico de Chile en el país, al supervigilar el ejercicio de los asociados (CMC A.G. 2019), o la ESA al proporcionar una serie de principios rectores de conducta para todos sus miembros.

La Sociedad Chilena de Ciencias Forestales (SOCIFOR) se fundó el 2002 en el primer congreso de ciencias forestales, organizado por la Universidad de Chile. Posteriormente, el año 2004 se constituyó como una Corporación de Derecho Privado, por los representantes legales de tres universidades (*i.e.*, de Chile, de Concepción y Austral de Chile) y de dos servicios del Estado de Chile (*i.e.*, Corporación Nacional Forestal “CONAF” e Instituto Forestal “INFOR”), quienes conforman los denominados “miembros fundadores”. Según los estatutos de la SOCIFOR (2004), su misión es fomentar el progreso de las ciencias y técnicas forestales; y sus objetivos: fomentar la generación y desarrollo de investigación de frontera, promover el perfeccionamiento científico y técnico de sus miembros, estimular la cooperación entre ellos, desarrollar el intercambio nacional e internacional entre entidades y especialistas en su campo de actuación y difundir el conocimiento sobre las ciencias forestales. En sus objetivos, se evidencia cierta divergencia con respecto a otras sociedades similares (*e.g.*, Sociedad Chilena de Estadística 1967, SOCHE, y la Sociedad de Ecología de Chile, SOCECOL (Corporación de Ecología de Chile 1994)), como son la promoción del perfeccionamiento técnico de sus miembros y el desarrollo del intercambio nacional e internacional entre entidades. En sí, estos últimos objetivos se acercan más a los de un Colegio profesional, vislumbrándose una fuerte visión gremial e institucional en lo forestal, pero no como una sociedad científica. La SOCIFOR debe promover el perfeccionamiento científico y la cooperación de sus integrantes, no solo de las entidades que la conforman.

Desde sus inicios, la SOCIFOR se ha preocupado de acoger las solicitudes para la realización de los congresos nacionales de ciencias forestales (siete hasta la actualidad) y, en ese sentido, ha sido en la práctica su única función. Si bien se agradece la formación de una sociedad científica por parte de las instituciones antes mencionadas, su articulación y falta de actividad son una demostración que su gestación original no fue la más apropiada. Desde la creación de la SOCIFOR, el Consejo Directivo ha estado integrado por representantes de los miembros fundadores, los que se mantendrían hasta la celebración de la primera Asamblea General Ordinaria, momento en que se elegiría a los integrantes definitivos del Consejo (SOCIFOR 2004), situación que hasta la fecha (*i.e.*, 16 años después) no ha ocurrido.

Quizás la justificación de una creación institucional de la SOCIFOR se basaba en que las tres universidades men-

cionadas concentraban gran parte de la producción científica de la disciplina (Acuña *et al.* 2013). Sin embargo, actualmente existe una base de potenciales socios (*i.e.*, científicos) que pueden sustentar a la SOCIFOR más allá de algunas universidades. Las sociedades científicas deben obedecer fundamentalmente a criterios que no dependan de una institución en particular, y que su participación se relacione con los objetivos de la sociedad. Las personas jurídicas en una sociedad científica, tales como Universidades, INFOR y CONAF en la SOCIFOR, podrían ser solamente socios cooperadores o colaboradores, como son en la SOCHE (SOCHE 1967) y la SOCECOL (Corporación de Ecología de Chile 1994), respectivamente, quienes colaboran económicamente, con bienes o servicios, para el cumplimiento de los objetivos de las Sociedades. En la SOCECOL, estos miembros colaboradores tienen solamente derecho a voz en las asambleas y no pueden ser elegidos para servir en cargos directivos de la Corporación (Corporación de Ecología de Chile 1994). Sin embargo, en la SOCIFOR estas personas jurídicas (universidades, INFOR y CONAF) son consideradas miembros institucionales y pueden optar a cargos directivos (SOCIFOR 2004). En resumen, la dirección de la SOCIFOR carece de una base de personas naturales con práctica científica provenientes de diferentes instituciones, organizaciones o como individuos, que les provea los logros científicos independientes que son la base fundamental de la ciencia. Además, dada la poca información existente sobre el funcionamiento de la SOCIFOR, es desconocido cómo ser parte de esta y, por lo mismo, su credibilidad es baja entre científicos. Debido a la importancia de los ecosistemas forestales en el mundo (Crowther *et al.* 2015) y en el país (Salas *et al.* 2016), y el aporte que la ciencia puede brindar a su conservación y uso sustentable, una sociedad científica forestal debe ser fortalecida. En este contexto, el objetivo del presente trabajo es proponer una serie de actividades para articular el funcionamiento de la SOCIFOR y, junto con aportar a la discusión respecto a esta, contribuir a aumentar sus socios, su activación y funcionamiento real.

## DESARROLLO Y PROPUESTAS

Chile ya cuenta con un gran número de científicos que pueden sustentar una sociedad científica forestal, y en ese plano, no es necesario que instituciones tengan que estar detrás de una organización como tal. La dirección general de instituciones como CONAF e INFOR dependen del gobierno de turno en Chile, por lo tanto, la influencia y gestión que puedan realizar dependerá de una visión política partidista o sectorial, lo que puede provocar conflictos con la misión y objetivos de la sociedad. Por ejemplo, la SOCHE (1967) y la SOCECOL (Corporación de Ecología de Chile 1994) en sus estatutos declaran explícitamente que no fomentarán actividades de carácter político partidista, ni difundirá ideas políticas. El consejo directivo de la SOCIFOR, entonces, debiese estar constituido y dirigido por investigadores, en prescindencia de definiciones po-

líticas personales, dedicados al desarrollo de las ciencias forestales, sea este básico o aplicado, con un directorio elegido democráticamente por sus socios, es decir, personas naturales, cuyas actividades o intereses profesionales o académicos se vinculen con los objetivos de la Sociedad (SOCIFOR 2004). Entonces, es relevante no crear un mecanismo de articulación y funcionamiento desde cero, sino que imitar el de otras ya establecidas, incorporando ciertos matices en caso de que sea necesario. Por ejemplo, en los estatutos de SOCHE (1967) no se hace referencia a alguna institución pública ni privada, pero sí se establecen los mecanismos de ingreso y de elección de directorio, y funcionamiento general. En resumen, se debería realizar una transición entre una SOCIFOR dominada por instituciones, hacia una por personas naturales.

Es irrefutable que luego de 16 años de haberse constituido la SOCIFOR y al ver su mínima actividad, su estructura de funcionamiento original, basada en instituciones fundadoras (tres universidades y dos servicios del estado), no fue la más apropiada. Esto indica que una activación de la SOCIFOR basada en personas naturales con relevancia en ciencias forestales permitiría un nuevo renacer de esta sociedad científica.

Las modificaciones de estatutos propuestas implican obligatoriamente que las instituciones que la crearon estén de acuerdo y claramente cedan sus derechos en pos de la formación de una nueva sociedad. De todas maneras, con una nueva conformación de la SOCIFOR, todos los interesados en ser parte y que cumplan los requisitos de los nuevos estatutos (los que serán muy similares a los de otras sociedades), serían socios, independiente de su afiliación laboral. Una posible forma de articular esta transición es que se establezca un primer directorio conformado por actores relevantes de las ciencias forestales, y con la disposición a trabajar en pos del fortalecimiento de la SOCIFOR. Luego de un periodo inicial, se llamaría a una votación con todos los socios activos que se hubiesen registrado.

Una SOCIFOR fortificada por miembros activos en ciencia, podría vincularse más directamente en cuatro aspectos clave respecto a las ciencias forestales: (1) difusión experta en temas relacionados; (2) coordinación de los congresos chilenos; (3) apoyo al Estado de Chile con el conocimiento científico necesario para el desarrollo de políticas nacionales y legislación; y (4) dirección o edición de una revista científica. A continuación, se refiere en detalle a cada uno de estos aspectos.

*Difusión.* La difusión científica relacionada con las ciencias forestales es pobre. Si bien los investigadores están presionados por publicar sus resultados en revistas evaluadas por pares, dichas publicaciones son raramente vinculadas con las problemáticas que afectan a nuestra sociedad. Esto dificulta una conexión real con la sociedad civil. En este plano, SOCIFOR permitiría aunar una voz científica de relevancia, y ajena de los intereses institucionales y diferencias productivas.

*Congreso.* Desde el año 2002 se han realizado siete congresos de ciencias forestales en el país organizados por diversas instituciones de educación superior. Dichos eventos debieron ser realizados cada dos años (Peñaloza 2005), sin embargo, esto solo se cumplió hasta la quinta versión, siendo las últimas reuniones realizadas en periodos de cuatro a cinco años. Mantener la periodicidad es clave, para cautivar el interés por parte de los investigadores. Hay temas emergentes en las ciencias forestales que generan oportunidades de crecimiento y desarrollo en el conocimiento básico y aplicado. Sería muy importante, que los temas de interés sean revisados y discutidos en simposios especiales, dentro de los periódicos Congresos Nacionales de Ciencias Forestales (bienales). El fortalecimiento de la SOCIFOR debería generar la unión de los científicos forestales (tanto los radicados en el país, como también aquellos que desarrollan su investigación en el extranjero) en una sola asociación, para que estos temas individuales, puedan ser discutidos en los grupos de interés, como también de forma general dentro de la misma, lo que debería enriquecer la visión global de cada uno de los temas.

Otro aspecto vital en la celebración regular del congreso de la SOCIFOR es que debiera ser la instancia para instaurar y otorgar un Premio de Ciencias Forestales de Chile, destinado a personas que han contribuido significativamente en la investigación y con un nivel de excelencia al desarrollo de las ciencias forestales. A pesar de que este aspecto es considerado en los estatutos de la SOCIFOR, a la fecha nunca se ha entregado dicho reconocimiento.

*Política y legislación.* En distintas disciplinas se están levantando esfuerzos para influir en la formulación de políticas y legislación que se base en la evidencia y en el conocimiento científico (Bultitude *et al.* 2012, Choi *et al.* 2016). La sociedad espera que los científicos generen conocimiento que deba ser utilizado para la toma de decisiones de los políticos, especialmente en temas de biodiversidad, adaptación y mitigación al cambio climático, preservación y conservación de bosques y manejo forestal sustentable, entre otros. Por lo tanto, la SOCIFOR debería trabajar para acercar la ciencia generada en su interior con los tomadores de decisión, para la construcción de políticas públicas y legislación.

*Revista.* Sería ideal que fuera una sociedad científica la que se encargara de la edición de una revista de ciencias forestales de acceso libre. La revista Bosque es, sin lugar a duda, la revista de ciencias forestales de Chile (Gerding 2005, Salas 2008) y mantiene relevancia a nivel Latinoamericano. Salas (2008) llamó a fortalecer a esta revista científica dado su nivel de calidad ya demostrado a la fecha y por su trayectoria. Aunque en la actualidad Bosque es editada por la Universidad Austral de Chile, y si bien se desconoce la posición y visión futura de dicha Universidad con respecto a la revista, Gerding (2020) aclara que su mantención dentro de una Universidad es compleja. Se

plantea, por lo tanto, que la revista Bosque bajo el alero de la SOCIFOR sería mucho más robusta en el largo plazo, no tan solo en lo editorial, sino que en su calidad, al mejorarla por una diversidad en su manejo. No sería la primera revista que pasa de ser localmente producida por una universidad a otra casa editorial, por ejemplo, la revista *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, originalmente editada por la Universidad de La Frontera, ahora está bajo la casa editorial Springer. Se cree que, mejor aún, una revista debiera ser administrada por una sociedad científica, como sucede con revistas como *Ecological Applications* y *Journal of Applied Ecology* editadas por la Sociedad de Ecología de Estados Unidos e Inglaterra, respectivamente, y *Forest Science*, editada por la Sociedad Americana de Forestales de Estados Unidos.

## CONCLUSIONES

Una Sociedad Chilena de Ciencias Forestales unificada y sólida podría contribuir al desarrollo más eficiente de la difusión de las ciencias forestales, a la integración de profesionales y científicos relacionados con las ciencias forestales, a la coordinación de los congresos chilenos de ciencias forestales, al desarrollo de políticas nacionales y legislación en los campos de las ciencias forestales y ambientales y a la dirección de una revista científica de excelencia internacional y nacional en ciencias forestales. Para ello, es necesario activar realmente el funcionamiento de la Sociedad Chilena de Ciencias Forestales, aumentar los socios y mejorar los estatutos de su constitución.

## REFERENCIAS

- Acuña E, M Espinosa, J Cancino. 2013. Paper-based productivity ranking of Chilean forestry institutions. *Bosque* 34(2): 211–219. DOI: [10.4067/S0717-92002013000200010](https://doi.org/10.4067/S0717-92002013000200010)
- Annan K. 2003. A challenge to the world's scientists. *Science* 299(5612):1485. DOI: [10.1126/science.299.5612.1485](https://doi.org/10.1126/science.299.5612.1485)
- Bultitude K, P Rodari, E Weitkamp. 2012. Bridging the gap between science and policy: the importance of mutual respect, trust and the role of mediators. *Journal of Science Communication* 11(3). DOI: [10.22323/2.11030301](https://doi.org/10.22323/2.11030301)
- Cappelletti P. 2011. Il futuro delle Società Scientifiche e la Società Italiana di Medicina di Laboratorio. *La Rivista Italiana della Medicina di Laboratorio* 7: 127-139. DOI: [10.1007/s13631-011-0020-1](https://doi.org/10.1007/s13631-011-0020-1)
- Carroll C. 2014. Can a conservation-oriented scientific society remain relevant in the 21st Century? *Conservation Biology* 28(5): 1137-1138. DOI: [10.1111/cobi.12371](https://doi.org/10.1111/cobi.12371)
- Choi BCK, L Li, Y Lu, LR Zhang, Y Zhu, AWP Pak, Y Chen, J Little. 2016. Bridging the gap between science and policy: an international survey of scientists and policy makers in China and Canada. *Implementation Science* 11: 16. DOI: [10.1186/s13012-016-0377-7](https://doi.org/10.1186/s13012-016-0377-7)
- CMC A.G. (Colegio Médico de Chile A.G., CL). 2019. Estatutos del Colegio Médico de Chile (A.G.). Texto refundido. Consultado 18 ago. 2020. Disponible en <http://www.colegiomedico.cl/estatutos-del-colegio-medico-de-chile-a-g/>
- Corporación de Ecología de Chile. 1994. Reducción a escritura pública. Acta de constitución de la “Corporación de Ecología de Chile”. Santiago, Chile. 11 p.
- Crowther T, H Glick, K Covey, C Bettigole, D Maynard, S Thomas, J Smith, G Hintler, M Duguid, G Amatulli, M Tuanmu, W Jetz, C Salas, C Stam, D Piotta, R Tavani, S Green, G Bruce, S Williams, S Wisser, M Huber, G Hengeveld, G Nabuurs, E Tikhonova, P Borchardt, C Li, L Powrie, M Fischer, A Hemp, J Homeier, P Cho, A Vibrans, P Umunay, S Piao, C Rowe, M Ashton, P Crane, M Bradford. 2015. Mapping tree density at a global scale. *Nature* 525: 201–205. DOI: [10.1038/nature14967](https://doi.org/10.1038/nature14967)
- ESA (The Ecological Society of America, US). 2020. The Ecological Society of America. Consultado 18 ago. 2020. Disponible en <https://www.esa.org>
- Frankel MS. 2000. Scientific Societies as sentinel of responsible research conduct. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 224(4): 216-219. DOI: [10.1111/j.1525-1373.2000.22424.x](https://doi.org/10.1111/j.1525-1373.2000.22424.x)
- Gerding V. 2005. La trayectoria de BOSQUE 1975-2005 y su proyección. *Bosque* 26(3): 3–4. DOI: [10.4067/S0717-92002005000300001](https://doi.org/10.4067/S0717-92002005000300001)
- Gerding V. 2020. Importancia de las revistas de investigación propias para una universidad. *Bosque* 41(1): 7–10. DOI: [10.4067/S0717-92002020000100007](https://doi.org/10.4067/S0717-92002020000100007)
- Peñaloza R. 2005. Segundo congreso chileno de ciencias forestales. *Bosque* 26(1): 3. DOI: [10.4067/S0717-92002005000100001](https://doi.org/10.4067/S0717-92002005000100001)
- SAF (Society of American Foresters, US) 2020. Society of American Foresters. Consultado 18 ago. 2020. Disponible en <https://eforester.org>
- Salas C. 2008. Sugerencias para mejorar la calidad de las revistas científicas chilenas: una aplicación en las ciencias forestales con Bosque. *Bosque* 29(1): 3-10. DOI: [10.4067/S0717-92002008000100001](https://doi.org/10.4067/S0717-92002008000100001)
- Salas C, PJ Donoso, R Vargas, CA Arriagada, R Pedraza, DP Soto. 2016. The forest sector in Chile: An overview and current challenges. *Journal of Forestry* 114: 562-571. DOI: [10.5849/jof.14-062](https://doi.org/10.5849/jof.14-062)
- Schwartz MW, ML Hunter Jr., PD Boersma. 2008. Scientific Societies in the 21st Century: a membership crisis. *Conservation Biology* 22(5): 1087-1089. DOI: [10.1111/j.1523-1739.2008.01059.x](https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.01059.x)
- SOCIFOR (Sociedad Chilena de Ciencias Forestales, CL). 2004. Estatutos Sociedad Chilena de Ciencias Forestales. Santiago, Chile. 14 p.
- SOCHE (Sociedad Chilena de Estadística, CL).1967. Reducción a escritura pública. Acta de constitución de la Sociedad Chilena de Estadística. Santiago, Chile. 6 p.

Recibido: 19/08/20  
Aceptado: 21/09/20



REVISIONES

## Deterioro y preservación de maderas mediante el uso de preservadores naturales de potencial interés en Brasil

Deterioration and preservation of wood by using natural preservatives of potential interest in Brazil

Débora Gonçalves \*\*, Francisco Antonio Rocco Lahr <sup>b</sup>

\*Autor de correspondencia: <sup>a</sup> Universidade de São Paulo, Instituto de Física de São Carlos, Av. Trabalhador São-Carlense, 400, 13566-590, São Carlos-SP, Brasil, deborag0405@gmail.com

<sup>b</sup> Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de São Carlos, Av. Trabalhador São-Carlense, 400, 13566-590, São Carlos-SP, Brasil.

### SUMMARY

In this review article, the main deterioration processes and uses of natural preservatives in wood are discussed, in particular in Brazil, taking into account its economic relevance in Latin America. It contextualizes the problem of protection and chemical degradation of wood, topics of interest not only in Brazil but also in other countries. In addition, the use of novel products is discussed, such as neem oil, castor oil, pepper extracts, tannins, tall oil, linseed oil, oils extracted from native timbers, chitosan and others. In terms of solutions, more studies are necessary in the field and modification of formulations with fixation agents, biocides, antioxidants, additives and others. In addition, the legal aspects of commercialization for new formulations in countries rich in natural resources, though underdeveloped, must be taken into account.

*Key words:* natural preservatives, natural extracts, tannins, wood deterioration.

### RESUMEN

En este artículo de revisión se discuten los principales procesos de deterioro y del uso de preservadores naturales de la madera, en particular en Brasil, teniendo en cuenta su relevancia en Latinoamérica. Pretende también ser una contribución a los trabajos que tratan de los avances y del desarrollo de nuevas composiciones para preservar maderas. Se contextualiza la problemática de la protección y degradación química de la madera, temas de interés en la actualidad, tanto en Brasil como en otros países. Además, se discute el uso de nuevos productos, tales como aceites de neem y de ricino, extractos de pimientos, taninos, *tall oil*, aceite vegetal de linaza, aceites esenciales extraídos de maderas nativas y quitosano, y sobre la problemática del bajo uso comercial de productos naturales. En términos de soluciones, hay la necesidad de más estudios de campo y de modificar las formulaciones con agentes de fijación, biocidas, antioxidantes, y aditivos. También hay que tener en cuenta los aspectos legales de la comercialización de nuevas formulaciones en países ricos en recursos naturales pero subdesarrollados.

*Palabras clave:* preservadores naturales, extractos y aceites naturales, taninos, deterioro de maderas.

### INTRODUCCIÓN

La madera es una materia prima renovable de gran importancia económica en distintos sectores de la sociedad, tales como de la construcción civil, fabricación de muebles y tableros de fibras, y la producción de papel y de la pulpa de celulosa. Sin embargo, existe una creciente preocupación por al menos dos factores. El primero es la tala indiscriminada de especies nativas, particularmente en Brasil, donde existen grandes extensiones de tierras deforestadas y de pérdida de bosques nativos, a pesar del aumento de áreas de plantío (Vidal *et al.* 2015). Además, las áreas de conserva-

ción en Brasil son creadas bajo presiones externas, o sea, sin existir gran preocupación ambiental. El segundo hace referencia a la preservación de maderas, pues los impactos ambientales negativos son producidos por el uso de preservadores tóxicos y por la ubicación, y consecuente eliminación, de maderas tratadas y de residuos generados de las mismas.

El amplio uso de la madera en los sectores de la construcción civil y de muebles ocurrió gracias al avance de dos principales procesos contra el deterioro: el tratamiento térmico y la impregnación con preservadores químicos. La pirólisis mantiene la estabilidad dimensional y mejora la durabilidad de la madera expuesta a los agentes externos y

a la humedad. Además, el tratamiento a temperaturas bajas (menor de 200 °C) puede evitar el deterioro irreversible de la madera (Oliveira *et al.* 2010). El deterioro térmico de la madera comienza alrededor de 180 °C con la degradación de las hemicelulosas y la modificación química de la estructura de la lignina (Oliveira *et al.* 2010). Estos procesos están asociados a cambios de coloración y dimensionales de la madera, ya que ocurre su descomposición química y la aparición de fendas de secado o grietas.

En temperaturas aún mayores, arriba de los 325 °C, ocurren cambios significativos en las partes internas de la madera, favoreciendo la volatilización de los extractos y la destrucción, total o parcial, de los componentes individuales (hemicelulosa y lignina) (Kamdem *et al.* 2002). El preservador químico de la madera, en cambio, actúa contra la acción de los agentes físicos, químicos y biológicos, y favorece el aumento de la resistencia y la durabilidad; además, puede estar vinculado a la reducción de costos mediante el uso más eficiente de los recursos forestales (Kamdem *et al.* 2002).

## DETERIORO DE LA MADERA

La degradación química de la madera se produce no solo como resultado de la variación de la temperatura, sino también a partir del ataque de hongos y bacterias. Estos diferentes agentes pueden cambiar la composición química, la resistencia mecánica, el color, la permeabilidad y la densidad de la madera en condiciones favorables de humedad y temperatura, en presencia o no de oxígeno (Goodell *et al.* 2003). Los hongos son responsables por grandes pérdidas de los productos maderables, ya que pueden descomponer la materia orgánica, y metabolizar a los compuestos orgánicos complejos en unidades más pequeñas y digeribles.

Los daños causados por hongos se manifiestan bajo distintas formas de pudrición (Mirski *et al.* 2014): blanca, que destruye los pigmentos de la madera y provoca la aparición de fibras sueltas, en el caso de una colonización temprana; marrón, que causa el continuo deterioro de la celulosa y de la hemicelulosa, y conserva casi intacta la lignina; y blanda o suave, que se caracteriza por una baja penetración superficial. El último tipo de colonización convierte la madera, cuando está húmeda, en una masa amorfa y ablandada y que, por lo tanto, se puede llamar pudrición blanda (Mirski *et al.* 2014).

Los insectos representan otro tipo de organismo xilófago dañino, en gran medida por la severidad del ataque de las termitas en maderas tropicales. Las termitas son insectos sociales, miembros del orden Blattodea, sub orden Isoptera, que se clasifican en cuatro grandes grupos, según sus fuentes de alimentación y hábitos de nidificación: de las maderas húmedas o secas, y subterráneas o arbóreas (Wako 2015). Se conocen más de 2.600 especies de termitas alrededor del mundo, que están en edificios, casas, infraestructuras, bosques y plantaciones forestales (Wako 2015). Las termitas se alimentan de la celulosa de las maderas; pero, como la ce-

lulosa es de difícil digestión, su descomposición en azúcar y carbohidratos se debe a los microorganismos presentes en el aparato digestivo de las mismas (Wako 2015).

Cuando la durabilidad natural de la madera es baja frente al ataque de los agentes de deterioro se suelen emplear productos biocidas. Además, existen opciones importantes para disminuir, o impedir, su deterioro, tales como: el uso de especies con alta resistencia natural, la incorporación de productos químicos de superficie, y la modificación química permanente de su estructura mediante el tratamiento térmico. Entre las opciones mencionadas, la fijación del preservador es una alternativa conocida y viable dentro del campo de tecnologías en maderas.

## IMPREGNACIÓN DE LA MADERA CON PRESERVADORES SINTÉTICOS

La impregnación de la madera es un proceso de fijación de productos químicos hasta alcanzar cierta penetración para el interior de la madera, y que puede variar en decenas de milímetros. Este tipo de metodología tiene la finalidad de convertir la madera en un material tóxico y retardar o prevenir el ataque de agentes xilófagos. Los preservadores deben reunir una serie de requisitos: alta penetrabilidad, alta resistencia a los procesos de lixiviación, baja volatilidad, baja o ninguna toxicidad en seres humanos y animales, y relativamente bajo costo.

La fijación química es una de las metodologías más empleadas de preservación de maderas de bosques plantados y se basa en la actuación de los componentes tóxicos presentes en los preservadores contra el deterioro. Los preservadores de maderas más conocidos son solubles en agua y contienen óxidos o sales de cromo, cobre, zinc, boro y arsénico, además de otros componentes (Vidal *et al.* 2015). Algunos de ellos, tal como el arseniato de cobre cromatado (CCA), son tóxicos por la presencia de metales pesados (cromo y cobre) y arsénico (Hasan *et al.* 2010). Generalmente, la madera tratada con preservadores sintéticos comerciales libera una cierta cantidad de componentes tóxicos por lixiviación, y que son responsables por la contaminación de suelos y de aguas subterráneas.

El reemplazo gradual de preservadores sintéticos por otros más naturales es una tendencia reciente, ya que implica mejor eficiencia de protección y baja o ninguna emisión de compuestos tóxicos. En este sentido, el interés en preservadores naturales sigue creciendo en países latinoamericanos, ya que muchas de las plantas son reconocidas por sus propiedades pesticidas, insecticidas o fungicidas (Singh y Singh 2012).

## EJEMPLOS DE PRESERVADORES COMERCIALES DE MADERAS

Los preservadores de maderas más conocidos son clasificados según las categorías de origen: oleosos (como creosota), oleosolubles (solubles en solventes oleosos) e

hidrosolubles (Lepage *et al.* 2017). Los últimos presentan denominaciones genéricas y son a base de óxidos, ácidos y sales inorgánicos, así como el sulfato de cobre, dicromato de potasio o sodio, ácido crómico y ácido arsénico. La denominación ACA incluye los productos a base de cromo y de arsénico en solución amoniacal; CCA, a base de cobre, cromo y arsénico; y CCB, a base de cobre, cromo y boro. Uno de los procedimientos industriales más utilizados en Brasil es el método Bethell/Burnett, que se basa en la impregnación de maderas con preservadores en autoclave y a presión (Vidal *et al.* 2015).

Según la normativa brasileña sobre la durabilidad de las maderas en estructuras, NBR 7190, Anexo D, *Associação Brasileira de Normas Técnicas - ABNT* (1997), los preservadores de acción prolongada son usados en la mayoría de los procesos de impregnación de maderas del mundo. Mientras tanto, algunos preservadores, antes empleados en más amplia escala, tales como el lindano y el pentaclorofenol, están prohibidos en diferentes países como consecuencia de los riesgos de toxicidad, NBR 7190, Anexo D (ABNT 1997). Esta normativa fue revisada y los preservadores fueron clasificados en grupos de riesgo: CCA, CCB, creosota, tribromofenol, boratos, quinolinolato de cobre y carbendazim (Vidal *et al.* 2015).

En Brasil, hay una gran demanda por los óxidos de CCA tipo C, que garantizan la impregnación de la madera bajo presión. Recientemente, una lista de 41 productos con registro fue actualizada por el Instituto Brasileño del Medio Ambiente y de los Recursos Naturales Renovables, IBAMA (2018). Estos productos comerciales contienen diferentes componentes activos, en su mayoría a base de piretroides, óxidos y sales metálicos (cuadro 1).

La *United States Environmental Protection Agency* (EPA) restringió el uso de CCA en viviendas, espacios libres para niños, y *decks* en madera como una medida preventiva (EPA 2003). Otros países, tales como Japón, Indonesia, Suecia, Alemania y Australia, impusieron restricciones parciales o totales al CCA (Vidal *et al.* 2015), lo que se debe a los problemas producidos por la exposición al cobre y arsénico y por la disposición final de las maderas tratadas con CCA.

Mientras surgió una segunda generación de preservadores, el CCA aún se mantiene como uno de los preservadores químicos más empleados en Brasil, y prácticamente sin restricciones (Vidal *et al.* 2015). Otros preservadores basados en la cipermetrina y tebuconazol/cobre, de acuerdo con el cuadro 1, son poco empleados en Brasil, teniendo en cuenta las cuestiones de costos sumadas a un perfil más conservador de mercado. La cipermetrina hace parte del grupo de los piretroides y actúa como biocida en la impregnación de la madera. La clasificación toxicológica de la cipermetrina es clase II (muy tóxico, rojo) y ha sido legalizada en Brasil para el uso en postes, columnas, pilares y vigas (ANVISA 2018). O sea, aunque vinculados a problemas de toxicidad, algunos productos químicos libres de metal han sido empleados en Brasil para proteger la madera, como es el caso de las emulsiones basadas en biocidas piretroides sintéticos.

Más recientemente, nanopartículas de plata, boro, cobre, zinc, óxido o borato de zinc, dióxido de titanio y otros han surgido como una apuesta a la nueva generación de preservadores sintéticos de la madera (Borges *et al.* 2018). En este caso, estos nanomateriales presentaron la capacidad de modificar y proteger la madera, generalmente encapsulados en polímeros (Papadopoulos y Taghiyari 2019). Sin embargo, se reconoce la necesidad de más estudios sobre como los nanomateriales pueden reemplazar a los productos más tóxicos de manera segura y eficiente. Además, es conveniente que sean establecidas las directrices sobre seguridad en el momento de la aplicación de los nanomateriales en la madera. No obstante, los resultados positivos, el consumo de preservadores de maderas en muchos países aún se mantiene respaldado por un perfil más conservador, ya que cambios lentos se han notado si se trata del uso de productos distintos de los usuales.

#### ALTERNATIVAS PARA LA PRESERVACIÓN DE LA MADERA EN BRASIL

Las maderas impregnadas por productos químicos pueden liberar ciertas cantidades de componentes tóxicos por lixiviación, así una alternativa es el uso de productos

**Cuadro 1.** Componentes activos de productos comerciales registrados en Brasil.

Active constituents of commercial products registered in Brazil.

Componentes activos	Acción
Carbendazim, 8-quinolato de cobre, 2,4,6-tribromofenol (TBP), tanino (Jimo Ecomof), 3-iodo-2-propinil butil carbamato (IPBC)	Fungicida
Creosota, cipermetrina, 2,4,6-tribromofenol, deltametrina, IPBC, CCA, CCB, propiconazol, tebuconazol y cobre (Tanalith E), boro y fluoreto (Polesaver rods/bandages).	Insecticida y fungicida
Ciflutrina (Preventol HS)	Insecticida y termiticida
Cipermetrina (Osmose CP), deltametrina (Penetrol Cupim)	Insecticida

Fuente: IBAMA (2018).

naturales, abundantes, de baja toxicidad y alta fijación. Las iniciativas que buscan el desarrollo de los productos naturales y sostenibles para la protección de maderas han crecido en varios países, incluyendo los aceites esenciales mezclados, los extractos de plantas (canela y linaza) y frutos cítricos, las ceras y las resinas de la corteza de diferentes especies arbóreas (Singh y Singh 2012). Algunos de los productos naturales más utilizados en Brasil en los últimos años serán presentados en esta revisión.

*Aceites de neem y de ricino.* Los aceites de neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) y de ricino (*Ricinus communis* L.) son especialmente estudiados en Brasil. El aceite de neem debe su actividad insecticida a la presencia de un ingrediente activo principal, un limonoide, azadirachtina, que induce la mortalidad entre los insectos (Viana *et al.* 2006). La literatura señala que el aceite de neem actúa de manera efectiva en la madera de ceiba (*Ceiba pentandra* (L.) Gaertn.), especie típica de florestas tropicales abiertas, cuya madera es muy atacada por hongos e insectos (Paes *et al.* 2012). Las mejores concentraciones de aceite de neem usadas en pino (*Pinus radiata* D. Don) y ceiba se mostraron elevadas (50 %), lo que suele explicar que una protección más durable y efectiva contra las termitas y los hongos no debe ocurrir en concentraciones más bajas (Machado *et al.* 2013). Además de haber la necesidad del uso de más altas concentraciones de aceite de neem, las maderas tratadas con este aceite, y en contacto con el suelo, sufrieron deterioro con el tiempo; por eso, la propuesta de optimización ha sido el uso del aceite de neem junto a co-biocidas reforzantes (Machado *et al.* 2013). A pesar del interés en el aceite de neem como agente insecticida, biopesticida y también por propiedades terapéuticas (anticáncer y microbicida) (Fernandes *et al.* 2019), pocos estudios recientes se dedican a estudiar más detalladamente su perfil como preservador de maderas.

El aceite de ricino ha sido añadido al aceite de neem como un tensoactivo en la búsqueda de mejores propiedades anti-hongos y anti-bacterias (Machado *et al.* 2006), y también como un adhesivo en tableros de fibras de densidad media (MDF) y preparados con residuos de *Pinus* spp. tratados con CCB (Bertolini *et al.* 2013). El aceite de ricino contiene cerca de 90 % de ácido ricinoleico, un ácido graso insaturado soluble en etanol a bajas temperaturas, viscoso y con propiedades de interés para la producción de biodiesel en Brasil. Se ha verificado también que el aceite de ricino asegura una mejora en la resistencia de *Ceiba* contra las termitas subterráneas (*Nasutitermes corniger* Motschulsky) por medio de un menor porcentaje de pérdida de masa (Paes *et al.* 2011, 2012). Sin embargo, la protección de la madera envejecida por medio de la volatilización del aceite de ricino no se mostró tan duradera (Paes *et al.* 2011). Estudios más recientes han destacado el uso de las resinas de poliuretano obtenidas a partir del aceite de ricino en revestimientos de MDF, que pasan a retener menos agua y a presentar más baja capacidad de

hinchamiento, tanto en espesura cuanto en volumen (Calegari *et al.* 2017).

*Taninos.* Los taninos son extractos vegetales presentes en las hojas, frutos, semillas y corteza de una gran variedad de especies arbóreas (Shirmohammad *et al.* 2018). Además, son asignados de acuerdo a dos grupos principales, los hidrolizables y los condensados, y se presentan como compuestos polifenólicos de valores de masa molar relativamente altos (Nascimento *et al.* 2013). Sus principales aplicaciones son en el proceso de curtido de piel, en la industria farmacéutica, en el tratamiento de aguas y en la formulación de adhesivos (Calegari *et al.* 2014). Los taninos condensados son conocidos por sus propiedades anti-hongos y actúan como preservadores atóxicos y con una gran capacidad de formar complejos con iones metálicos (Calegari *et al.* 2014). Nuevas formulaciones han sido evaluadas teniendo en cuenta la propiedad quelante del tanino con el boro y el cobre, por ejemplo, que son componentes tóxicos para las lignocelulosas de la madera (Calegari *et al.* 2014). Mientras tanto, una cuestión importante es que el uso de taninos no es recomendable en ambientes externos, una vez que son solubles en agua; en este caso, los mismos pueden ser modificados con otros compuestos químicos para disminuir la lixiviación (Calegari *et al.* 2014).

Trabajos recientes señalan el papel de los taninos condensados de árboles brasileños contra las termitas y los hongos (Calegari *et al.* 2014, Silveira *et al.* 2017). Estos fueron obtenidos a partir de las especies jurema-preta (*Mimosa tenuiflora* (Willd.) Poir.) (Calegari *et al.* 2014) y acacia-negra (*Acacia mearnsii* De Wild.) (Silveira *et al.* 2017) y se mostraron más efectivos cuando mezclados al ácido bórico a 2 % (Calegari *et al.* 2014). El uso de taninos 5 % y 10 % llevó a resultados similares a los obtenidos con el CCB frente al ataque de *Pycnopus sanguineus* (L.) Murrill en la especie *Acacia mearnsii* (Silveira *et al.* 2017).

Los extractos obtenidos del leño y la corteza de especies de la floresta Amazonia brasileña también presentaron propiedades repelentes a las termitas del género *Nasutitermes* Dudley (Barbosa *et al.* 2007). Entretanto, el desempeño de los taninos en áreas externas fue considerado peor que los obtenidos con los preservadores comerciales, pero suelen ser utilizados en áreas internas y más secas, y externas protegidas (Tomak y Gonultas 2018). Otra cuestión relevante es la ventaja del uso de taninos comerciales, tales como aquellos empleados en la industria del curtimiento de pieles, sobre todo porque están bien caracterizados y presentan pureza conocida en su composición (Calegari *et al.* 2014).

*Extractos de pimientos y de partes de árboles.* El género *Capsicum* incluye una gran variedad de pimientos picantes, cuyos principales atributos sensoriales son color, textura y picor. Los compuestos responsables del picor de los pimientos son los capsaicinoides y diferentes compuestos han sido identificados en este grupo; sin embargo, el con-



tenido de la capsaicina es la responsable por el picor de los pimientos (Ziglio *et al.* 2018). Resultados obtenidos a escala de laboratorio indicaron que la oleoresina de un pimiento picante (*Capsicum frutescens* Mill, “Bhut jolokia”) se mostró más efectiva en la protección de *Pinus* sp. y *Hymenaea* sp. contra el ataque del hongo de pudrición blanda, *Paecilomyces variotii* Bainier (Ziglio *et al.* 2018). No obstante, son necesarios más estudios en lo que concierne a los efectos de la impregnación de la madera con extractos de pimientos, y las relaciones biodegradación-tiempo y costo-beneficio.

Los extractos obtenidos de partes y de residuos de árboles son otras alternativas contra el ataque de los hongos y las termitas en las maderas. Los extractos de la madera teca (*Tectona grandis* L.f.) han sido empleados para proteger superficies de teca (albura) y *Pinus* sp. contra el ataque de hongos de pudrición blanca y marrón mediante ensayos de deterioro acelerado (Brocco *et al.* 2017). También se han realizado estudios acerca del deterioro acelerado de teca impregnada con extractos de teca contra el ataque de las termitas, permitiendo una mejoría en el color de la madera (Brocco *et al.* 2020). La fijación de los extractos de teca promovió un aumento en la resistencia de las maderas de teca a hongos de pudrición blanca o marrón en valores de pérdidas de masa. En este caso, las maderas fueron clasificadas como resistentes y altamente resistentes al ataque de hongos (Brocco *et al.* 2017). Mientras tanto, a pesar de los resultados positivos, poco se conoce acerca de la ecotoxicidad y de la viabilidad técnica y económica de los preservadores de maderas a base de los extractivos de la madera teca (Brocco *et al.* 2017). Hace algunas décadas el cultivo de la teca se ha desarrollado en Brasil de tal manera que esta especie se ha adaptado bien a las condiciones climáticas tropicales hasta alcanzar baja edad de rotación de plantío (Florez *et al.* 2014). Así, los extractos de teca apuntan como una alternativa de interés para el uso como preservadores de maderas.

*Aceites esenciales extraídos de maderas nativas.* Los aceites esenciales extraídos de maderas nativas del Cerrado brasileño (*Lippia origanoides* Kunth y *Lippia lacunosa* Mart. *et Schauer*) y del clavo de olor (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. *et L.M.Perry*) fueron empleados en diferentes concentraciones (12,5 %, 25 %, 50 % y 100 %) contra hongos *Gloeophyllum trabeum* (Pers.) Murrill y *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Qué. (Medeiros *et al.* 2016). El aceite esencial de *L. origanoides* se mostró más efectivo contra el ataque del hongo en todas las concentraciones estudiadas por la presencia de altos contenidos de timol.

La acción contra los hongos fue relacionada a la presencia de compuestos fenólicos (eugenol - clavo, y timol) en los aceites esenciales, que afectan sus interacciones con la superficie de la madera por medio de diferencias de polaridad (Cheng *et al.* 2008). Una vez que timol presenta una toxicidad relativamente baja para los seres humanos y la naturaleza, y se produce a 2,92 % de rendimiento de

extracción - considerado alto, el aceite de *L. origanoides* apunta como un preservador antifúngico con potencial de aplicación en la madera (Medeiros *et al.* 2016).

Trabajos más recientes tratan del empleo de aceites de especies forestales comúnmente encontradas en Brasil - andiroba (*Carapa guianensis* Aubl.), copaiba (*Copaifera langsdorffii* L.) y jatropa (*Jatropha curcas* (L.) Britton *et Millsp.*) (Sousa *et al.* 2018, Freitas *et al.* 2019) contra el ataque de las termitas de la madera seca (*Cryptotermes brevis* Walker). Los aceites estudiados han sido enriquecidos con I<sub>2</sub> (1 %, 3 % y 5 %) y fueron aplicados en *Pinus elliottii* Engelm. La elección del I<sub>2</sub> se debe a sus propiedades bactericidas, bacteriostáticas y fungicidas, además de su baja solubilidad en agua (Ihssen *et al.* 2014), una ventaja para frenar, o retardar, los efectos de lixiviación. Las maderas han sido impregnadas con los preservadores por inmersión a frío logrando una eficiente inhibición de crecimiento del hongo (Sousa *et al.* 2018). Los aceites de andiroba con I<sub>2</sub> al 3 % y 5 % y jatropa con I<sub>2</sub> 5 % llevaron a la total mortalidad de las termitas (Freitas *et al.* 2019).

*Aceites vegetales - linaza, jojoba y soya.* Los aceites vegetales de linaza (*Linum usitatissimum* L.) y jojoba (*Simmondsia chinensis* (Link) C. K. Schneid.) han sido empleados en la protección, decoración y la limpieza de maderas. El aceite de linaza es considerado uno de los mejores productos naturales para la impregnación de la madera por cuenta de su poder de secado, lo que proporciona impermeabilidad y protección (Bossardi y Barreiros 2011). Comercializado en Brasil, el aceite de linaza actúa como un componente activo en pintura, barniz y tinte, pero es más efectivo en presencia de aditivos para mejorar el secado, y no en el su estado bruto. Otro aceite, de soya, ha sido relacionado a una disminución de la aparición de grietas en *Pinus* sp. termotratado, lo que mejoró la estabilidad dimensional (Zablonsky *et al.* 2017).

*Aceite de resina, TOC.* El aceite de resina (*tall oil* crudo, TOC) se ha destacado como materia prima en la industria química y en la producción del biodiesel. El TOC es un líquido viscoso, marrón oscuro y obtenido de la industria de celulosa (proceso Kraft). La presencia de ácidos grasos garantiza al TOC sus propiedades hidrofóbicas y esto favorece su aplicación como preservador de la madera, una clave en la mejora de la resistencia al agua de fibras celulósicas (Hosseinpourpia *et al.* 2018). En este caso, una vez reducido el tenor de humedad de la madera se debe disminuir la capacidad de avance del desarrollo de los hongos sobre la superficie (Dias y Barreiros 2017a). El aceite eyector (*ejector oil*, EO) es un subproducto del fraccionamiento del TOC y ha sido empleado como preservador de *Pinus elliottii* Engelm. y *Eucalyptus grandis* W.Hill ex Maiden. contra el ataque de hongos de pudrición blanca (Dias y Barreiros 2017b). El EO substituyó el TOC con más eficiencia y se observó una mejor impregnación del EO en medidas de pérdidas de masa de las maderas sometidas a

putridión acelerada. No obstante los resultados de interés, hay pocos estudios sobre el papel de los aceites de resina en la impregnación de maderas, aunque apuntan direcciones para la producción de nuevas formulaciones.

*Biopolímeros – quitosano.* Otros productos alternativos para el uso como preservadores de maderas son los geles a base de quitosano en soluciones de ácido acético y que fueron empleados en cajas de maderas de transporte de alimentos (*Pinus* sp.) (Sattolo *et al.* 2010). Los geles de quitosano arrojaron resultados prometedores, aunque preliminares, contra el ataque de hongos en alta humedad relativa (Sattolo *et al.* 2010). El quitosano puede ser obtenido por medio del tratamiento de la quitina, que está presente en grandes cantidades en crustáceos e insectos, y tiene conocida acción biocida. Brasil es uno de los grandes productores de quitosano de origen animal siendo muy estudiado por su versatilidad de aplicación en diferentes sectores.

#### PERSPECTIVAS DEL USO DE PRESERVADORES NATURALES EN BRASIL DENTRO DEL ESCENARIO GLOBAL

Aunque resultados prometedores han sido presentados acerca de los preservadores naturales de la madera, están más restringidos a los laboratorios, o sea, en pequeña escala y lejos de los procesos de producción industrial. La eficiencia del preservador de la madera va a depender esencialmente de su capacidad de impregnación y de fijación, tiempo de retención y lixiviación. Lo que concierne a la madera, depende de la especie, el corte, la edad, las condiciones de desarrollo y su ambiente interno o externo. De esta manera, son necesarios más estudios de campo, abarcando una gama más amplia de variables experimentales para hacer llegar el producto al mercado, por ejemplo: estudiar la posibilidad de modificar las formulaciones con agentes específicos (fijantes, biocidas, antioxidantes y aditivos), usar diferentes métodos de fijación, considerar los problemas de lixiviación y del uso en ambientes exteriores, la relación costo-beneficio y las cuestiones legales de comercialización. No hay un plan de apoyo a las industrias en Brasil, tampoco interés centrado en ampliar las investigaciones en materiales resinosos, como ejemplo. Con respecto al incremento de la elaboración de nuevos productos competitivos en el mercado brasileño, es notorio el bajo número de estudios en campo y que vislumbren cambios y soluciones comerciales. Mientras estos nuevos productos pueden promover el aumento de la resistencia biológica y de la durabilidad de la madera, todavía hay mucho por investigar acerca de la retención, biodegradación (estabilidad), eficiencia, costo, diferencias de formulación y métodos de impregnación (Singh y Singh 2012). Hoy la *web* cuenta con sitios relevantes para obtener información acerca del desarrollo y lanzamiento de formulaciones, tales como: *Agência Nacional de Vigilância Sanitária*

(ANVISA), *International Research Group on Wood Protection* (IRG), *United States Environmental Protection Agency* (EPA), *Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis* (IBAMA) y *Embrapa Florestas* (Brasil).

#### CONCLUSIONES

El uso de preservadores naturales de la madera apunta como una alternativa para disminuir o eliminar los problemas ambientales y de salud causados por los preservadores sintéticos comerciales. Muchos de los componentes químicos presentes en los preservadores comerciales son tóxicos y pueden generar contaminación ambiental. Las alternativas más promisorias para sustituir los preservadores sintéticos son los extractos vegetales y los aceites esenciales mezclados, que pueden ser encontrados en mayor abundancia en la flora brasileña. La materia prima es abundante en Brasil, que es uno de los principales productores de resinas, aceites, extractos y taninos en Latinoamérica, pero la mayoría de los resultados obtenidos carece de datos en campo y de respuestas acerca del uso práctico y comercial en maderas, y tampoco están catalogados en Brasil. Así, el desarrollo más eficaz de las formulaciones naturales demanda un conjunto de experimentos de laboratorio y también de campo para lograr el éxito de la comercialización. Las dificultades acerca de las nuevas formulaciones deben aún ser superadas y así mejorar a los principales problemas de la comercialización. A pesar del interés que presentan los preservadores naturales, los progresos alcanzados para desarrollar nuevas formulaciones crecen a un ritmo más lento en Brasil que en otros países, donde aún se utilizan productos comerciales que contienen sustancias tóxicas y están vinculados a la contaminación del medio ambiente.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el apoyo de la *Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP* (Brasil) (Proc. 15/16880-5 y Proc. 18/22413-9), *Lemann Institute for Brazilian Studies, University of Illinois at Urbana-Champaign* (Estados Unidos de América) y *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES* (Brasil) (Código de financiación 001).

#### REFERENCIAS

- ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas, BR). 1997. ABNT NBR 7190. Projeto de estruturas de madeira. 107 p.
- ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária, BR). 2018. C10 - Cipermetrina. Consultado 07 abr. 2020. Disponible en: <http://portal.anvisa.gov.br/documents/111215/117782/C10%2B%2BCipermetrina.pdf/37400888-3f11-44ed-b53f-dea1abacb865>
- Barbosa AP, CS Nascimento, JW Morais. 2007. Estudos de propriedades antitermiticas de extratos brutos de madeira e casca de espécies florestais da Amazônia Central, Brasil. *Acta*

- Amazonica* 37(2): 213-218. DOI: <http://doi.org/c8jvg5>
- Bertolini MS, FAR Lahr, MF Nascimento, JAM Agnelli. 2013. Accelerated artificial aging of particleboards from residues of CCB treated *Pinus* sp. and castor oil resin. *Materials Research* 16(2): 293-303. DOI: <http://doi.org/c3n8>
- Borges CC, GHD Tonoli, TM Cruz, PJ Duarte, TA Junqueira. 2018. Nanoparticles-based wood preservatives: the next generation of wood protection? *Cerne* 24(4): 397-407. DOI: [10.1590/01047760201824042531](http://doi.org/10.1590/01047760201824042531)
- Bossardi K, RM Barreiros. 2011. Extrativos naturais como preservantes para madeiras de rápido crescimento – uma revisão. *Revista Ciência da Madeira* 2: 109-118. DOI: <http://doi.org/c3n9>
- Brocco VF, JB Paes, LG Costa, S Brazolin, MDC Arantes. 2017. Potential of teak heartwood extracts as a natural wood preservative. *Journal of Cleaner Production* 142(4): 2093-2099. DOI: [10.1016/j.jclepro.2016.11.074](http://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.11.074)
- Brocco, VF, JB Paes, LG Costa, GT Kirker, S Brazolin. 2020. Wood color changes and termiticidal properties of teak heartwood extract used as a wood preservative. *Holzforchung* 74(3): 233-245. DOI: [10.1515/hf-2019-0138](http://doi.org/10.1515/hf-2019-0138)
- Calegari L, JS Porto, DM Neжелiski, LC Duarte, BF Oliveira. 2017. Experimental study on waterproofing MDF with castor oil-based vegetal polyurethane. *Matéria* 22(3): e11877. DOI: <http://doi.org/c3pd>
- Calegari L, PJG Lopes, GM Santana, DM Stangerlin, E Oliveira, DA Gatto. 2014. Eficiência de extrato tânico combinado ou não com ácido bórico na proteção da madeira de *Ceiba pentandra* contra cupim xilófago. *Floresta* 44(1): 43-52. DOI: <http://doi.org/c3pc>
- Cheng SS, J-Y Liu, E-H Chang, S-T Chang. 2008. Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Bioresource Technology* 99(11): 5145-5149. DOI: [10.1016/j.biortech.2007.09.013](http://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.09.013)
- Dias KD, RM Barreiros. 2017a. Potentiality of tall oil as preservative for wood. *Chemical and Biomolecular Engineering* 2(4): 180-183. DOI: [10.11648/j.cbe.20170204.12](http://doi.org/10.11648/j.cbe.20170204.12)
- Dias KD, RM Barreiros. 2017b. Resistência à biodeterioração das madeiras de rápido crescimento tratadas com tall oil e derivados. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento* 2: 22-36.
- Fernandes SR, L Barreiros, RF Oliveira, A Cruz, C Prudêncio, AI Oliveira, C Pinho, N Santos, J Morgado. 2019. Chemistry, bioactivities, extraction and analysis of azadirachtin: State-of-the-art. *Fitoterapia*. 134: 141-150. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2019.02.006>
- Florez JB, PF Trugilho, JT Lima, JRM da Silva. 2014. Caracterización de la madera joven de *Tectona grandis* L.f. plantada en Brasil. *Madera y Bosques* 20(1):11-20. DOI: [10.21829/myb.2014.201172](http://doi.org/10.21829/myb.2014.201172)
- Goodell B, DD Nicholas, TP Schultz. 2003. Introduction to wood deterioration and preservation. In Goodell B, DD Nicholas, TP Schultz eds. *Wood Deterioration and Preservation. Advances in Our Changing World. ACS Symposium Series* 845: 2-7. DOI: <http://doi.org/bjqqs>
- Hasan AR, L Hu, HM Solo-Gabriele, L Fieber, Y Cai, TG Townsend. 2010. Field-scale leaching of arsenic, chromium and copper from weathered treated wood. *Environmental Pollution* 158(5): 1479-1486. DOI: <http://doi.org/fbptsn>
- Hosseinpourpia R, S Adamopoulos, C Parsland. 2019. Utilization of different tall oils for improving the water resistance of cellulosic fibers. *Journal of Applied Polymer Science* 136(13): 47303(1-8). DOI: [10.1002/app.47303](http://doi.org/10.1002/app.47303)
- IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, BR). 2018. Produtos preservativos de madeiras. Consultado 07 abr. 2020. Disponible en: <http://ibama.gov.br/preservativos-de-madeiras/sobre-os-produtos-preservativos-de-madeiras/337-substancias-quimicas-e-biologicas/substancias-quimicas-preservativos-de-madeira/989-produtos-preservativos-de-madeiras>
- Kamdern DP, A Pizzi, A Jermannaud. 2002. Durability of heat-treated wood. *Holz Als Roh- und Werkstoff* 60(1): 1-6. DOI: <http://doi.org/dnpfhr>
- Lepage E, AG Salis, ECR Guedes. 2017. Tecnologia de proteção da madeira. São Paulo, Brasil. Montana Química. 225 p.
- Machado GO, C Calil Junior, WL Polito, A Pawlicka. 2006. Preservante natural de madeira para uso na construção civil - óleo de neem. *Minerva* 3(1): 1-8.
- Machado GO, LJ Cookson, AL Christoforo, WL Polito, MR Silva, C Calil Jr, FAR Lahr. 2013. Wood preservation based on neem oil: evaluation of fungicidal and termiticidal effectiveness. *Forest Products Journal* 63(5-6): 202-206. DOI: <http://doi.org/f5nrcm>
- Medeiros FCM, N. Gouveia, HR Bizzo, RF Vieira, CHS Menezzi. 2016. Fungicidal activity of essential oils from Brazilian Cerrado species against wood decay fungi. *International Biodeterioration & Biodegradation* 114: 87-93. DOI: [10.1016/j.ibiod.2016.06.003](http://doi.org/10.1016/j.ibiod.2016.06.003)
- Mirski R, D Dziurka, D Dukarska, R Czarnecki, G Cofta. 2014. The influence of microfungi on physicomechanical properties of particle boards. *BioResources* 9(4): 6329-6339. DOI: <http://doi.org/f6sqc3>
- Nascimento MS, ALBD Santana, CA Maranhão, LS Oliveira, L Bieber. 2013. Phenolic extractives and natural resistance of wood. In Chamy R, F Rosenkranz eds. *Biodegradation - Life of Science*. IntechOpen. p. 349-370. DOI: <http://doi.org/c3ph>
- Oliveira RM, A Brisolari, A Sales, D Gonçalves. 2010. Wettability, shrinkage and color changes of *Araucaria angustifolia* after heating treatment. *Materials Research* 13(3): 351-354. DOI: <http://doi.org/c8jsqr>
- Paes JB, AD Souza, CR Lima, PF Souza. 2012. Efficiency of neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) and castor oil plant (*Ricinus communis* L.) oils for the improvement of *Ceiba pentandra* (L.) Gaerth. wood resistance to xilophagous fungi in soil bed test. *Ciência Florestal* 22(3): 617-624. DOI: <http://doi.org/c3pm>
- Paes JB, AD Souza, CR Lima, PN Medeiros Neto. 2011. Eficiência dos óleos de nim (*Azadirachta indica*) e de mamona (*Ricinus communis*) na proteção da madeira de sumaúma (*Ceiba pentandra*) contra cupins xilófagos em ensaio de preferência alimentar. *Revista Árvore* 35(3): 751-758. DOI: <http://doi.org/ftwdgh>
- Papadopoulos AN, HR Taghiyari. 2019. Innovative wood surface treatments based on nanotechnology. *Coatings* 9(12): 866-880. DOI: [10.3390/coatings9120866](http://doi.org/10.3390/coatings9120866)
- Sattolo NMS, D Britto, OBG Assis. 2010. Chitosan as a fungicide for the pinewood used for assembling “K” type boxes. *Brazilian Journal of Food Technology* 13(2): 128-132. DOI: <http://doi.org/c7kbs5>
- Shirmohammadi Y, E Davood, AP Efhamisizi. 2018. Tannins as a sustainable raw material for green chemistry: a review. *In-*

- dustrial Crops and Products* 126: 316-332. DOI: [10.1016/j.indcrop.2018.10.034](https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.034)
- Silveira AG, EJ Santini, SM Kulczynski, R Trevisan, 2017. Atividade antifúngica do extrato natural da acácia-negra a *Pycnoporus sanguineus*. *Scientia Forestalis* 45(114): 383-391. DOI: <http://doi.org/c3pp>
- Singh T, AP Singh. 2012. A review on natural products as wood protectant. *Wood Science and Technology* 46(5): 851-870. DOI: <http://doi.org/cnr4v2>
- Sousa SF, JB Paes, MDC Arantes, YM Lopez, VF Brocco. 2018. Análise física e avaliação do efeito antifúngico dos óleos de andiroba, copaiba e pinhão-mansão. *Floresta* 48(2):153-162. DOI: [10.5380/RF.V48I2.52280](https://doi.org/10.5380/RF.V48I2.52280)
- Tomak ED, O Gonultas. 2018. The wood preservative potentials of valonia, chestnut, tara and sulphited oak tannins. *Journal of Wood Chemistry and Technology* 38(3): 183-197. DOI: <http://doi.org/c3pr>
- Viana PA, HT Prates, PEA Ribeiro. 2006. Uso do extrato aquoso de folhas de nim para o controle de *Spodoptera frugiperda* na cultura do milho. EMBRAPA, Circular Técnica 1-5. Consultado 07 abr. 2020. Disponible en <https://www.embrapa.br/documents/1344498/2767891/uso-do-extrato-aquoso-de-folhas-de-nim-para-o-controle-de-spodoptera-frugiperda-na-cultura-do-milho.pdf/f1d204a5-fa0d-4818-b859-59d30d039605>
- Vidal JM, WV Evangelista, JC Silva, IP Jankowsky. 2015. Preservação de madeiras no Brasil: histórico, cenário atual e tendências. *Ciencia Florestal* 25(1):257-270. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/1980509817484>
- Wako SE. 2015. Behaviour and ecological impacts of termites: Fecundity investigations in mounds. *Ekologia* 34(1): 72-81. DOI: <http://doi.org/c3pt>
- Zablonsky KM, GM Bonduelle, R Trianoski. 2017. Effect of thermal treatment with soybean oil on wood *Pinus*. *Floresta e Ambiente* 24: 1-10. DOI: <http://doi.org/c3pv>
- Ziglio AC, MR Sardela, D Gonçalves. 2018. Wettability, surface free energy and cellulose crystallinity for pine wood (*Pinus* sp.) modified with chili pepper extracts as natural preservatives. *Cellulose* 25(10): 6151-6160. DOI: <http://doi.org/gfbbrf>

Recibido: 05/05/20  
Aceptado: 17/07/20



## Variación intra-específica en *Nothofagus glauca* una especie endémica de los bosques mediterráneos de Chile

Intra-specific variation in *Nothofagus glauca*, an endemic species of the Mediterranean forests of Chile

Rómulo Santelices-Moya <sup>a\*</sup>, Rodrigo Vergara <sup>b</sup>, Antonio Cabrera-Ariza <sup>c</sup>, Sergio Espinoza-Meza <sup>d</sup>, Patricia Silva-Flores <sup>e</sup>

\*Autor de correspondencia: <sup>a</sup> Universidad Católica del Maule, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Centro del Secano, Talca, Chile, tel.: 56-71-2203501, rsanteli@ucm.cl

<sup>b</sup> Consultor independiente, Talca, Chile.

<sup>c</sup> Universidad Católica del Maule, Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule (CIEAM) y Centro del Secano, Talca, Chile.

<sup>d</sup> Universidad Católica del Maule, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Depto. de Ciencias Forestales, Talca, Chile.

<sup>e</sup> Universidad Católica del Maule, Centro de Investigación de Estudios Avanzados del Maule (CIEAM), Vicerrectoría de Investigación y Posgrado, y Centro del Secano, Talca, Chile.

### SUMMARY

In forest conservation, especially in a climate change scenario, to guide decision-making, it is essential to know the intra-specific variation of multiple traits that exist in a species. Therefore, the objective of this work was to analyze the current state of knowledge about the variation of *Nothofagus glauca*. In this way, guidelines may be proposed for future programs for the conservation of genetic resources or the restoration of forests of this species. Important intra-specific variability is analyzed and evidenced in aspects related to its spatial distribution, its variation in ecological distribution, its populations associated with the forest typology, its genecological differentiation, its variation in growth and its genetic variation detected by isoenzymatic and molecular markers. Based on the abundant research, a step to a second experimental phase is proposed to select populations capable of adapting to the new environmental conditions resulting from climate change, which must consider the microbiome of this species. It is proposed that, in this way, efficient conservation and restoration of *N. glauca* will be achieved.

*Key words:* hualo, ecological variation, genecology, growth, genetic variation.

### RESUMEN

En el contexto de la conservación de bosques, especialmente en un escenario de cambio climático, es fundamental conocer la variación intra-específica de múltiples rasgos que existe en una especie, a fin de orientar la toma de decisiones. Por ello, el objetivo de este trabajo fue analizar el estado actual del conocimiento sobre la variación de *Nothofagus glauca* de tal forma de proponer lineamientos para futuros programas de conservación de los recursos genéticos o la restauración de los bosques de esta especie. Se analizan y evidencia gran variabilidad intra-específica en aspectos relacionados con su distribución espacial; su variación en la distribución ecológica; sus poblaciones asociadas a la tipología forestal; su diferenciación genecológica; su variación en crecimiento; y su variación genética detectada mediante marcadores isoenzimáticos y moleculares. A base de la abundante investigación existente se propone un salto a una segunda fase experimental para seleccionar poblaciones capaces de adaptarse a las nuevas condiciones ambientales producto del cambio climático, las cuales deben considerar el microbioma de esta especie. Se propone que de esta forma se logrará una eficiente conservación y restauración de *N. glauca*.

*Palabras clave:* hualo, variación ecológica, genecología, crecimiento, variación genética.

### INTRODUCCIÓN

*Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser (hualo, roble maulino o roble colorado), es una especie endémica de la zona mediterránea de Chile perteneciente a la familia Notho-

fagaceae (Santelices *et al.* 2013a). *Nothofagus glauca* es un árbol monoico caducifolio, que puede llegar a medir hasta 30 m de altura. Se ha descrito que tiene un fuste cilíndrico de hasta 2 m de diámetro (Rodríguez y Quezada 2003), pero en la actualidad es difícil encontrar ejempla-

res que tengan más de 40 cm de diámetro. Es una especie que se encuentra catalogada como vulnerable a la extinción (Barstow *et al.* 2017), aunque el Estado de Chile la clasifica como especie fuera de peligro según el Decreto Supremo 51/2008 del Ministerio Secretaría General de la Presidencia (MSEGPRES 2008).

Los bosques de *N. glauca* se insertan en la formación conocida como Bosque Maulino, que es un sistema de transición entre las formaciones xerofíticas y los bosques templados más meridionales. En esta zona, los bosques caducifolios están adaptados a los períodos secos prolongados del verano y cumplen un rol muy importante en la conservación del agua y el suelo orgánico, en el ciclo biogeoquímico del carbono, y ofrecen una gran variedad de nichos ecológicos y hábitats a la flora, fauna y microbiota asociada (Arroyo *et al.* 1996). Aquí, además, se concentra la mayor densidad poblacional de Chile y, en consecuencia, existe una fuerte presión antropogénica sobre los recursos naturales, que ha producido un fuerte retroceso de los bosques de esta región.

Los sistemas mediterráneos por sus características son más propensos a los incendios forestales y, como consecuencia del cambio climático (*i.e.* aumento de la temperatura y baja humedad), sumado a fuertes vientos, se favorecerán condiciones como las que ya dieron origen en esta zona a uno de los mayores incendios en el año 2017, afectando 184.000 ha de sistemas agrícolas y forestales (Valencia *et al.* 2018), incluyendo parte importante de los bosques remanentes de *N. glauca*.

Actualmente, ante la amenaza que significa el cambio climático, es fundamental conocer la variación que existe en una especie, a fin de orientar la toma de decisiones, en especial en orden a la conservación de los recursos genéticos. Para muchas especies arbóreas de los bosques nativos de Chile se ha descrito la variación intra-específica, incluyendo la mayoría del género *Nothofagus*. No obstante, aún está pendiente la descripción de la variación para las especies de *Nothofagus* de la zona mediterránea. Por ello, el objetivo de este trabajo es analizar el estado actual del conocimiento sobre la variación de *N. glauca* de tal forma de proponer lineamientos para futuros programas de conservación de los recursos genéticos y la restauración de los bosques de esta especie, la más representativa de los bosques mediterráneos del género *Nothofagus* de Sudamérica.

## DISTRIBUCIÓN GENERAL

Considerando la presencia de la especie en forma mayoritaria en el dosel superior y siguiendo la información entregada por Le-Quesne y Sandoval (2001) y la Corporación Nacional Forestal (SINIA 2019), tras un análisis con herramientas de SIG se estima que la superficie cubierta por los bosques de *N. glauca* en su distribución natural es de 156.972 ha, distribuyéndose un 29 % en la Cordillera de la Costa y un 71 % en la Cordillera de Los Andes (cuadro 1). Comprende parte de las altitudes medias de la Cordillera de la Costa y de la Cordillera de Los Andes (figura 1). Geo-

gráficamente se distribuye en forma intermitente desde la Región Metropolitana de Santiago, hasta la Región del Biobío. La formación más septentrional aparece en la comuna de Alhué, provincia de Melipilla (33°58' S – 71° 05' W, 614 m s.n.m.), mientras que la más meridional, de acuerdo a Le-Quesne y Sandoval (2001), corresponde a un rodal en la comuna de Quilleco en la provincia de Biobío (37° 27' S - 71°58' W, 340 m s.n.m.), a unos 100 km al sur de la distribución original en la provincia de Punilla. En la Región del Maule se concentra la mayor superficie de bosques de *N. glauca* (146.770 ha, 94 % del recurso), principalmente en la Cordillera de Los Andes en las comunas de Colbún, Linares, y Parral. En la Cordillera de Los Andes, *N. glauca* aparece en forma discontinua en los 34° 33' de latitud Sur, sobre los 1.000 m de altitud, donde tiende a formar bosques puros. Entre los ríos Maule y Ñuble se concentra la mayor abundancia de los bosques andinos de *N. glauca* (casi un 64 %). En la Cordillera de la Costa, *N. glauca* ha decrecido fuertemente producto de talas indiscriminadas de sus bosques y del reemplazo por otras especies de rápido crecimiento. Las poblaciones más septentrionales aparecen en la Región Metropolitana de Santiago, teniendo presencia en forma discontinua hasta la Región del Ñuble. La mayor concentración se localiza en la Región del Maule (23 %).

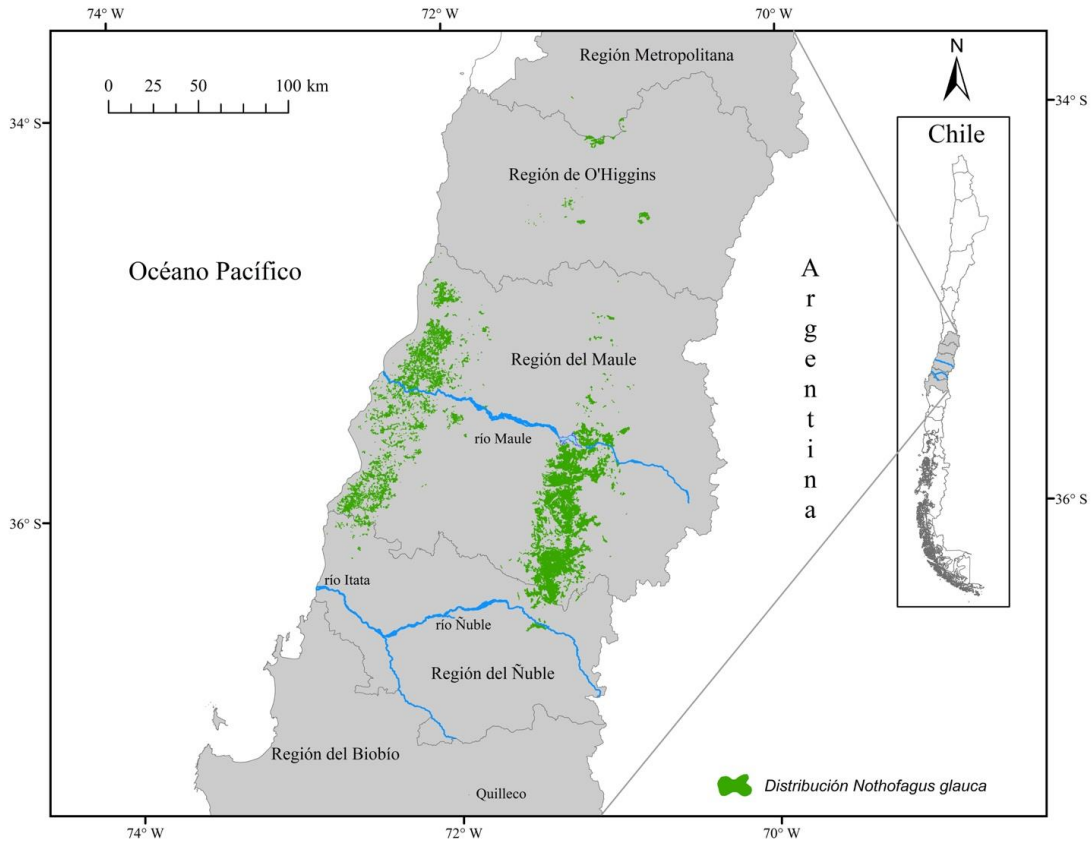
## VARIACIÓN EN LA DISTRIBUCIÓN ECOLÓGICA DE *NOTHOFAGUS GLAUCA*

El clima de la zona donde se distribuye *N. glauca* es del tipo mediterráneo, con estaciones bien marcadas, con una concentración de las precipitaciones en el invierno y con un periodo estival seco que, en algunos lugares, puede llegar incluso a presentar cinco meses con ausencia total de

**Cuadro 1.** Distribución regional y provincial, de los bosques de *Nothofagus glauca* (Le-Quesne y Sandoval 2001, SINIA 2019).

Regional and provincial distribution of *Nothofagus glauca* forests (Le-Quesne and Sandoval 2001, SINIA 2019).

Región	Provincia	Superficie	
		(ha)	(%)
Metropolitana	Melipilla	20,1	0,01
O'Higgins	Cachapoal	1.837,5	1,17
	Colchagua	1.766,3	1,13
Maule	Curicó	4.356,3	2,78
	Talca	33.943,5	21,62
	Linares	95.793,9	61,03
	Cauquenes	12.676,6	8,08
Ñuble	Punilla	6.577,0	4,18
Biobío	Biobío	1,0	0,0
<b>Total</b>		<b>156.972,2</b>	<b>100,0</b>



**Figura 1.** Distribución espacial de los bosques de *Nothofagus glauca* (Le-Quesne y Sandoval 2001, SINIA 2019).

Spatial distribution of *Nothofagus glauca* forests (Le-Quesne and Sandoval 2001, SINIA 2019).

precipitaciones. Según la clasificación de Köppen (Rioseco y Tesser 2016), corresponde a un clima de latitudes medias, en el que se pueden distinguir tres zonas climáticas: la C<sub>sb</sub>n's es la distribución que tiene más influencia del mar como efecto termorregulador, con un clima templado con lluvias invernales y elevada humedad atmosférica; la C<sub>sb</sub>, tanto en la Cordillera de la Costa como en la Cordillera de Los Andes, con un clima templado cálido con lluvias invernales; y la C<sub>sc</sub>, en la distribución andina más oriental, con un clima templado frío con lluvias invernales. En el área costera se presenta un clima templado-cálido con estación seca prolongada e influencia marítima, con una alta humedad relativa. La temperatura media anual, entre los 300 y 553 m de altitud, varía entre 12,3 y 13,1 °C, mientras que las medias extremas son 6,1 °C la mínima y 22,9 °C la máxima. La precipitación media anual oscila entre 844 y 1.296 mm (López 1994), aunque en la actualidad y como consecuencia del cambio climático las precipitaciones han disminuido. En la región andina, el clima es templado-cálido con estación seca de cuatro a cinco meses. Entre los 300 y 450 m s.n.m., la temperatura media anual varía de 12,5 a 13,9 °C y las medias extremas son 4,4 °C la mínima y 28,2 °C la máxima. La precipitación media anual se presenta en un rango entre 1.134 y 1.570 mm (López 1994), aunque al

igual que en la Cordillera de la Costa, las precipitaciones en la actualidad han disminuido por efecto del cambio climático. En las partes de mayor altitud de la distribución andina, la precipitación se puede presentar en forma de nieve.

Tal como sucede con otras especies del Bosque Maulino, los bosques de *N. glauca* han estado sujetos a una fuerte presión antropogénica, resultando de ello su fragmentación. Especialmente en la Cordillera de la Costa, los bosques remanentes se encuentran dentro de una matriz boscosa compuesta por especies alóctonas de rápido crecimiento, en donde destaca la presencia de *Pinus radiata* D. Don (Santelices *et al.* 2013a). Sin la presencia de un disturbio, *P. radiata* no es capaz de colonizar un bosque fragmentado de *N. glauca*, a pesar de que sus semillas sean dispersadas al interior del bosque nativo (Bustamante y Simonetti 2005). Sin embargo, en forma posterior a un disturbio de la magnitud de un incendio forestal, *P. radiata* invade con éxito los bosques de *N. glauca*. Por ello, y gracias a sus características biológicas y a su vasta presencia, *P. radiata* tiene la capacidad de establecerse y dominar el sitio, lo que puede provocar cambios del ecosistema afectando, por ejemplo, el ciclo de nutrientes y el ciclo del agua (Litton y Santelices 2003), convirtiéndose en definitiva en una amenaza para estos bosques. La presencia del fuego en la zona

mediterránea de Chile, donde se distribuye naturalmente *N. glauca* y se concentra la mayor densidad poblacional de Chile, se ha visto favorecida últimamente por la presencia del fenómeno de El Niño (mayor temperatura y aumento de combustible). En los últimos cinco años se ha registrado una persistente sequía en esta zona, con precipitaciones incluso menores a un 70 % respecto a un año normal. También se ha observado un leve aumento en las temperaturas.

En el área de distribución de *N. glauca* se encuentran diversas variaciones climáticas. A nivel longitudinal se distinguen aquellas formaciones localizadas en la Cordillera de la Costa y en la Cordillera de Los Andes. Más marcada es la variación climática a lo largo de la gradiente latitudinal, teniendo los bosques más septentrionales, como es lógico, condiciones de mayor aridez que aquellos más meridionales. Por ejemplo, en su distribución más septentrional (comunas de Alhué y San Pedro), la precipitación media anual varía entre 537 y 676 mm; por el contrario, en la distribución andina en las inmediaciones del río Ñuble, la precipitación media anual se presenta en un rango entre 1.247 y 1.348 mm anuales; en la Cordillera de la Costa, en su distribución más meridional, este rango va de 908 a 984 mm anuales (Hijmans *et al.* 2005). Ello podría ser un factor de diferenciación entre estas poblaciones.

De acuerdo con Donoso (1993), *N. glauca* en su distribución más septentrional solo crece en la Cordillera de la Costa, sobre suelos rocosos que se caracterizan por tener pendientes fuertes. Más al Sur, el Bosque Maulino de *N. glauca* se desarrolla sobre granodioritas medianamente profundas y con pH ácido, aunque en gran parte de su superficie lo hace sobre materiales metamórficos (esquistos) (Donoso 1993). En esta cordillera crece generalmente en cerros con topografía suave a mediana, en lomajes entre 200 y 600 m de altitud. En la Cordillera de Los Andes, *N. glauca* se encuentra por lo general sobre suelos de origen volcánico o granítico, que varían según altitud y exposición. Normalmente ocupa exposiciones de solana sobre los 600 m hasta los 1.100 m de altitud. En altitudes más bajas, crece en suelos más profundos de tipo trumao y a veces se ubica en exposiciones de umbría asociándose a especies más mesófitas. Es frecuente observar bosques de esta especie en pendientes relativamente fuertes y rocosas, pero en las bajas altitudes se encuentra en lomajes suaves y áreas planas, cuando no ha sido sustituido (Donoso 1993). No hay grandes diferencias en el nivel de acidez del suelo entre la distribución de la Cordillera de la Costa y la de la Cordillera de Los Andes, encontrándose valores de pH del suelo entre 5,0 y 5,8 (Córdova y Pérez 1996).

#### POBLACIONES DE *NOTHOFAGUS GLAUCA* ASOCIADAS A LA TIPOLOGÍA FORESTAL

En su distribución natural, se aprecian cinco grandes áreas con bosques de *N. glauca* (figura 1). En su distribución más septentrional, en la Región Metropolitana y en la Región de O'Higgins, se encuentran algunos bosquetes de *N. glauca* asociado con *Nothofagus macrocarpa* (A.DC.)

Vazq. *et* Rodr. Más al sur, en su área de mayor presencia, se localiza en la formación conocida como Bosque Maulino, tanto en la Cordillera de la Costa como en la Cordillera de Los Andes, y aunque tiende a formar bosques puros se puede encontrar asociado con *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst., en ambas cordilleras, y con *Nothofagus alessandrii* Espinosa en la Cordillera de la Costa. En el rodal más meridional descrito, destacan entre las especies acompañantes *N. obliqua* y, en un dosel inferior, algunas del tipo esclerófilas (Le-Quesne y Sandoval 2001).

En Chile, la vegetación se ha clasificado en regiones y subregiones sobre la base de criterios biológicos, edáficos, y climáticos (Gajardo 1994). En esta clasificación, *N. glauca* se localiza en parte de la Región Bosque Caducifolio, en la Subregión de los Bosques Caducifolios Montanos, y en las formaciones vegetacionales Bosque Caducifolio Maulino y Bosque Caducifolio de la Pre-Cordillera. Sobre esta base, e integrando otras componentes, Luebert y Pliscoff (2004) propusieron una clasificación en pisos de vegetación, ubicando a *N. glauca* en el Matorral y Bosque Caducifolio, en el cual se pueden distinguir tres asociaciones:

- *Nothofagus glauca* - *Azara petiolaris*, que es una formación boscosa dominada por las especies arbóreas principales *N. glauca*, *Gevuina avellana* Mol., *Lomatia hirsuta* (Lam.) Diels ex Macbr. y *Azara petiolaris* (D. Don) Johnst.
- Bosque caducifolio mediterráneo costero de *Nothofagus glauca* y *Persea lingue*, que se caracteriza por ser un bosque caducifolio dominado por *N. glauca*, *N. obliqua*, *G. avellana* y *Persea lingue* (R. *et* P.) Nees ex Kopp, con *Gaultheria insana* (Mol.) D.J. Middleton, *Ugni molinae* Turcz. y *Escallonia pulverulenta* (R. *et* P.) Pers. como diferenciales de la estrata arbustiva.
- Bosque caducifolio mediterráneo andino de *Nothofagus glauca* y *Nothofagus obliqua*, que corresponde a un bosque caducifolio en el que dominan *N. glauca* y *N. obliqua*, formando por lo general bosques espacialmente segregados y solo se mezclan en las exposiciones más húmedas.

Si bien es cierto que estos pisos vegetacionales comprenden el área de distribución natural de *N. glauca*, hay zonas que no están cubiertas y que corresponden a pisos del tipo bosque esclerófilo mediterráneo. Esto se da en parte de la distribución costera en el norte de la región del Maule y en todos aquellos bosques más septentrionales, presentes en las regiones de O'Higgins y Metropolitana. Esto podría ser, además, un elemento diferenciador de zonas de crecimiento.

#### DIFERENCIACIÓN GENECOLÓGICA. VARIACIÓN CLINAL O ECOTÍPICA

La distribución geográfica latitudinal de las especies del género *Nothofagus* en Chile y la variación de la preci-



pitación, tanto latitudinal como longitudinal, son factores que facilitan la diferenciación genecológica de las especies (Donoso 1987). En su distribución natural, *N. glauca* crece en variadas condiciones de sitio. Si bien es cierto que no existe una marcada diferencia en los tipos de suelo y que, por lo general, se encuentra en exposiciones de solana en laderas con pendientes suaves o fuertes, a lo largo de la gradiente latitudinal en los más de 330 km que separan la población más septentrional de la más meridional, se presentan diferentes condiciones climáticas, con marcadas diferencias, por ejemplo, en el nivel de precipitaciones.

Que en toda el área de su distribución natural las condiciones ambientales varíen considerablemente podría favorecer la diferenciación genecológica de las poblaciones de *N. glauca*. En este contexto, se podría esperar una diferenciación ecotípica o del tipo clinal, como sucede con otras especies de *Nothofagus* (Donoso 1987) que, en parte, crecen en una zona similar y contigua a la de *N. glauca* (e.g. *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Oerst). Sin embargo, no se han encontrado reportes que confirmen esta hipótesis. No obstante, el tamaño de las semillas podría estar condicionado por la procedencia; la semilla de árboles de la distribución andina en la región del Maule, tienden a ser más largas y de menor peso que las de la distribución costera en la misma región, aunque su capacidad germinativa, en torno a un 40 % de las semillas viables, es similar en ambos sectores (Santelices *et al.* 2017). Según Santelices *et al.* (2017), si bien no se ha reportado una relación positiva entre el peso de la semilla y su capacidad germinativa, es destacable el hecho de que en semillas de procedencias andinas, con un peso promedio de 1.000 semillas igual a  $427,7 \pm 9,3$  g, se haya registrado la capacidad germinativa más baja (menor al 30 %), situación ocurrida en las poblaciones de Vilches y El Melado, localizadas en la Cordillera de Los Andes en la región del Maule, en altitudes cercanas a 1.000 m s.n.m.; por el contrario, en procedencias de la costa, se registró un peso promedio de 1.000 semillas igual a  $482,8 \pm 13$  g y una capacidad germinativa homogénea para todas las poblaciones analizadas ( $40,21 \pm 3,5$  %). Es posible que gran parte de esta variabilidad de tipo discontinua o ecotípica, sea producto de la clara interrupción de la continuidad de la especie entre ambas cordilleras, además de diferencias climáticas y altitudinales. De lo contrario, la especie presentaría una amplia plasticidad fenotípica para el carácter peso de la semilla. No obstante, dado el rango de distribución de la especie, estos son aspectos que deberían ser investigados en mayor profundidad.

En cuanto a la ciclicidad en la producción de semillas, *N. glauca* tiene un comportamiento similar al de otras especies del género (Monks y Kelly 2006), siendo también clasificada como una especie vecera. No obstante, no se han caracterizado los ciclos de semillación. Considerando la importancia de la especie y la información insuficiente para optimizar la toma de decisiones orientadas al manejo en términos de conservación o producción, deberían profundizarse este tipo de estudios y analizarse el compor-

tamiento en la producción de las semillas en una escala temporal mayor.

## VARIACIÓN EN CRECIMIENTO

Si bien el territorio en donde se distribuye *N. glauca* no es tan extenso como el de otras especies del género (Donoso 1987), las variadas condiciones de sitio deberían reflejarse en diferentes zonas de crecimiento. Sin embargo, esto no se ha verificado dado que los estudios sobre el crecimiento de la especie son reducidos.

Aunque no existen reportes sobre el crecimiento inicial de esta especie, existen algunas investigaciones en rodales maduros realizadas mediante la técnica del análisis de tallo o fustal, en diferentes sitios de la distribución andina de *N. glauca*, observándose áreas basales que varían entre  $40 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  y  $61,5 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  (Mollenhauer 1975, Donoso 1988). Un rodal que tenía 71 años de edad y  $504 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  de volumen presenta la mayor área basal ( $61,5 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$ ), localizado en el sector de Radal Siete Tazas, en la Cordillera de Los Andes en la provincia de Talca de la región del Maule, cuyo crecimiento medio anual observado en los árboles dominantes fue de 0,43 cm en diámetro medio cuadrático y 0,36 m en altura (Donoso 1988). En cambio, en un bosque más joven (38 años de edad regenerado por monte bajo), con  $40 \text{ m}^2 \text{ ha}^{-1}$  de área basal, localizado un poco más al Sur, pero siempre en la distribución andina (Bullileo, en la provincia de Linares en la región del Maule), el volumen observado fue de  $180 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  (Mollenhauer 1975). En estos dos bosques, el ritmo de crecimiento disminuyó fuertemente con la edad, llegando a valores de un 50 % en volumen y área basal al compararlos con el de los primeros años.

Con la información generada mediante análisis fustales en rodales localizados en Radal Siete Tazas y Bullileo (Mollenhauer 1975, Donoso 1988), se desarrolló un modelo que puede estimar la altura y la edad de los árboles dominantes en función del diámetro para esa zona de crecimiento, pudiéndose apreciar algunos valores en el cuadro 2 (Santelices y Stephan 1998).

En cuanto al cultivo de plantas en vivero, existe información suficiente para producir plantas en una temporada con una calidad funcional aceptable para su posterior establecimiento en campo (Santelices *et al.* 2013ab, Cabello *et al.* 2019). No obstante, solo se ha reportado una experiencia sobre plantaciones de *N. glauca* (Quiroz *et al.* 2009), que en definitiva es la instancia para evaluar la calidad de las mismas. En el proceso de producción de plantas en la Zona Central de Chile, se ha observado que es necesario protegerlas de la radiación directa (Santelices *et al.* 2013a), siendo usualmente utilizadas para este efecto mallas de sombra, ampliamente aceptadas como medio de cultivo bajo condiciones ambientales semicontroladas. Aún no se han establecido atributos morfológicos para la comercialización del material de propagación de uso forestal para *N. glauca*, pero se podrían utilizar los em-

pleados para *Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl.) Oerst. (INN 2005). Esta norma considera una planta de calidad suficiente aquella que tiene entre 25 y 35 cm de altura y un diámetro de cuello mayor a 3 mm y que ha sido cultivada a raíz cubierta durante una temporada; en el caso de aquellas cultivadas a raíz desnuda también durante una temporada, los requerimientos son dimensiones entre 25 y 40 cm de altura y un diámetro de cuello mayor a 5 mm (INN 2005). En general, la información recogida en los reportes sobre producción de plantas de *N. glauca* se encuentra en los rangos sugeridos para esas condiciones, especialmente para aquellas cultivadas a raíz cubierta (cuadro 3).

Si bien es cierto que las plantas cultivadas durante una temporada (1/0) a raíz desnuda en general no alcanzan las dimensiones en altura y diámetro sugeridas por la norma chilena antes mencionada, sí están en el rango propuesto para la relación entre esos dos atributos, con un índice de esbeltez levemente inferior a 5. En cambio, aquellas cultivadas a raíz cubierta, también del tipo 1/0, tanto en su diámetro como en la esbeltez de su tallo, están en los rangos sugeridos por la norma para plantas de buena calidad. En ambientes mediterráneos, caracterizados por un periodo prolongado sin precipitaciones, como donde se distribuye

naturalmente *N. glauca*, la tendencia es producir plantas a raíz cubierta. Por otra parte, el índice de esbeltez observado en las plantas se encuentra en el rango considerado como aceptable para especies de climas mediterráneos (Villar-Salvador 2003). En cuanto a la relación de la biomasa aérea con la biomasa radical (índice tallo/raíz), si bien es cierto que no existe mucha información sobre el particular para climas mediterráneos, se han sugerido valores entre 1,5 y 2,2 (Villar-Salvador 2003); en las experiencias reportadas para *N. glauca* se observan valores en los índices de calidad que podrían indicar que las plantas tendrían en campo un adecuado balance hídrico (cuadro 3).

En cuanto al crecimiento de *N. glauca* en plantaciones, solo existe un reporte (Quiroz et al. 2009), en el cual se analizó el efecto del volumen radical, de la protección lateral con malla plástica, y del riego, sobre el desarrollo inicial de esta especie. Estos autores concluyen que, culminada la segunda temporada de crecimiento, no hay un efecto sobre el crecimiento diametral como consecuencia del volumen de raíces de las plantas, aunque el diámetro de aquellos individuos sin protección fue significativamente mayor; no obstante, en aquellas plantas bajo protección con malla se registraron las mayores alturas; en cuanto a la

**Cuadro 2.** Altura y edad en función del DAP de árboles dominantes de *Nothofagus glauca* de dos sitios con diferente área basal en la distribución andina de la especie (Bullileo con 40 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup> y Radal Siete Tazas con 61,5 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>) (Santelices y Stephan 1998).

Height and age as a function of DBH of dominant *Nothofagus glauca* trees from two sites with different basal area in the Andean distribution of the species (Bullileo with 40 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup> and Radal Siete Tazas with 61.5 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>) (Santelices and Stephan 1998).

Área Basal (m <sup>2</sup> ha <sup>-1</sup> )		Edad (años)						
		10	20	30	40	50	60	70
40,0	Altura (m)	3,1	7,0	10,6	13,7	16,6	19,1	21,2
	DAP (cm)	4,9	9,4	13,1	16,3	19,1	21,6	23,9
61,5	Altura (m)	5,2	10,5	14,9	18,5	21,4	23,7	25,3
	DAP (cm)	6,0	11,3	16,1	20,3	24,1	27,4	30,2

**Cuadro 3.** Efecto de diferentes tratamientos culturales en vivero sobre los atributos de plantas de *Nothofagus glauca* cultivadas durante una temporada (Santelices et al. 2013ab, Cabello et al. 2019).

Effect of different cultural treatments in nursery on the attributes of *Nothofagus glauca* plants grown during a season (Santelices et al. 2013ab, Cabello et al. 2019).

Tratamiento	Longitud del tallo (cm)	Diámetro de cuello de la raíz (mm)	Biomasa (g)	Índices de calidad	
				Esbeltez	Tallo/Raíz
Estratificación - 60 días (raíz desnuda)	22	4,7	0,4	4,6	1,8
GA <sub>3</sub> - 800 mg L <sup>-1</sup> (raíz desnuda)	16	4,1	1,2	3,9	1,0
Sombra - 50 % (raíz desnuda)	15	3,2	-	4,7	-
Siembra en septiembre (raíz desnuda)	10	3,0	0,4	3,4	0,9
GA <sub>4</sub> - 100 mg L <sup>-1</sup> (raíz cubierta)	29	4,5	-	6,4	-
Sombra 18-35 % (raíz cubierta)	18,5	3,0	2,6	6,3	0,9
Fertilización Basacote® 7,5-10,0 g L <sup>-1</sup> (raíz cubierta)	22,9	3,1	3,1	8,0	1,1

supervivencia, siempre fue mayor en aquellas con protección lateral. Esto último confirmaría, en parte, que *N. glauca* sigue una estrategia de regeneración por claros (Donoso 1993), necesitando de un espacio al interior del bosque con cierto grado de luminosidad, pero con sombra que ejerza una cierta protección lateral.

#### VARIACIÓN DEBIDO A HIBRIDACIÓN E INTROGRESIÓN

Un factor importante de variación en las poblaciones de *N. glauca* se produce por la hibridación de esta especie con *N. obliqua*, la que genera el híbrido *Nothofagus leonii* Espinosa (huala), el cual se retrocruza con sus padres (Donoso y Landrum 1979). Las evidencias indican la tendencia a una infiltración de genes de *N. glauca* en las poblaciones de *N. obliqua* más que al revés, pero en los individuos introgresantes pueden aparecer muchas características de *N. glauca* que, a veces, hacen difícil distinguir con claridad a un *N. glauca* de un híbrido, elemento que claramente es un factor de variabilidad tanto para *N. glauca* como para *N. obliqua* (Santelices *et al.* 2013a). La variabilidad debida a la introgresión también se aprecia en la madera (Donoso y Landrum 1979).

La hibridación entre *N. obliqua* y *N. alpina*, que produce el híbrido natural reconocido hoy como rorra, se produce en parte del área que lo hace *N. leonii*. Es posible, entonces, el cruzamiento entre un híbrido rorra con *N. glauca*, lo que podría significar otro factor de variación para esta especie (Donoso *et al.* 2004).

#### VARIACIÓN GENÉTICA DETECTADA MEDIANTE MARCADORES ISOENZIMÁTICOS Y MOLECULARES

La variabilidad genética o diversidad genética, en sentido amplio, es el componente más básico de la biodiversidad, y los efectos de los tres principales procesos destructivos (*i.e.*, deforestación, tala indiscriminada y fragmentación) sobre la diversidad genética pueden abarcar desde impactos negativos en la reproducción y supervivencia de una especie, hasta barreras para el intercambio migratorio y su extinción total o parcial. Según Bustamante *et al.* (2005), los efectos de la fragmentación del Bosque Maulino chileno, ecosistema al cual pertenece *N. glauca*, podrían llevar a una disminución de la abundancia de la especie, de ahí que el conocimiento de su diversidad genética sea una herramienta vital para la conservación y manejo de su patrimonio genético.

En el caso de *N. glauca*, y al igual que para *N. alessandrii*, la información sobre su diversidad genética es escasa. No obstante, y debido a su distribución geográfica, es esperable que la especie contenga altos niveles de diversidad genética y sea menos afectada por efectos estocásticos que producen su deterioro (*e.g.*, deriva génica). Además, dado su sistema de polinización por viento y fecundación

cruzada (Ipinza y Espejo 2000), se podría esperar que la diferenciación genética sea mayor al interior de las poblaciones, al igual que en *N. alpina* (Marchelli y Gallo 2001). Sin embargo, el alto nivel de fragmentación de la especie, debido a la baja producción y alta depredación de sus semillas (Donoso *et al.* 2003b, Burgos *et al.* 2008), el bajo reclutamiento de plantas (Castillo 2005) y el aislamiento entre algunas poblaciones (Vergara *et al.* 2014), son factores que a futuro podrían afectar negativamente los niveles de diversidad genética de la especie.

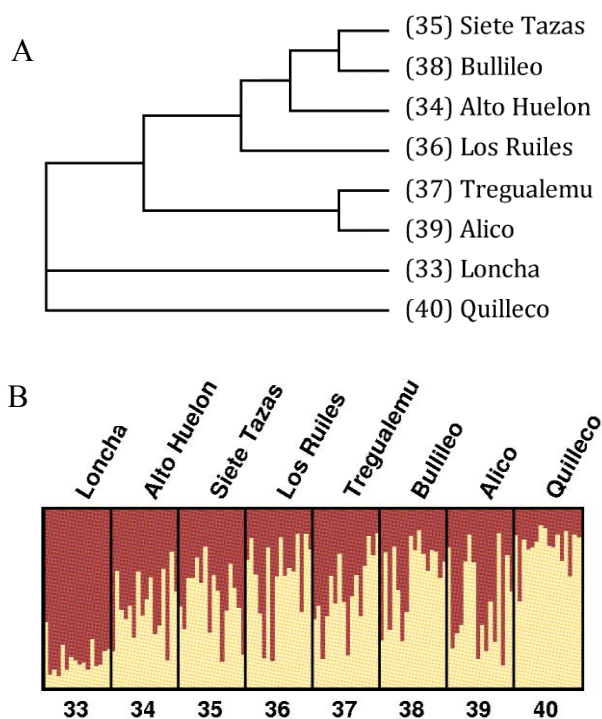
Martín *et al.* (2010) desarrollaron marcadores a base de las proteínas de reserva de la semilla. Los autores muestrearon una población costera (Reserva Los Queules, 35° 58' S - 72° 41' O) y una precodillerana (San Fabián de Alico, 36° 33' S - 71° 32' O), analizando cinco semillas por árbol (no se informa la cantidad de árboles muestreados por población). Se encontró un nivel de diversidad genética medio a alto ( $H_E = 0,241$ ) y una similitud genética entre ambas poblaciones. Más tarde, en un estudio utilizando marcadores de tipo microsatélite (Vergara *et al.* 2014), se analizaron siete loci en una muestra de ocho poblaciones costeras y precodilleranas de *N. glauca*, utilizando 16 individuos por población y abarcando desde los 34° 10' a los 37° 28' de latitud Sur y 71° 01' a 72° 40' de longitud Oeste. Los resultados indican que, a pesar de la explotación, sustitución y fragmentación de los bosques de la especie, esta mantiene una alta diversidad genética. Se encontró un promedio de 4,5 alelos por locus (A) y el parámetro  $H_E$  alcanzó una media de 0,50. Estos valores, son inferiores a los reportados en el mismo estudio para las especies de más amplio rango *N. obliqua* ( $A = 6,2$ ,  $H_E = 0,66$ ) y *N. alpina* ( $A = 5,5$ ,  $H_E = 0,62$ ), lo que muestra una correlación positiva entre los niveles de diversidad genética y la extensión de la distribución geográfica en especies relacionadas. Un resultado que requiere ser profundizado es la presencia de coeficientes de endogamia que, aunque no estadísticamente significativo, son o bien cercanos a cero o positivos ( $F_{IS} = -0,007$  a 0,215). Es interesante el hecho de que el valor más alto para el parámetro  $F_{IS}$  se encuentre en la población denominada Siete Tazas ( $F_{IS} = 0,215$ ), perteneciente a la Reserva Nacional Radal Siete Tazas en la región del Maule, es decir, bajo un sistema estatal de protección. Si bien la endogamia debería ser más común en las poblaciones de *N. glauca* que están más aisladas geográficamente y que son más pequeñas, estos resultados podrían indicar que en las áreas protegidas solo se están conservando poblaciones históricamente marginales y que el proceso de fragmentación en las poblaciones del centro de la distribución es muy reciente como para que se refleje en una endogamia acentuada. Este es un aspecto que debería ser investigado en mayor profundidad.

Desde el punto de vista de la estructura poblacional, el nivel de diferenciación al interior de las poblaciones de *N. glauca* es alto (91 %), en tanto que la diferenciación genética entre poblaciones es baja (8,7 %) (Vergara *et al.* 2014), lo que es típico en especies forestales e indica que

la mayoría de la diversidad genética está al interior de las poblaciones y que hay un moderado a alto flujo de genes entre poblaciones, mediado por la dispersión del polen. Así, la tasa de migración efectiva (*i.e.*, parámetro  $N_e m$ ) tiene un valor de 2,6 individuos por generación, lo que es suficiente para mantener a las poblaciones fuera del riesgo de deriva genética (Vergara *et al.* 2014). Además, los autores indican que las poblaciones pueden dividirse en tres grupos. El primer grupo incluye poblaciones costeras y precordilleranas ubicadas aproximadamente entre los 35° a 36,3° de latitud Sur y 71° a 72,4° de longitud Oeste, similar a lo reportado por Martín *et al.* (2010), en tanto que en el segundo y el tercer grupo quedarían las poblaciones aisladas de Loncha por el Norte (34°10' - 71°01') y Quilleco por el Sur (37°28' -71°58'), respectivamente (figura 2A). Complementariamente, en la figura 2B se muestra que el segundo y tercer grupo tienen una identidad genética relativamente diferenciada el uno del otro, y que las poblaciones del primer grupo son una combinación balanceada de ambas identidades. Dentro del primer grupo, la similitud genética entre las poblaciones de Tregualemu (costa) y San Fabián de Alico (precordillera) indicaría que

el flujo de genes tiene una aparente orientación Este-Oeste, lo que podría explicarse por la orientación de las cadenas montañosas en la zona.

Los antecedentes mencionados indican que el estado de conservación genética de *N. glauca* no es aún crítico y que su nivel de diversidad neutral es medio a alto. No obstante, la baja representatividad de la especie en el Sistema Nacional de Áreas Silvestres Protegidas (SNASPE), solo un 2 % (Ormazábal y Benoit 1987) y la fuerte presión antropogénica, son factores que podrían conducir a la especie a un mayor grado de deterioro en el mediano o largo plazo. A lo anterior se suma la nula información acerca del potencial adaptativo de la especie y su comparación con la diversidad neutral (*i.e.*, comparaciones  $Q_{ST}$  vs  $F_{ST}$ ). Santelices *et al.* (2017), al analizar la capacidad germinativa y supervivencia de poblaciones costeras y precordilleranas de *N. glauca*, encontraron una mayor diferenciación al interior de las poblaciones que entre poblaciones; las poblaciones precordilleranas tendrían una menor capacidad germinativa y supervivencia. Similares resultados fueron reportados por Santelices *et al.* (2013a) y podrían estar relacionados con la distribución altitudinal de estas



**Figura 2.** A) Dendrograma obtenido usando valores de diferenciación genética entre todos los pares de poblaciones de *Nothofagus glauca* estudiadas por Vergara *et al.* (2014). B) Representación gráfica de la estructura encontrada entre las poblaciones de *Nothofagus glauca* estudiadas por Vergara *et al.* (2014). El análisis muestra dos probables identidades genéticas y un alto flujo de genes entre poblaciones (los grupos de poblaciones están representados por colores, las poblaciones están definidas por líneas verticales y ordenadas de norte a sur, y dentro de los individuos, la proporción de cada color indica pertenencia al grupo dado).

A) Dendrogram obtained using genetic differentiation values between all pairs of *Nothofagus glauca* populations studied by Vergara *et al.* (2014). B) Graphic representation of the structure found among the populations of *Nothofagus glauca* studied by Vergara *et al.* (2014). The analysis shows two probable genetic identities and high gene flow among populations (groups of populations are represented by colors, populations are defined by vertical lines and ordered from north to south, and within individuals, the proportion of each color indicates membership in the given group).



poblaciones. Además, como se mencionó anteriormente, *N. glauca* tiene un bajo nivel de reclutamiento de plantas, situación que disminuiría a medida que se avanza hacia el límite altitudinal de su distribución, dados los estreses ambientales a los que se ve sometida la especie.

Las zonas con una alta diversidad genética son las más importantes para la conservación de una especie, ya que constituyen el material base tanto para programas de mejoramiento como para el cultivo de la especie fuera de su área de distribución. Los esfuerzos de conservación deberían concentrarse en las poblaciones genéticamente distintivas, y en poblaciones con mayor riqueza alélica global de las especies. De estas poblaciones, la población aislada de Quilleco en el límite sur de la distribución de esta especie, tiene la primera prioridad debido a su vulnerabilidad, luego San Fabián de Alicó, y finalmente Roblería Cobre de Loncha y Los Ruiles, poblaciones actualmente protegidas pero que requieren la protección de poblaciones aledañas complementarias para disminuir la probabilidad de extinción debido especialmente a incendios forestales. Además, si bien las poblaciones ubicadas en las Reservas Nacionales Los Ruiles, Altos de Lircay, Radal Siete Tazas y Roblería Cobre de Loncha están protegidas, los resultados reportados por Vergara *et al.* (2014) coinciden en que en las áreas protegidas habría niveles de endogamia más altos, por lo que se debería profundizar la estrategia adecuada para enriquecer su acervo genético. Para esto, otra tarea a futuro es la evaluación de la diversidad genética de la especie a partir de ADN cloroplástico, con el propósito de conocer la composición de haplotipos poblacionales y planificarla transferencia de material genético de manera adecuada. A modo de ejemplo, Marchelli *et al.* (1998) reportaron distintos haplotipos para *N. alpina* en Argentina, los cuales mostraban una notoria separación Norte-Sur. Esto permitiría evitar alterar negativamente la identidad y diversidad genética de la especie al momento de llevar a cabo labores de restauración.

## CONSIDERACIONES FINALES

La información presentada evidencia la variabilidad intra-específica en múltiples rasgos de *N. glauca*. Los hechos descritos previamente en relación con su distribución (espacial, ecológica y en relación con tipología forestal) demuestran que *N. glauca* está sometido a diferentes condiciones climáticas, lo que sugiere variabilidad fenotípica y genotípica. Esta variabilidad es corroborada, además, a través de estudios genéticos. Las investigaciones a la fecha, valiosas como línea base, permiten planificar una segunda fase, de tipo experimental, la cual debiera comparar los distintos genotipos y/o fenotipos en condiciones ambientales extremas y posibles en escenarios de cambio climático. De esta forma se podrán seleccionar poblaciones que puedan hacer frente a futuras, pero próximas, condiciones de sequía y/o de aumento de temperatura, enfermedades, entre otras. Otro punto a considerar para futuros estudios,

es el microbioma asociado a esta especie vegetal (Trivedi *et al.* 2020). Por ejemplo, las raíces de las plantas del género *Nothofagus* forman asociaciones simbióticas obligadas con una gran cantidad de especies de hongos del suelo, generando un órgano clave para la nutrición y tolerancia a estresores bióticos y abióticos. Este órgano conocido como ectomicorriza constituye una fuente de variación importante que también permitirá seleccionar individuos capaces de lidiar de mejor forma con un futuro escenario de cambio climático. Por lo tanto, es urgente el estudio próximo en situaciones experimentales y que consideren el microbioma de *N. glauca* de forma tal de poder entregar herramientas concretas para los programas de conservación y restauración de bosques de esta especie.

## REFERENCIAS

- Arroyo MTK, M Riveros, A Peñaloza, L Cavieres, AM Faggi. 1996. Phytogeographic relationships and regional richness patterns of the cool temperate rainforest flora of southern South America. In Lawford RG, PB Alaback, E Fuentes eds. High-Latitude rainforests and associated ecosystems of the west Coasts of the Americas: climate, hydrology, ecology and conservation. New York. USA. Springer. p. 134-172.
- Barstow M, MC Rivers, H Baldwin. 2017. *Nothofagus glauca*. The IUCN Red List of Threatened Species 2017: e.T32034A2809142. Consultado ene. 2018. Disponible en <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2017-3.RLTS.T32034A2809142.en>.
- Burgos A, AA Grez, RO Bustamante. 2008. Seed production, pre-dispersal seed predation and germination of *Nothofagus glauca* (*Nothofagaceae*) in a temperate fragmented forest in Chile. *Forest Ecology and Management* 255: 1226-1233. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.10.032>.
- Bustamante R, A Grez, J Simonetti, J San Martín. 2005. La fragmentación del bosque Maulino y su dinámica regeneracional: diagnóstico actual y perspectivas futuras. In Smith C, J Armesto, C Valdovinos eds. Historia, Biodiversidad y Ecología de los Bosques de la Cordillera de la Costa. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. p. 529-539.
- Bustamante R, J Simonetti. 2005. Is *Pinus radiata* invading the native vegetation in Central Chile? Demographic responses in a fragmented forest. *Biological Invasions* 7: 243-249. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10530-004-0740-5>.
- Cabello A, N Espinoza, S Espinoza, A Cabrera, R Santelices. 2019. Effect of pre-germinative treatments on *Nothofagus glauca* seed germination and seedling growth. *New Zealand Journal of Forestry Science* 49: 1-9. DOI: <https://doi.org/10.33494/nzjfs492019x34x>.
- Castillo J. 2005. Tasa de reclutamiento y mortalidad de especies arbóreas en el Bosque Maulino costero: efecto del intervalo censal, la fragmentación del bosque y la especie. Tesis Ingeniería en Recursos Naturales Renovables. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 34 p.
- Córdova D, M Pérez. 1996. Estudio comparativo de las comunidades de "hualo" (*Nothofagus glauca* (Phil. Krasser) en el sector costero y la precordillera de la VII Región. Taller de

- Habilitación Profesional. Talca, Chile. Universidad Católica del Maule. 49 p.
- Donoso C. 1987. Variación natural en especies de *Nothofagus* en Chile. *Bosque* 8(2): 85-97. DOI: <https://doi.org/10.4206/bosque.1987.v8n2-03>
- Donoso C. 1993. Bosques templados de Chile y Argentina. Variación, estructura y dinámica. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. 484 p.
- Donoso C, L Gallo, PJ Donoso, M Azpilicueta. 2004. Variación en *Nothofagus obliqua* (Mirb.) Oerst. (Roble, Coyán, Hualle o Pellín). In Donoso C, AC Premoli, L Gallo, R Ipinza eds. Variación intraespecífica en especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. p. 79-113.
- Donoso C, L Landrum. 1979. Hybridization and gynecological differentiation in Chilean *Nothofagus*. *Archivos de Biología y Medicina Experimentales* 12: 634-634.
- Donoso P. 1988. Caracterización, crecimiento y proposiciones silviculturales para comunidades de *Nothofagus* en el Área de Protección "Radal - 7 Tazas", VII Región. Tesis Ingeniero Forestal. Valdivia, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad Austral de Chile. 101 p.
- Gajardo R. 1994. La Vegetación Natural de Chile. Clasificación y Distribución Geográfica. Santiago, Chile. Editorial Universitaria. 165 p.
- Hijmans RJ, SE Cameron, JL Parra, PG Jones, A Jarvis. 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978. DOI: <https://doi.org/10.1002/joc.1276>.
- INN (Instituto Nacional de Normalización, CL). 2005. NCH2957/5 Madera. Material de propagación de uso forestal. Parte 5: requisitos generales para raulí. Santiago, Chile. Instituto Nacional de Normalización (INN). 6 p.
- Ipinza R, J Espejo. 2000. Biología reproductiva en *Nothofagus*. In Ipinza R, B Gutiérrez, V Emhart eds. Domesticación y mejora genética de raulí y roble. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile- Instituto Forestal. p. 75-93.
- Le-Quesne C, L Sandoval. 2001. Extensión del límite sur para *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Gayana Botánica* 58: 139-142. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432001000200005>.
- Litton CM, R Santelices. 2003. Effect of wildfire on soil physical and chemical properties in a *Nothofagus glauca* forest, Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* 76: 529-542. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-078X2003000400001>.
- López E. 1994. Caracterización bioclimática de la estación meteorológica de la Universidad Católica del Maule. Taller de Habilitación Profesional. Talca, Chile. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Católica del Maule. 50 p.
- Luebert F, P Plissock. 2004. Clasificación de pisos de vegetación y análisis de representatividad ecológica para áreas propuestas para protección de la ecorregión. Valdivia, Chile. WWF Chile. 174 p.
- Marchelli P, LA Gallo. 2001. Genetic diversity and differentiation in a southern beech subjected to introgressive hybridization. *Heredity* 87: 284-293. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2540.2001.00882.x>.
- Marchelli P, LA Gallo, F Scholz, B Ziegenhagen. 1998. Chloroplast DNA markers reveal a geographical divide across Argentinean southern beech *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. distribution area. *Theoretical and Applied Genetics* 97: 642-646. DOI: <https://doi.org/10.1007/s001220050940>.
- Martín MA, S Muñoz, F Muñoz, M Uribe, JR Molina, MA Herrera, LM Martín, JB Alvarez. 2010. Primeros resultados en el desarrollo de un marcador genético basado en las proteínas de reserva en dos especies del género *Nothofagus*. *Bosque* 31(3): 252-257. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002010000300010>.
- MSEGPRES (Ministerio Secretaría General de la Presidencia, CL). 2008. Decreto Supremo 51. 2008. Diario Oficial de la República de Chile, N° 39.100. [http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/Anexo\\_tercer\\_proceso/DS\\_51\\_2008\\_3erProcesoClasif\\_completo.pdf](http://www.mma.gob.cl/clasificacionespecies/Anexo_tercer_proceso/DS_51_2008_3erProcesoClasif_completo.pdf)
- Mollenhauer K. 1975. Estudio de estructura en renovales de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser, en Bullileo. Tesis Ingeniero Forestal. Santiago, Chile. Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Chile. 63 p.
- Monks A, D Kelly. 2006. Testing the resource-matching hypothesis in the mast seeding tree *Nothofagus truncata* (Fagaceae). *Austral Ecology* 31: 366-375. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1442-9993.2006.01565.x>.
- Ormazábal C, I Benoit. 1987. El estado de conservación del género *Nothofagus* en Chile. *Bosque* 8(2): 109-120. DOI: <https://doi.org/10.4206/bosque.1987.v8n2-06>
- Quiroz I, M Pincheira, A Hernández. 2009. Restauración ecológica en la zona central de Chile: técnicas silvícolas para la supervivencia y crecimiento de rui, hualo, y peumo bajo condiciones de estrés hídrico. *Chile Forestal* 363: 50-53.
- Rioseco R, C Tesser. 2016. Cartografía interactiva de los climas de Chile. Consultado ene. 2016. Disponible en [http://www7.uc.cl/sw\\_educ/geografia/cartografiainteractiva/index.htm](http://www7.uc.cl/sw_educ/geografia/cartografiainteractiva/index.htm).
- Rodríguez R, M Quezada. 2003. *Fagaceae*. In Marticorena C, R Rodríguez eds. Flora de Chile 2. Concepción, Chile. Universidad de Concepción. p. 64-76.
- Santelices R, C Donoso, A Cabello. 2013a. *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser, Hualo, Roble maulino, Roble colorado (Maule). Familia: *Nothofagaceae*. In Donoso C ed. Las Especies Arbóreas de los Bosques Templados de Chile y Argentina: Autoecología. Valdivia, Chile. Marisa Cuneo Ediciones. p. 433-442.
- Santelices R, S Espinoza, A Cabrera-Ariza, K Peña-Rojas, SR Donoso. 2013b. Effect of shading and fertilisation on the development of container-grown *Nothofagus glauca* seedlings, a threatened species from central Chile. *Southern Forests* 75: 145-148. DOI: <10.2989/20702620.2013.816234>.
- Santelices R, S Espinoza, C Magni, A Cabrera, S Donoso, K Peña. 2017. Variability in seed germination and seedling growth at the intra- and inter-provenance levels of *Nothofagus glauca* (*Lophozonia glauca*), an endemic species of Central Chile. *New Zealand Journal of Forestry Science* 47: 1-9. DOI: <10.1186/s40490-017-0091-5>.
- Santelices R, G Stephan. 1998. *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. In Shutt P, HJ Schuck, UM Lang, A Roloff eds. *Enzyklopädie der Holzgewächse: Handbuch und Atlas der Dendrologie*. Hamburg, Deutschland. Ecomed Verlagsgesellschaft. p. 1-6.
- SINIA (Sistema Nacional de Información Ambiental, CL). 2019. Sistema Nacional de Información Ambiental. Consultado ene. 2019. Disponible en <http://ide.mma.gob.cl/>.
- Trivedi P, JE Leach, SG Tringe, T Sa, BK Singh. 2020. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health. *Nature Reviews Microbiology*. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0412-1>

- Valencia D, J Saavedra, J Brull, R Santelices. 2018. Severidad del daño causado por los incendios forestales en los bosques remanentes de *Nothofagus alessandrii* Espinosa en la región del Maule de Chile. *Gayana Botánica* 75: 531-534. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-66432018000100531>.
- Vergara R, MA Gitzendanner, DE Soltis, PS Soltis. 2014. Population genetic structure, genetic diversity, and natural history of the South American species of *Nothofagus* subgenus *Lophozonia* (*Nothofagaceae*) inferred from nuclear microsatellite data. *Ecology and Evolution* 4: 2450-2471. DOI: [10.1002/ece3.1108](https://doi.org/10.1002/ece3.1108).
- Villar-Salvador P. 2003. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. In Rey-Benayas JM, T Espigares-Pinilla, JM Nicolau-Ibarra eds. Restauración de Ecosistemas Mediterráneos. Alcalá de Henares, España. Universidad de Alcalá. p. 65-86.

Recibido: 30/03/20

Aceptado: 09/09/20





ARTICULOS

**Coeficiente de asociación entre especies de selva mediana subperennifolia en Calakmul, México**

Association coefficient between species of semi-evergreen forest in Calakmul, Mexico

**Alejandra Gómez Velázquez<sup>a</sup>, Alfredo Esteban Tadeo Noble<sup>b\*</sup>, Leonardo Beltrán-Rodríguez<sup>c</sup>, Enrique Guízar Nolazco<sup>a</sup>, Maribel Apodaca Martínez<sup>b</sup>, Ángel Leyva Ovalle<sup>a</sup>**

<sup>a</sup> Universidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales, Texcoco, México.

\* Autor de correspondencia: <sup>b</sup> Instituto Tecnológico Superior de Venustiano Carranza, Puebla, México, Av. Tecnológico S/N, Col. El Huasteco, Lázaro Cárdenas, tel.: 746-843-57-53, alfredo.tadeo@itsvc.edu.mx

<sup>c</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biología, Jardín Botánico, Laboratorio de Etnobotánica Ecológica, Ciudad de México, México.

SUMMARY

Association coefficients measure interrelation level between the attributes of two species within populations. The objective of this work was to analyze the association patterns among the 10 species with the highest importance value index (IVI) in a semi-evergreen forest of Calakmul, Mexico. The 10 taxa were expected to be independently distributed within the community, therefore no interspecific association would occur. Systematically, 479 sampling units were established on a 500-ha surface in the ejido Gustavo Díaz Ordaz, Calakmul. Eighty-five tree species, 36 genera and 32 families were recorded. IVI was estimated, and with the 10 most important species, an  $\chi^2$  analysis was performed to test independence in 45 possible combinations of species pairs. Cole's interspecific association coefficient was considered based on the  $\chi^2$  significance test. The 10 most important species represent 47.98 % of the IVI. The Cole association coefficient identified that 17 pairs, out of 45, were distributed in a dependent way regarding another species, while the rest were indifferent to the presence of these taxa. *Bursera simaruba*, the species with the highest IVI, was related to three species, while *Metopium brownei* (third position of IVI) was related to six taxa. It is proposed to apply this procedure as an independent though complementary statistical test to Ripley's  $K_{12}(t)$ , to establish numerical criteria for the selection and analysis of spatial data.

*Key words:* Cole coefficient, spatial ecology, importance value index, Ripley's  $K_{12}(t)$ , Synecology.

RESUMEN

Los coeficientes de asociación miden el nivel de interrelación entre los atributos de dos especies dentro de las poblaciones. El objetivo de este trabajo fue analizar los patrones de asociación entre las 10 especies con mayor índice de valor de importancia (IVI) en una selva mediana subperennifolia de Calakmul, México. Se esperaba que los 10 taxa se distribuyan de forma independiente dentro de la comunidad, por lo que no se presentaría ningún tipo de asociación interespecífica. Se establecieron 479 unidades de muestreo de forma sistemática en una superficie de 500 ha en el Ejido Gustavo Díaz Ordaz, Calakmul. Se registraron 85 especies arbóreas, 36 géneros y 32 familias. Se estimó el IVI, y con las 10 especies más importantes se realizó un análisis de  $\chi^2$  para probar la independencia en 45 combinaciones posibles de pares de especies; se utilizó el coeficiente de asociación interespecífica de Cole basado en la prueba de significancia de  $\chi^2$ . Las 10 especies más importantes representaron 47,98 % del IVI. El coeficiente de asociación de Cole indicó que 17 pares de 45 se distribuyeron de forma dependiente a otra especie, mientras que el resto fue indiferente a la presencia de estos taxa. *Bursera simaruba*, especie con mayor IVI, se relacionó con tres especies, mientras que *M. brownei* (tercera posición de IVI) se relacionó con seis taxa. Se propone aplicar este procedimiento como una prueba estadística independiente pero complementaria a la  $K_{12}(t)$  de Ripley, a fin de establecer criterios numéricos para la selección y análisis de datos espaciales.

*Palabras clave:* coeficiente de Cole, ecología espacial, índice de valor de importancia,  $K_{12}(t)$  de Ripley, sinecología.

## INTRODUCCIÓN

La asociación interespecífica es una característica numérica de la formación, evolución y estabilidad de las comunidades vegetales (Janson y Vegelius 1981, Chai *et al.* 2016). También representa la reacción de dirección al interior de la comunidad entre las especies, en donde las ocurrencias mutuas expresan interacciones positivas (atracción) o negativas (repulsión) con miembros de otra especie que suceden en espacios determinados y que se pueden determinar mediante métodos de muestreo (Bray 1956, Hurlbert 1969).

Diversos métodos objetivos y cuantitativos se han desarrollado para determinar el grado de ocurrencia mutua entre especies, basados en el reconocimiento de tres niveles espaciales de relaciones bióticas: geográfico, comunal e interespecífico (Bray 1956). Los coeficientes de asociación son instrumentos importantes en el análisis de datos de diferentes aspectos ambientales relacionados a la interacción espacial entre organismos (Whittaker 1975, Su *et al.* 2015, Liu *et al.* 2017). Las medidas de semejanza tratan de evaluar el grado de interacción entre dos especies en una misma localidad bajo criterios de coexistencia (Hurlbert 1969, Janson y Vegelius 1981). La medida de asociación basada en datos presencia y ausencia de especies sacrifica información asociada a la abundancia, debido a que generalmente se analizan atributos ecológicos en forma independiente, como lo son la cobertura, densidad, biomasa o talla (Hurlbert 1969).

La prueba de Chi-cuadrada ( $\chi^2$ ) se ha utilizado como una medida de asociación interespecífica, ya que considera la dependencia de las frecuencias entre individuos que se comparan dentro de la muestra de una misma población (Hurlbert 1969). La hipótesis nula de distribución independiente de datos de especies se comprueba con una prueba de Chi-cuadrada de una tabla de contingencia 2 x 2, y los índices de asociación muestran la fuerza de las hipótesis alternativas acerca de que las especies coexisten más o menos frecuentemente de lo esperado (Cole 1949, MacKenzie *et al.* 2017).

La comprensión de las relaciones de asociación interespecífica entre especies arbóreas podría ayudar a revelar mecanismos de reemplazo en el proceso de desarrollo de las comunidades vegetales, base fundamental de la gestión forestal (Jiménez-Pérez *et al.* 2009, Chai *et al.* 2016); además de que promueve información sobre modelos de recuperación de vegetación (Jiménez-Pérez *et al.* 2009, Huang *et al.* 2017, Liu *et al.* 2017). La medición de asociaciones interespecíficas aporta a su vez ideas sobre interacciones y relaciones ecológicas entre especies y la dinámica de las poblaciones (Cole 1949, Liu *et al.* 2017). Los coeficientes de asociación interespecífica de especies arbóreas (como los índices de Jaccard, Sorensen y Ochai) han sido empleados en estudios de vegetación desde inicios del siglo XX para describir la semejanza entre comunidades y la asociación entre especies dentro de una

comunidad (Shaukat *et al.* 2014, Chai *et al.* 2016, Liu *et al.* 2017), y aun cuando el coeficiente de Cole es un método espacial pionero, sencillo y estadísticamente robusto, se ha utilizado en un número considerable de investigaciones, pero la mayoría de ellas se han desarrollado en el continente asiático y en bosques templados (Chai *et al.* 2016, Huang *et al.* 2017).

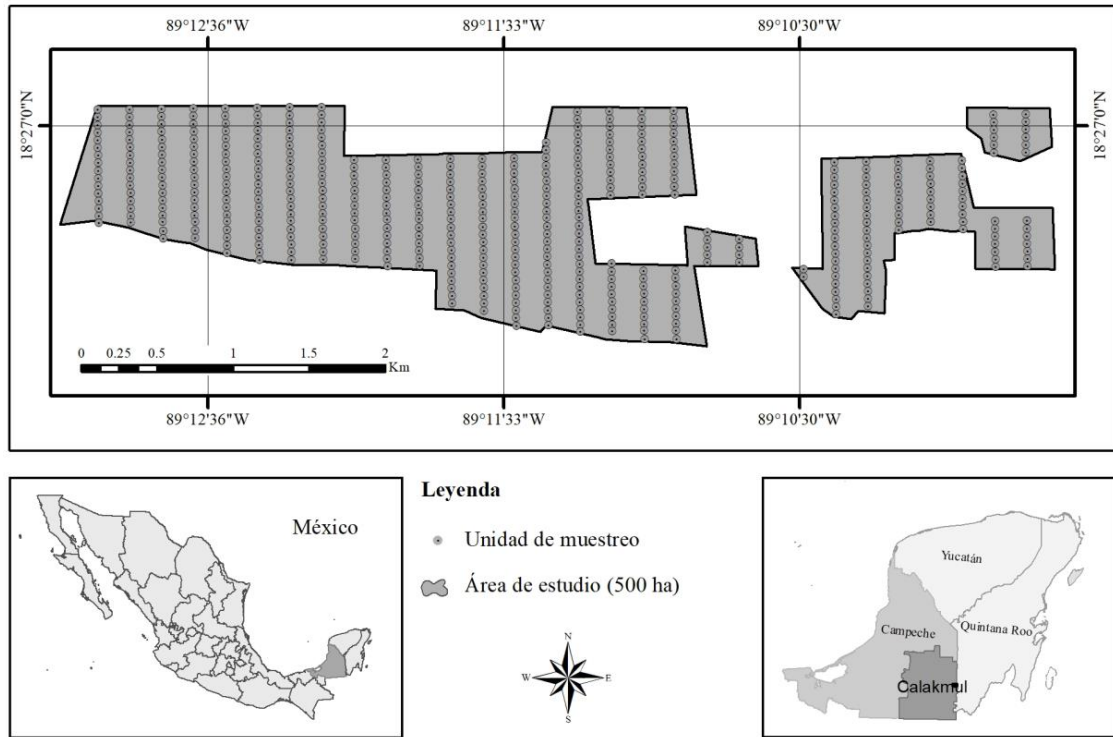
El objetivo del presente estudio consiste en analizar la asociación entre las principales especies arbóreas que componen la selva mediana subperennifolia en el ejido Gustavo Díaz Ordaz, México, bajo el supuesto de que los diez taxa más importantes descritos de acuerdo con el índice de valor de importancia se distribuyen de forma independiente dentro de la comunidad, por lo que no presentan ningún tipo de asociación interespecífica.

## MÉTODOS

*Área de estudio.* El ejido Gustavo Díaz Ordaz se ubica en el municipio de Calakmul, en el estado de Campeche, México, desde 89° 09' 30" a 89° 13' 08" longitud Oeste y desde 18° 26' 10" a 18° 27' 10" latitud Norte. El clima en la zona es cálido subhúmedo con lluvias en verano, con temperatura media anual que oscila entre de los 24 y 26 °C (INEGI 2017) y una precipitación media anual de 1.076 mm (Martínez y Leal 2002). El sustrato es de tipo sedimentario, en tanto que los suelos predominantes en esta área corresponden a leptosoles y gleysoles (INEGI 2017). La vegetación pertenece a selva mediana subperennifolia (Miranda y Hernández-Xolocotzi 2014) con presencia frecuente de *Bursera simaruba* (L.) Sarg., *Caesalpinia gaudieri* Greenm., *Lisiloma latisiliquum* (L.) Benth., *Piscidia piscipula* (L.) Sarg., *Coccoloba cozumelensis* Hemsl., *Guettarda combsii* Urb., *Simarouba glauca* DC. y *Metopium brownei* Urb. (Rzedowski 2006).

*Procedimiento de muestreo.* Se realizó un muestreo distribuido de forma sistemática en una superficie de 500 ha, donde se establecieron 479 sitios de 250 m<sup>2</sup> de forma rectangular de 10 x 25 m, separados entre los centros de cada sitio a 50 m de sur a norte y 200 m de este a oeste (figura 1), con un área de muestreo de 11,975 ha. La medición de todos los individuos con diámetro normal (Dn) mayor o igual a 5 cm se midió con una cinta diamétrica. Los ejemplares fueron procesados y herborizados (Lot y Chiang 1986), para su posterior identificación taxonómica y resguardo en el Herbario Hortorio "CHAPA" del Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. La nomenclatura botánica se homogenizó mediante la base de The International Plant Names Index (IPNI).

*Importancia estructural.* Se utilizó el índice de valor de importancia relativo (IVIr) para jerarquizar la dominancia estructural de los elementos arbóreos en la selva bajo estudio. El cálculo del IVIr se determinó mediante la ecuación 1 (Liu *et al.* 2017), expresado en porcentaje.



**Figura 1.** Ubicación geográfica y distribución de los sitios de muestreo en el ejido Gustavo Díaz Ordaz Calakmul, México.  
 Geographical location and distribution of sampling sites in the ejido Gustavo Díaz Ordaz Calakmul, Mexico.

$$IVIr = (Dr + D_{0r} + Fr)/3 \quad [1]$$

Donde, IVIr = Índice de valor de importancia relativizado, Dr = Densidad relativa,  $D_{0r}$ : Dominancia relativa, Fr = Frecuencia relativa.

De acuerdo con (Chai *et al.* 2016), los parámetros que describen al IVIr se detallan en las siguientes fórmulas:

$$\text{Densidad } (D_i) = \frac{\sum \text{número de individuos de la especie } i}{\text{área muestreada}} \quad [2]$$

$$\text{Densidad relativa } (Dr) = \frac{\text{densidad de la especie } i (D_i)}{\text{densidad de todas las especies } (\sum D_i)} \times 100 \quad [3]$$

$$\text{Área basal del individuo de la especie } i (AB_i) = (\pi/4) \times Dn^2 \quad [4]$$

$$\text{Dominancia } (D_{0i}) = \sum AB_i / \text{área muestreada} \quad [5]$$

$$\text{Dominancia relativa } (D_{0r}) = \frac{\text{dominancia de la especie } i (D_{0i})}{\sum \text{de la dominancia de todas las especies } (\sum D_{0i})} \times 100 \quad [6]$$

$$\text{Frecuencia } (F_i) = \frac{\text{número de sitios donde se reporta la especie } i}{\text{número total de sitios}} \quad [7]$$

$$\text{Frecuencia relativa: frecuencia de la especie } i (F_i) / \sum \text{de las frecuencias por especie } (\sum F_i) \quad [8]$$

Las especies se ordenaron jerárquicamente y en forma descendente de acuerdo con el valor del IVIr, y el análisis del coeficiente de asociación se concentró en las 10 primeras especies, mientras el resto se agruparon en la categoría “otras especies”.

*Prueba de Chi-cuadrada.* De las 10 primeras especies se determinaron 45 pares de combinaciones sin repetición para probar la distribución de la independencia de los datos mediante la prueba de Chi cuadrado corregida ( $\chi^2$ ) usando la fórmula de corrección de Yates; ecuación 9.

$$\chi^2 = \frac{N \left[ (ad - bc) - \left( \frac{N}{2} \right) \right]^2}{(a + b)(c + d)(a + c)(b + d)} \quad [9]$$

Lo anterior a través de una tabla de contingencia 2 x 2 (cuadro 1) con un grado de libertad (Chai *et al.* 2016, Cole 1949, Hurlbert 1969), bajo la hipótesis nula de que la distribución de dos especies es independiente. De hecho, de acuerdo con Chai *et al.* (2016), esta prueba se considera por sí misma un coeficiente de asociación entre pares de especies.

El valor de  $\chi^2$  para cada uno de los 45 pares de especies se comparó con el valor de  $\chi^2$  calculado a partir de la  $\chi^2$  de tablas. Cuando  $\chi^2 < 3,841$  no existe asociación entre especies, cuando  $3,841 \leq \chi^2 < 6,635$  existe cierta asociación

**Cuadro 1.** Tabla de contingencia para evaluar la asociación de especies con base en datos de presencia-ausencia.

Contingency table to evaluate the species association based on presence-absence data.

		Especie B		Σ
		Presencia	Ausencia	
Especie A	Presencia	a	b	a+b
	Ausencia	c	d	c+d
	Σ	a+c	b+d	N = a+b+c+d

entre especies; mientras si  $\chi^2 \geq 6,635$  denota una asociación significativa entre especies (Whittaker 1975, Chai *et al.* 2016).

Con el objeto de medir el tipo de interacción entre especies se aplicó el coeficiente de asociación interespecífica (CA) y error estándar ( $\sigma_{CA}$ ) propuesto por Cole (1949); en todos los pares donde se rechazó la hipótesis nula (Whittaker 1975, Sanjerehei y Rundel 2020). Las asociaciones se pueden presentar bajo tres condiciones (Rodríguez-Salazar 2000).

$$\text{Cuando } ad \geq bc \quad CA = \frac{ad - bc}{(a+b)(b+d)} \quad \sigma_{CA} = \sqrt{\frac{(a+b)(c+d)}{N(a+b)(b+d)}} \quad [10]$$

$$\text{Cuando } ab < bc \text{ y } a \leq d \quad CA = \frac{ad - bc}{(a+b)(a+c)} \quad \sigma_{CA} = \sqrt{\frac{(b+d)(c+d)}{N(a+b)(a+c)}} \quad [11]$$

$$\text{Cuando } ad < bc \text{ y } a > d \quad CA = \frac{ad - bc}{(b+d)(c+d)} \quad \sigma_{CA} = \sqrt{\frac{(a+b)(a+c)}{N(b+d)(c+d)}} \quad [12]$$

El índice de CA asume valores desde 1 para asociaciones positivo completo ( $b = 0, c = 0$ ) hasta  $-1$  para asociaciones negativo completo ( $a = 0, d = 0$ ). Si CA es igual a cero entonces no hay asociación (Chai *et al.* 2016).

## RESULTADOS

**Riqueza y composición.** Se registraron 85 especies arbóreas, 32 familias y 36 géneros. Las familias con mayor riqueza fueron Fabaceae (23,5 %), Sapotaceae (7,1 %), Moraceae (5,9 %) y Malvaceae (5,9 %), mientras que las 28 familias restantes acumulan 57,6 % de total de especies. Los géneros más representativos fueron *Lonchocarpus* (3,5 %), *Pouteria* (3,5 %), *Nectandra*, *Caesalpinia* y *Trichilia* (2,3 % cada una, respectivamente). En total se censaron 16.751 árboles, una densidad de 1.398,75 individuos  $ha^{-1}$ , que aportan una dominancia en área basal de 20,20  $m^2 ha^{-1}$  (AB).

**Importancia estructural.** La acumulación de los valores del IVIr en 10 especies es de 47,98 %. Las cinco especies con mayor importancia estructural en el ejido Gustavo Díaz Ordaz fueron: *B. simaruba* (Burseraceae), *Croton reflexifolius* (Euphorbiaceae), *Metopium brownei* (Anacardiaceae), *Licaria campechiana* (Lauraceae) y *Lonchocarpus xuul* (Fabaceae) (cuadro 2).

Una alta proporción de especies aporta menos de un punto porcentual al IVIr, esto implica una selva de especies raras, muy diversa, pero con poca abundancia por especie; esto es, una baja equitatividad.

**Pruebas de asociación de especies.** La prueba de  $\chi^2$  mostró que, entre las poblaciones de árboles dominantes, 17 pares (37,7 %) tuvieron independencia en la distribución de los datos (figura 2). Las asociaciones fueron positivas, y entre los pares con el mayor valor de  $\chi^2$  destacan: *B. simaruba* y *L. campechiana* ( $\chi^2 = 42,80$ ;  $0,00 < P < 0,05$ ); *Croton reflexifolius* y *Lonchocarpus xuul* ( $\chi^2 = 25,26$ ;  $0,00 < P < 0,05$ ); y *Lonchocarpus castilloi* y *Lonchocarpus xuul* ( $\chi^2 = 22,5$ ;  $0,00 < P < 0,05$ ). En general, las asociaciones significativas entre las poblaciones de árboles dominantes fueron significativas ( $0,00 < P < 0,05$ ), mientras que el 35 % de los pares presentaron asociaciones débiles entre especies.

**Medidas de asociación entre especies.** El coeficiente de asociación interespecífica de Cole mostró que, entre las poblaciones de árboles dominantes, 11 pares (64,7 %) mostraron asociación positiva y seis pares (35,3 %) tuvieron asociaciones negativas (figura 3). *M. brownei* se relaciona con seis especies (positiva y negativa). Las asociaciones positivas ( $0,15 \leq AC \leq 1$ ) fueron *B. simaruba* con *L. campechiana*; *L. xuul* con *L. castilloi*; *M. brownei* con *C. cozumelensis* y *L. xuul* con *C. reflexifolius*. Las asociaciones negativas ( $-1 \leq AC \leq -0,15$ ) fueron *M. brownei* con *L. castilloi*; *M. brownei* con *S. mombin* y *C. cozumelensis* con *S. mombin*.

## DISCUSIÓN

La riqueza arbórea de la selva mediana subperennifolia del ejido Gustavo Díaz Ordaz (85 especies) es mayor a lo consignado por Zamora-Crescencio *et al.* (2016) y Báez-Vargas *et al.* (2017) en Campeche (con 62 y 65 especies, respectivamente), así como por Carreón-Santos y Valdez-Hernández (2014) en Quintana Roo (54 taxa), con riqueza semejante al ejido Bacalar (86 taxa) (Tadeo-Noble *et al.* 2019) pero menor a los hallazgos reportados por el mismo autor en el ejido Noh Bec (106 especies) en la parte centro del estado de Quintana Roo. Las familias (Fabaceae, Sapotaceae, Moraceae y Malvaceae) y géneros (*Lonchocarpus*, *Pouteria*, *Nectandra*, *Caesalpinia* y *Trichilia*) con la mayor riqueza, así como los taxa arbóreos más abundantes son característicos de la selva mediana subperennifolia de la Península de Yucatán (Martínez y Leal 2002, Zamora-Crescencio *et al.* 2016, Gutiérrez-Báez *et al.* 2017).



**Cuadro 2.** Índices de valor de importancia de las especies arbóreas del ejido Gustavo Díaz Ordaz.  
 Importance value indexes of tree species of the ejido Gustavo Díaz Ordaz.

Especie	Familia	D	Do	F	DR	DoR	Fr	IVIr
<i>Bursera simaruba</i> (L.) Sarg.	Burseraceae	163,84	3,88	370	11,71	19,23	6,35	12,43
<i>Croton reflexifolius</i> Kunth	Euphorbiaceae	126,93	0,74	301	9,07	3,65	5,17	5,96
<i>Metopium brownei</i> (Jacq.) Urb.	Anacardiaceae	75,41	0,97	270	5,39	4,80	4,63	4,94
<i>Licaria campechiana</i> (Standl.) Kosterm.	Lauraceae	88,18	0,56	317	6,30	2,76	5,44	4,84
<i>Lonchocarpus xuul</i> Lundell	Fabaceae	73,32	0,47	206	5,24	2,33	3,54	3,70
<i>Pouteria campechiana</i> (Kunth) Baehni	Sapotaceae	50,44	0,70	231	3,61	3,48	3,96	3,68
<i>Spondias mombin</i> L.	Anacardiaceae	30,40	0,99	143	2,17	4,88	2,45	3,17
<i>Lonchocarpus castilloi</i> Standl.	Fabaceae	27,39	1,03	136	1,96	5,08	2,33	3,13
<i>Pouteria reticulata</i> (Engl.) Eyma	Sapotaceae	45,59	0,53	201	3,26	2,65	3,45	3,12
<i>Coccoloba cozumelensis</i> Hemsl.	Polygonaceae	45,85	0,51	188	3,28	2,53	3,23	3,01
Subtotal (10)	9	727,35	10,38	—	52	51,4	40,55	47,98
Otras especies (75)	23	671,40	9,82	—	48	48,6	59,45	52,02
Total	32	1.398,75	20,20	479	100	100	100	100

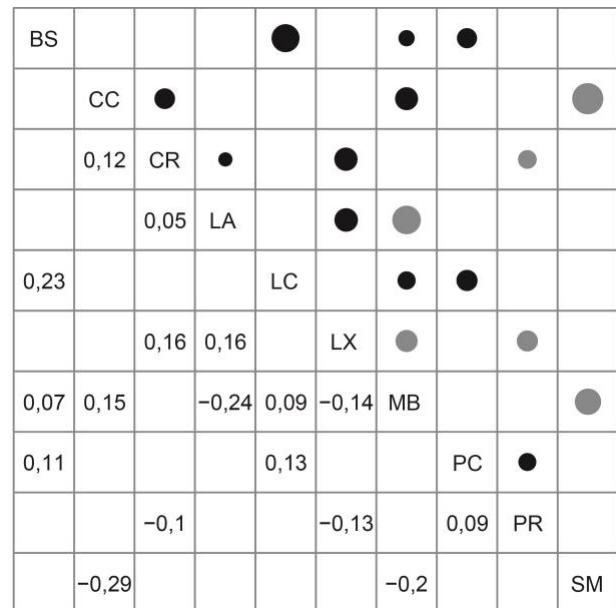
D: densidad (árboles ha<sup>-1</sup>); Do: área basal (m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>); F: frecuencia; Dr: densidad relativa (%); DoR: dominancia relativa (%); Fr: frecuencia relativa; IVIr: índice de valor de importancia relativo (%).

D: density (tree ha<sup>-1</sup>), AB: basal area (m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>), F: frequency, Dr: relative density (%), DoR: relative dominance (%), Fr: relative frequency, IVIr: average importance value index (%).

<b>BS</b>	1,29	1,55	3,19	42,80	0,12	5,64	21,01	0,12	0,58
0,26	<b>CC</b>	17,32	0,03	2,20	3,76	21,31	0,38	2,75	11,34
0,21	0,00	<b>CR</b>	5,01	0,50	25,26	2,41	0,06	4,50	3,79
0,07	0,87	0,03	<b>LA</b>	0,32	22,50	14,24	0,31	0,02	0,68
0,00	0,14	0,48	0,57	<b>LC</b>	1,78	5,64	15,50	3,56	1,21
0,73	0,05	0,00	0,00	0,18	<b>LX</b>	8,95	0,27	4,33	3,10
0,02	0,00	0,12	0,00	0,02	0,00	<b>MB</b>	1,60	0,69	10,82
0,00	0,54	0,81	0,58	0,00	0,61	0,21	<b>PC</b>	4,52	1,40
0,73	0,10	0,03	0,90	0,06	0,04	0,41	0,03	<b>PR</b>	0,21
0,44	0,00	0,05	0,41	0,27	0,08	0,00	0,24	0,65	<b>SM</b>

**Figura 2.** Semimatriz de la prueba de asociación de  $\chi^2$  entre especies de árboles dominantes en selva mediana subperennifolia de Calakmul, México. Diagonal abajo: *P*-valor. BS: *B. simaruba*, CC: *C. cozumelensis*, CR: *C. reflexifolius*, LA: *L. castilloi*, LC: *L. campechiana*, LX: *L. xuul*, MB: *M. brownei*, PC: *P. campechiana*, PR: *P. reticulata*, SM: *S. mombin*.

Semi-matrix of the  $\chi^2$ -association test between dominant tree species in the semi-ever green forest of Calakmul, Mexico. Diagonal below: *P*-value. BS: *B. simaruba*, CC: *C. cozumelensis*, CR: *C. reflexifolius*, LA: *L. castilloi*, LC: *L. campechiana*, LX: *L. xuul*, MB: *M. brownei*, PC: *P. campechiana*, PR: *P. reticulata*, SM: *S. mombin*.



**Figura 3.** Semigram de correlación del coeficiente de asociación interespecifica. Diagonal abajo: valor CAI. BS: *B. simaruba*, CC: *C. cozumelensis*, CR: *C. reflexifolius*, LA: *L. castilloi*, LC: *L. campechiana*, LX: *L. xuul*, MB: *M. brownei*, PC: *P. campechiana*, PR: *P. reticulata*, SM: *S. mombin*.

Semi-gram of correlation of the interspecific association coefficient. Diagonal below: CAI value. BS: *B. simaruba*, CC: *C. cozumelensis*, CR: *C. reflexifolius*, LA: *L. castilloi*, LC: *L. campechiana*, LX: *L. xuul*, MB: *M. brownei*, PC: *P. campechiana*, PR: *P. reticulata*, SM: *S. mombin*.

De acuerdo con Martínez y Leal (2002), la vegetación del ejido Gustavo Díaz Ordaz representa una asociación de comunidades secundarias de selva, lo que explica la dominancia estructural de aquellas especies con mayor IVI, ya que como lo señalan Tadeo-Noble *et al.* (2019) y Sánchez-Gutiérrez *et al.* (2019), este grupo de especies son consideradas pioneras tardías altamente competitivas, derivadas de procesos históricos naturales y de manejo humano que repercuten en su abundancia actual. La especie más dominante fue *B. simaruba* (IVI = 12,43 %), semejante a lo encontrado por Tadeo-Noble *et al.* (2019) en Bacalar, Q. Roo (IVI = 16,6 %), pero mayor a lo que reportan Zamora-Crescencio *et al.* (2016) en Campeche (IVI = 5,7 %) y Carreón-Santos y Valdez-Hernández (2014) en la porción centro del estado de Quintana Roo (9,83 %). Por el contrario, *Bursera simaruba*, *Metopium brownei*, *Coccoloba spicata*, *Dendropanax arboreus*, *Pseudobombax ellipticum* y *Swietenia macrophylla* son especies serales tempranas de vida larga, típicas de selvas perturbadas (Gutiérrez-Granados *et al.* 2011, Carreón y Valdez 2014, Dzib *et al.* 2014).

Contrario a la hipótesis planteada, la relación entre especies descrita mediante la  $\chi^2$  y el coeficiente de asociación interespecífico basado en el IVI presenta una alta proporción de pares con significancia ( $P < 0,05$ ), que coinciden con los estudios realizados en Hongchun Gully, China, donde se registraron asociaciones positivas en mayor proporción que las interrelaciones negativas (Huang *et al.* 2017). De acuerdo con los criterios de Su *et al.* (2015) y Chai *et al.* (2016), las asociaciones interespecíficas positivas y negativas encontradas entre las especies de la selva de Calakmul son débiles.

Los pares de especies que muestran asociaciones positivas se distribuyen dentro de una amplia sobreposición de nichos con recursos semejantes, comportamiento asociado a requerimientos ambientales similares y al desarrollo paralelo de mecanismos de coexistencia, tales como facilitación y modificación de nichos (Chai *et al.* 2016, Huang *et al.* 2017, Liu *et al.* 2017). Por el contrario, las asociaciones negativas denotan que las plantas tienen hábitats y requerimiento de recursos diferentes (Su *et al.* 2015), condición generalmente dada por condiciones específicas de micrositio y capacidad de supervivencia diferencial entre especies (preferencia específica). No obstante, no se descarta densodependencia como una expresión de la intensa competencia interespecífica, debido a que a medida que la frecuencia relativa es menor la presencia de relaciones interespecíficas se disipa en el conjunto de especies que coexisten y su presencia no está ligada a otra especie.

Si bien la función  $K_{12}(t)$  de Ripley también calcula de una forma estadísticamente robusta las asociaciones espaciales interespecíficas entre plantas (Perry *et al.* 2006, Sanjerehei y Rundel 2020), no estima ni detecta dentro de un conjunto de datos (mayor a dos organismos) a los diferentes pares de especies que mantienen interacciones positivas o negativas. Debido a ello, la novedosa propuesta que presenta este manuscrito, retomada de los planteamientos

de Cole (Cole 1949), debe ser considerada como un procedimiento previo e independiente, pero complementario, a la  $K_{12}(t)$  de Ripley, con el objeto de seleccionar con criterio numérico a los taxa que podrían ser sometidos a análisis bivariantes *a posteriori*, y describir así con mayor precisión la distribución espacial de estos. Cabe mencionar que elegir una ruta de análisis diferente, como es la selección *a priori* del conjunto de especies, podría disminuir la objetividad e incrementar el sesgo, generando con ello interpretaciones ecológicas erróneas derivadas de interacciones biológicas “forzadas” (Sanjerehei y Rundel 2020). En consecuencia, aplicar la metodología propuesta robustece los análisis de ecología espacial en especies arbóreas tropicales.

## CONCLUSIONES

La información sinecológica obtenida mediante el índice de valor de importancia ayuda a definir el tipo de asociación vegetal del área de estudio como una selva mediana subperennifolia con predominio de *B. simaruba*-*C. reflexifolius*-*M. brownei*, que prescribe una asociación interespecífica. El análisis de las relaciones entre las especies a través del coeficiente de asociación interespecífica del Cole contribuye a la explicación de los patrones de distribución espacial, precisando numéricamente la intensidad de la asociación entre especies. Por lo tanto, se propone que esta metodología debería ser empleada como una prueba previa, independiente pero complementaria, a la aplicación de la  $K_{12}(t)$  de Ripley, debido a que proporciona una base estadística para la selección “no artificial” de los taxa bajo análisis.

## AGRADECIMIENTOS

Al despacho consultor Sickingia S. C., por el apoyo en el registro de datos en campo. Al personal de campo del ejido Gustavo Díaz Ordaz, Campeche.

## REFERENCIAS

- Báez-Vargas AM, L Esparza-Olguín, E Martínez-Romero, S Ochoa-Gaona, N Ramírez-Marcial, NA González-Valdivia. 2017. Efecto del manejo sobre la diversidad de árboles en vegetación secundaria en la Reserva de la Biosfera de Calakmul, Campeche, México. *Revista de Biología Tropical* 65(1): 41-53. DOI: <https://doi.org/10.15517/rbt.v65i1.20806>
- Bray JR. 1956. A Study of Mutual Occurrence of Plant Species. *Ecology* 37(1): 21-28. DOI: <https://doi.org/10.2307/1929665>
- Carreón-Santos RJ, JI Valdez-Hernández. 2014. Estructura y diversidad arbórea de vegetación secundaria derivada de una selva mediana subperennifolia en Quintana Roo. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 20(1): 119-130. DOI: <http://dx.doi.org/10.5154/r.rchscfa.2013.06.023>
- Chai Z, C Sun, D Wang, W Liu. 2016. Interspecific associations of dominant tree populations in a virgin old-growth oak

- forest in the Qinling Mountains, China. *Botanical studies* 57(1): 23. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40529-016-0139-5>
- Cole LC. 1949. The measurement of Interspecific association. *Ecology* 30(4): 411-424. DOI: <https://doi.org/10.2307/1932444>
- Gutiérrez-Báez C, WJ Folan, L Folan, S Gallegos, P Zamora-Crescencio. 2017. Estructura y composición florística de la selva mediana subcaducifolia de Imi, Campeche, México. *Foresta Veracruzana* 19(1): 1-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.18387/polibotanica.43.3>
- Huang YY, H Han, C Tang, SJ Liu. 2017. Plant community composition and interspecific relationships among dominant species on a post-seismic landslide in Hongchun Gully, China. *Journal of Mountain Science* 14(10): 1985-1994. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11629-017-4382-3>
- Hurlbert SH. 1969. A Coefficient of Interspecific Association. *Ecology* 50(1): 1-9. DOI: <https://doi.org/10.2307/1934657>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, MX). 2017. Anuario estadístico y geográfico de Campeche 2017. Aguascalientes, México. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. 399 p.
- Janson S, J Vegelius. 1981. Measures of ecological association. *Oecologia* 49(3): 371-376. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00347601> <https://doi.org/10.1007/BF00347601>
- Jiménez-Pérez J, E Alanís-Rodríguez, Ó Aguirre-Calderón, M Pando-Moreno, M González-Tagle. 2009. Análisis sobre el efecto del uso del suelo en la diversidad estructural del matorral espinoso tamaulipeco. *Madera y Bosques* 15(3): 5-20. DOI: <https://doi.org/10.21829/myb.2009.1531183>
- Liu L, X Wang, Q Wen, Q Jia, Q Liu. 2017. Interspecific associations of plant populations in rare earth mining wasteland in southern China. *International Biodeterioration & Biodegradation* 118: 82-88. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2017.01.011>
- Lot A, F Chiang. 1986. Manual de herbario: administración y manejo de colecciones, técnicas de recolección y preparación de ejemplares botánicos. Distrito Federal, México. Consejo Nacional de la Flora de México. 142 p.
- MacKenzie DI, JD Nichols, JA Royle, KH Pollock, L Bailey, JE Hines. 2017. Occupancy estimation and modeling: inferring patterns and dynamics of species occurrence. Londres, Reino Unido. Elsevier. 648 p.
- Martínez E, CG Leal. 2002. La vegetación de Calakmul, Campeche, México: clasificación, descripción y distribución. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 71: 7-32. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsoci.1660>
- Miranda FP, E Hernández-Xolocotzi. 2014. Los tipos de vegetación de México y su clasificación. Edición conmemorativa 1963-2013/Faustino Miranda y Efraím Hernández-X. México DF, México. FCE, CONABIO, SBM. 214 p.
- Perry GL, BP Miller, NJ Enright. 2006. A comparison of methods for the statistical analysis of spatial point patterns in plant ecology. *Plant Ecology* 187(1): 59-82. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11258-006-9133-4>
- Rodríguez-Salazar ME. 2000. Coeficientes de asociación. Madrid, España. Plaza y Valdes. 168 p.
- Rzedowski J. 2006. Vegetación de México. México DF, México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. 504 p.
- Sanjerehei MM, PW Rundel. 2020. A comparison of methods for detecting association between plant species. *Ecological Informatics* 55(101034): 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2019.101034>
- Shaukat SS, F Hussain, H Zafar, TA Rao, K Mahmood, A Raza. 2014. Species composition, spatial heterogeneity, interspecific association and diversity of an early successional plant community: A comparison of some species association indices. *International Journal of Biology Biotechnology* 11(4): 677-691.
- Su SJ, JF Liu, ZS He, SQ Zheng, W Hong, DW Xu. 2015. Ecological species groups and interspecific association of dominant tree species in Daiyun Mountain National Nature Reserve. *Journal of Mountain Science* 12(3): 637-646. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11629-013-2935-7>
- Tadeo-Noble AE, JI Valdez-Hernández, L Beltrán-Rodríguez, E García-Moya. 2019. Efecto del aprovechamiento forestal sobre la estructura y diversidad arbórea en selvas tropicales de Quintana Roo, México. *Bosque* 40(2): 129-140. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002019000200129>
- Whittaker R. 1975. Communities and Ecosystems. New York, EUA. Macmillan Publishing. 162 p.
- Zamora-Crescencio P, C Gutiérrez-Báez, P Villegas, MR Domínguez-Carrasco, RC Barrientos-Medina. 2016. Composición y estructura del componente arbóreo de la vegetación secundaria en Campeche, México. *Foresta Veracruzana* 18(1): 17-24.

Recibido: 21/04/20  
Aceptado: 08/06/20





## Fertilization in *Butia odorata* seedlings formation

### Fertilización en la formación de plantas de *Butia odorata*

Claudimar Sidnei Fior <sup>a</sup>, Luciana Pinto Paim <sup>a</sup>, Monique Caumo <sup>a</sup>,  
Luciano da Silva Alves <sup>a\*</sup>, Sérgio Francisco Schwarz <sup>a</sup>

\*Corresponding author: <sup>a</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Agronomia,  
Departamento de Horticultura e Silvicultura, Avenida Bento Gonçalves, 7712,  
Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil, tel.: +55 051 984651583, luciano.alves@ufrgs.br

#### SUMMARY

*Butia odorata* is an endangered palm tree native of southern Brazil and Uruguay with great food and ornamental potential. The lack of phytotechnical information hinders the commercial production of their seedlings. The aim of this work was to test doses of fertilization on the formation of *B. odorata* seedlings and tolerance to salinity levels in the substrate. The seedlings were cultivated in containers, submitted to control and four doses of fertilizer per liter of substrate. We evaluated stem diameter, number of leaves and pinnate leaves, electrical conductivity (EC) and pH of the substrate. The experimental design was in random blocks with 10 plants per treatment. Dry density, air space, and total pore space of the substrate were within the ideal ranges, such as EC and pH, without a significant trend for these last two variables in relation to the doses of fertilizers. Throughout the experiment, the pH remained adequate, except for higher dosage treatments that acidified the substrate. EC increased gradually, except for control treatment. There was a significant difference between treatments and blocks for plant variables, with the second access plants presenting larger stem diameter. The dosages that induced higher responses were 0.6 and 1.2 g L<sup>-1</sup> with EC corresponding to 5 mS cm<sup>-1</sup>, which is possibly the limit of salts in the substrate tolerated by the species. *B. odorata* responded positively to the fertilization during the formation of the seedlings. However, until the juvenile phase, its development is impaired if EC reaches 5 mS cm<sup>-1</sup>.

*Key words:* Arecaceae, native species, propagation.

#### RESUMEN

*Butia odorata* es una palmera en peligro de extinción originaria del sur de Brasil y Uruguay con gran potencial alimenticio y ornamental. La falta de información fitotécnica dificulta la producción comercial de sus plantas. El objetivo de este trabajo fue evaluar fertilización en la formación de plantas de *B. odorata* y su tolerancia a la salinidad del sustrato. Las plantas se cultivaron en contenedores, sometidas a control y cinco dosis de fertilizante. Fueron evaluados: diámetro del tallo, número de hojas y hojas pinnadas, conductividad eléctrica (EC) y pH del sustrato. El diseño experimental fue en bloques aleatorizado con 10 plantas por tratamiento. La densidad aparente, el espacio de aire y el volumen total de poros del sustrato estuvieron dentro de rangos ideales; también la EC y el pH, sin tendencia significativa para estas dos últimas variables en relación con las dosis de fertilizantes. El pH se mantuvo adecuado, excepto con dosis más altas que acidificaron el sustrato. La EC aumentó gradualmente, excepto para el tratamiento de control. Hubo diferencia significativa entre tratamientos y bloques para las variables de la planta. Las dosis que indujeron respuestas mayores fueron 0,6 y 1,2 g L<sup>-1</sup> con EC de 5 mS cm<sup>-1</sup>, que es posiblemente el límite de sales en el sustrato tolerado por la especie. *Butia odorata* respondió positivamente a la fertilización durante la formación de las plantas. Sin embargo, hasta la fase juvenil, su desarrollo se vio afectado cuando la EC alcanzó 5 mS cm<sup>-1</sup>.

*Palabras clave:* Arecaceae, especies nativas, propagación.

#### INTRODUCTION

*Butia odorata* (Barb. Rodr.) Noblick, commonly known as “butiazeiro”, is a species of the Arecaceae family, native from Uruguay and southern Brazil, where it occurs only in Rio Grande do Sul State (Soares *et al.* 2014). Besides these sites, the genus *Butia* occurs in Argentina and Paraguay, where it grows in different types of environments, such as grassland formations and Restinga vegetation and is asso-

ciated with areas under full sun or little shade (Geymonat and Rocha 2009, Lorenzi *et al.* 2010).

The species *B. odorata* is a palm tree of 2 to 8 m of height, with pistil flowers and elliptical fruits (Deble *et al.* 2011) widely used in food, mainly in the production of sweets, ice cream and beverages (Büttow *et al.* 2009, Barbieri *et al.* 2014). Besides, the species can be used for recovery and restoration of degraded areas, for filling and enriching diversity since it is attractive to seed dispersers,

and classified as heliophile, which allows its use without the need for shading. Similarly, the species can be used in landscaping due to its beauty and in the manufacture of handmade products from its leaves and pyrenes. The natural occurrence of the genus *Butia* is associated with environments possessing high diversity of fauna and flora, called 'butiazais' or 'palmares', where the individuals are distributed in aggregate populations (Marcato 2004, Paim and Paim 2016, Marchi *et al.* 2018). It is also worth mentioning the tolerance of these species to low temperatures, where *B. odorata* is a typical example, since its distribution limit reaches the austral zone, in other words, in regions of subtropical climate through the Pampa biome (Schlindwein 2012).

However, despite the social, economic and biological importance, all species of the genus *Butia* that occur in Rio Grande do Sul State are threatened (Rio Grande do Sul 2014), mainly due to the advance of agricultural frontiers, urbanization, forestry monocultures and livestock farming (Barbieri *et al.* 2015). Although livestock production is considered a vocation of Pampa biome, the activity hinders the process of natural regeneration and, consequently, the renewal of the butiazais, since its dissemination occurs only through seeds for this species and the new seedlings are subject to trampling and consumption by the animals (Geymonat and Rocha 2009, Rivas and Barbieri 2014).

According to Geymonat and Rocha (2009), the commercial production of seedlings of *B. odorata* is hampered by slow and uneven germination. Likewise, the information available on the formation of seedlings of the species is scarce and incomplete, including some considerations about cultivation in containers using substrate with good drainage, medium fertility and neutral pH. Therefore, this study tests the hypothesis that the development and improvement of methods related to the conditions of *B. odorata* seedling formation can satisfy the demand for quality seedlings. The aim of this work is to test doses of fertilization on the formation of *B. odorata* seedlings and the tolerance of plants to salinity levels in the substrate.

## METHODS

The present work was developed with seedlings obtained from seeds of mature fruits of *B. odorata*, collected *in situ* in two sites (accesses): the first in Encruzilhada do Sul/RS (ten parent plants) and the second in Santa Vitória do Palmar/RS (five parent plants). After collection, the fruits were transferred to the Biotechnology Laboratory of the Department of Horticulture and Forestry of the Federal University of Rio Grande do Sul, in Porto Alegre/RS and pulped by manual friction in metallic sieves with a 5-mm mesh under running water. The pyrenes (endocarps of seeds) were dried on filter paper in the laboratory (~ 25 °C) for 10 days. The seeds were isolated by breaking the pyrenes in a lathe.

The experiment was conducted from August 2010 to September 2011 in a greenhouse with a transparent-fiber

roof (at the beginning, 70 % and after 50 % of light interception), ceiling height of 3.5 m, with no walls on the east and north. Inside the greenhouse, during the 426 days of the experiment, mean weekly temperatures ranged from 9.5 °C at the end of June to 28.7 °C at the end of January. Absolute temperatures ranged from 3 °C in early July to 42 °C in early January.

*Initial seedling development.* The seedlings were obtained from sowing in a tray with a substrate composed of medium sand and crushed coconut fiber (1:2, v/v) and kept in a greenhouse with 70 % light interception for 50 days. Subsequently, the seedlings were transferred to individual packages of black polyethylene with 1.15 L of substrate composed by carbonized rice husk (CRH) and pine bark (PB) in the ratio of 1:1 (v/v) plus 3 g L<sup>-1</sup> of Osmocote®, a slow-release fertilizer (NPK 19-6-10, no micronutrients). An aliquot of each substrate composition was analyzed in the Laboratory of Substrates of the Faculty of Agronomy of UFRGS, to obtain physicochemical characteristics (table 1).

After 90 days, the plants were transferred to a greenhouse with better illumination (50 % light interception). Every 15 days, the seedlings received top dressing fertilization with a nutrient solution of 2 g L<sup>-1</sup> (formula - N: 10.5, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 6, K<sub>2</sub>O:10.7, S: 4.6, Ca: 3.8 and Mg: 3.2; Ca:Mg ratio of 1.2 and NH<sub>4</sub>:NO<sub>3</sub> ratio of 2.6) in 100 mL of solution for each plant. After 160 days, the plants were removed from the substrate and evaluated for height (cm), stem diameter (cm) and number of leaves.

*Fertilizer application in seedlings.* After the measurement, the seedlings were established in polyethylene packages with capacity of 8 L (23 x 22 cm: height, diameter) containing PB substrate sieved in a 10-mm mesh. The treatments consisted of: 1 - control (without fertilization), 2 - fertilization with 0.6 g L<sup>-1</sup> of salts, 3 - fertilization with 1.2 g L<sup>-1</sup> of salts, 4 - fertilization with 2.4 g L<sup>-1</sup> of salts and 5 - fertilization with 3.6 g L<sup>-1</sup> of salts. The first fertilization was applied at 25 days after installing the experiment and, subsequently, every 30 days in months with average temperature above 18 °C. In the period when temperature was 18 °C or less, the frequency of application decreased from 30 to 60 days (Broschat 2000). For all treatments, the relation of elements of the fertilization was N: 3, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>: 1, K<sub>2</sub>O: 2, S: 2.7, Ca: 2, Mg: 1, NH<sub>4</sub>:NO<sub>3</sub> (ratio 1:1). The fertilizer formulation was constituted with the salts: potassium chloride, calcium nitrate, magnesium sulfate, monoammonium phosphate, ammonium sulfate and urea.

The need for irrigation was verified through tensiometers (ceramic porous capsule connected to a graduated analog vacuum-gauge) inserted into the substrate at about 15 cm, one per treatment. The plants were manually irrigated with 150 to 200 mL of water per plant, applied when the negative pressure reached an average of 100 hPa in the tensiometers. The space between vases was 10 cm (32 cm between plants) and after five months, it increased to 25 cm,

**Table 1.** Analysis of the physicochemical properties of the substrates.  
 Análisis de las propiedades fisicoquímicas de los sustratos.

Determination	Carbonized rice husk + pine bark (1:1, v/v)	Pine bark
Humid density (kg m <sup>-3</sup> )	487	722
Dry density (kg m <sup>-3</sup> )	222	307
Dry matter (g 100 <sup>-1</sup> )	46	42
pH (H <sub>2</sub> O), 1:5 (v/v) water extract	6.69	6.21
Electrical conductivity (mS cm <sup>-1</sup> ), 1:5 (v/v) water extract	0.89	0.11
Total pore space (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0.84	0.85
Air space (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0.47	0.32
Easily available water (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0.10	0.08
Buffering capacity water (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0.02	0.02
Available water (m <sup>3</sup> m <sup>-3</sup> )	0.12	0.11

arranged on bricks about 20 cm from the ground, which was covered with 25 cm of coarse gravel.

*Assessments.* During the experiment, the electrical conductivity and pH of the substrate were evaluated every 30 days using the PourThru method (Cavins *et al.* 2000). After the sixth evaluation, monitoring occurred in the periods of 1, 10, 20 and 30 days after the fertilizer application, using two containers randomly chosen for each treatment. The measurements of the plants, such as stem diameter (cm), the total number of leaves and number of pinnate leaves were analyzed every 30 days.

Along with the development of seedlings, the symptoms of nutritional disorders and the occurrence of pests were monitored, and in the latter case, collected and identified when observed on the plants. Nutritional disorders were assessed using an increasing visual scale ranging from one to three, depending on the intensity of the symptoms on the leaves. Number one was assigned to plants with no symptoms or mild symptoms, in other words, the youngest leaf with initial chlorosis; two for plants with a higher number of young chlorotic leaves and three for plants with young leaves totally yellow and, in some cases, necrotic edges.

The pests or part of the attacked plant were collected and sent to the Department of Plant Health of the Faculty of Agronomy of UFRGS and State Agricultural Research Foundation for analysis. For pest mitigation in the spring/summer, mineral oil (1.5 %) and *Bacillus thuringiensis* (Dipel®) (3 g L<sup>-1</sup>) were applied every 30 days, and in January, two doses of acephate at 1 g L<sup>-1</sup> (Orthene® 750 BR).

*Statistical analyses.* The experimental design was in random blocks, in which the blocking factor was the origin of the seedlings. Each plot consisted of ten plants: the block 1

corresponded to plants from seeds of Santa Vitória do Palmar and the block 2 of seeds collected in Encruzilhada do Sul, totaling 100 plants. Variables underwent the normality test of Kolmogorov-Smirnov and homoscedasticity test of Levene, and when one of these two requirements were not fulfilled, the data were transformed according to the variable and subsequently submitted to normality and homoscedasticity tests again.

## RESULTS

According to table 1, the physicochemical analysis of the pine bark substrate showed similar values to those referred to as ideal in literature. Electrical conductivity, throughout all the period, presented a very distinct range among treatments. However, in the evaluations of the period corresponding to the 6th and 7th fertilization (218 and 242 days), there was little variation. The regression analysis did not indicate a significant trend for these two variables related to the fertilizer doses applied. The electrical conductivity of the control treatment ranged from 0.2 to 0.25 mS cm<sup>-1</sup>, while the others had distribution compatible with the fertilizer dose concentration, on average 2.45 mS cm<sup>-1</sup> for the dose with 0.6 g L<sup>-1</sup>, 5.6 mS cm<sup>-1</sup> for 1.2 g L<sup>-1</sup>, 9.3 mS cm<sup>-1</sup> for 2.4 g L<sup>-1</sup> and 12.4 mS cm<sup>-1</sup> for 3.6 g L<sup>-1</sup>, respectively. Therefore, the electrical conductivity of the substrate remained constant, even at the lowest concentrations.

A similar variation was observed for pH, which was also different in relation to fertilizer concentrations. In the control treatment, pH ranged between 6.2 and 6.4, which corresponds to an index close to the value found at the beginning of the experiment. The higher the concentration of the fertilizer dose, the more acid became the substrate.

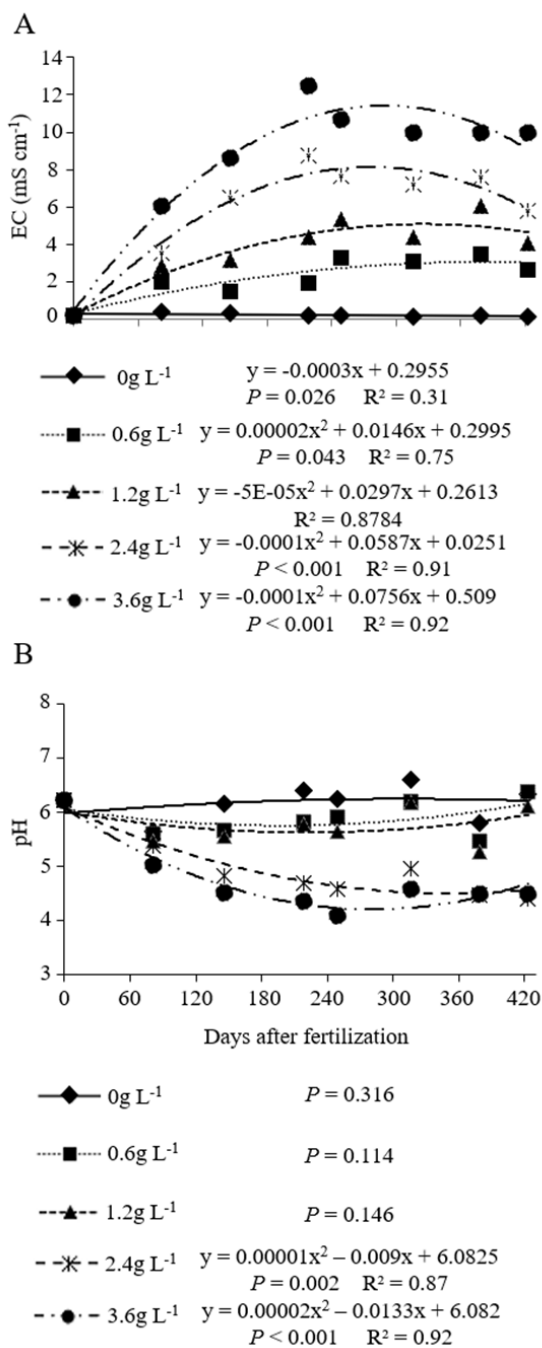
There was a gradual electrical conductivity increase in the substrate of all treatments since the beginning of fertilizer applications, except for the control treatment. From 218 days after the start of the experiment (after sixth fertilization), there was a decrease in electrical conductivity of substrate treatments corresponding to 2.4 and 3.6 g L<sup>-1</sup> while in the others, maximum electrical conductivity was after 316 days.

The pH of the treatments with lower dosages (0.6 e 1.2 g L<sup>-1</sup>), besides control treatment, ranged from 5.3 and 6.6 throughout the experiment. There was no significant trend of pH change due to fertilization in these treatments. However, this effect did not occur in other treatments, since the regression analysis indicated a quadratic trend with variation similar to that observed for electrical conductivity variable, although inversely proportional. In other words, while electrical conductivity increased, pH decreased (figure 1).

The statistical analysis showed a significant difference in the five concentrations of fertilizers for all variables related to plant development (total number of leaves, stem diameter and number of pinnate leaves). Between blocks, there was a difference only for the stem diameter (table 2). Thus, it is evident that plants responded differently according to fertilizer doses and that the genotypic effect influenced the performance of seedlings in terms of stem diameter, so that the seedlings originated from seeds collected in Santa Vitória do Palmar (block 1) presented a larger diameter when compared to those of Encruzilhada do Sul (block 2).

The regression analysis showed a decreasing linear trend for the number of leaves, indicating that high doses of fertilizer inhibit the emission of leaves (figure 2). Among the averages of treatments, the maximum number

of leaves per plant was 13.3, while the minimum was 11. For the variables stem diameter and number of pinnate leaves, the regression analysis indicated a significant negative quadratic trend with the points of maximum response in



**Table 2.** Analysis of variance of the final development of *Butia odorata* seedlings from two accesses submitted to the five concentrations of fertilizers, at 426 days after the installation of the experiment.

Análisis de la varianza del desarrollo final de las plantas de *Butia odorata* de dos accesiones sometidas a las cinco concentraciones de fertilizantes, a los 426 días después de la instalación del experimento.

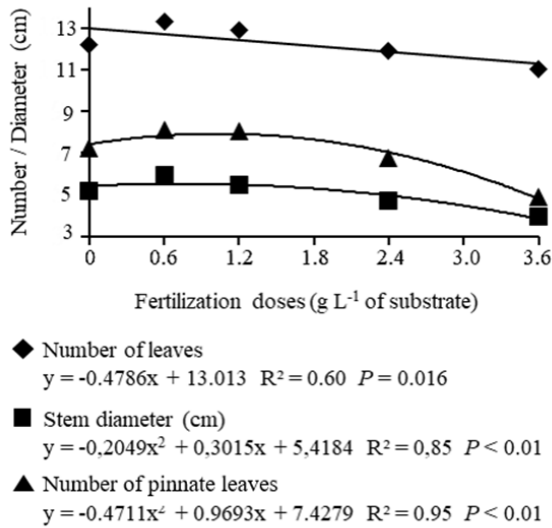
	Total number of leaves	Stem diameter (cm)	Number of pinnate leaves
Treatments	$P = 0.02$	$P < 0.01$	$P < 0.01$
Blocks	$P = 0.37$	$P < 0.01$	$P = 0.09$
Overall average	12.42	5.37	7.24
Standard deviation	1.6	0.75	1.41
CV (%)	12.24	11.37	17.71

TNL = número total de hojas; SD = diámetro del tallo; NPL = número de hojas pinnadas.

**Figure 1.** pH (A) and electric conductivity (EC) (B) of the pine bark (PB) substrate with seedlings of *Butia odorata*, submitted to five concentrations of fertilizers (0, 0.6, 1.2, 2.4 and 3.6 g L<sup>-1</sup>) for 426 days in greenhouse.

pH (A) y conductividad eléctrica (EC) (B) del sustrato de corteza de pino (PB) con plantas de *Butia odorata*, sometidas a cinco concentraciones de fertilizantes (0, 0,6; 1,2; 2,4 y 3,6 g L<sup>-1</sup>) durante 426 días en invernadero.





**Figure 2.** Number of leaves, stem diameter, and number of pinnate leaves in *Butia odorata* seedlings, submitted to five concentrations of fertilizers (0, 0.6, 1.2, 2.4 and 3.6 g L<sup>-1</sup>) during 426 days.

Número de hojas, diámetro del tallo y número de hojas pinnadas en plantas de *Butia odorata* fertilizadas, sometidas a cinco concentraciones de fertilizantes (0; 0,6; 1,2; 2,4 y 3,6 g L<sup>-1</sup>) durante 426 días.

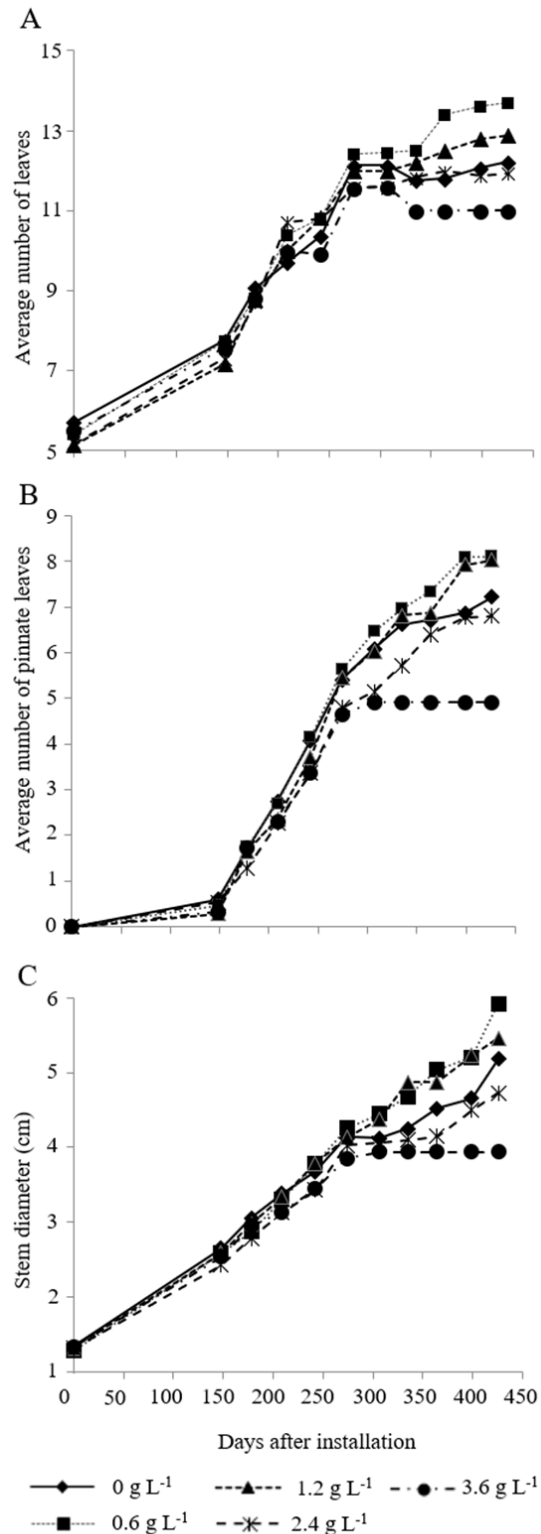
0.74 and 1.1 g L<sup>-1</sup> for stem diameter and number of pinnate leaves, respectively (figure 2).

The dosages that induced higher responses in the analyzed variables were 0.6 and 1.2 g L<sup>-1</sup>. Thus, the electric conductivity from the leachate of these treatments gradually increased from the beginning of applications to about 10 months, when it had stabilized and declined, possibly due to the decrease in the frequency of fertilization. However, according to the regression equation, the maximum electric conductivity of these treatments was 5 mS cm<sup>-1</sup> in the concentration of 1.2 g L<sup>-1</sup>.

As for the number of photosynthetically active leaves per plant, there was a continuous increase up to about 270 days. From this period, the number of leaves remained relatively stable, with a slight increase from 360 days after the installation of the experiment (figure 3A).

The emission of the first pinnate leaves occurred at 120 days from the beginning of the transplant (about 440 days from the germination). At 148 days, 28 % of the plants emitted at least one pinnate leaf, with no statistical difference among treatments (Kruskal-Wallis,  $P = 0.662$ ) and at 178, 209 and 242 days, 74, 86 and 97 %, respectively. The emission of pinnate leaves in at least 50 % of the plants occurred approximately 480 days (about 16 months), considering that in the installation of the experiment the seedlings had 322 days from germination.

The evolution of the stem diameter in the treatments with the two lower doses of fertilizers was practically continuous, even with reduced temperatures and photoperiod (figure 3C). The evolution of this variable was very similar



**Figure 3.** Average number of leaves (A), average number of pinnate leaves (B) and stem diameter (C) in *Butia odorata* seedlings, submitted to five concentrations of fertilizers (0, 0.6, 1.2, 2.4 and 3.6 g L<sup>-1</sup>) during 426 days.

Número promedio de hojas (A), número promedio de hojas pinnadas (B) y diámetro del tallo (C) en plantas de *Butia odorata*, sometidas a cinco concentraciones de fertilizantes (0; 0,6; 1,2; 2,4 y 3,6 g L<sup>-1</sup>) durante 426 días.



in the second stage of the experiment with the initial development of seedlings.

*Nutritional disorders and occurrence of pests.* Symptoms observed as a result of nutritional disorders have been monitored since leaf emission, nonetheless they were found only from the evaluation 242 days after the beginning of fertilization, through the visualization of young chlorotic leaves. In this evaluation, 100 % plants fertilized with 3.6 g L<sup>-1</sup> showed symptoms, while in the treatment with the second highest dose (2.4 g L<sup>-1</sup>), the percentage was 85 %. In the latter case, the percentage of plants with symptoms varied according to the period, with a reduction in the intensity of symptoms, which coincided with the months of lower temperature and photoperiods. The increase in symptom intensity was restarted from the end of winter, reaching 100 % of plants in early spring.

In the other treatments, the maximum percentage of plants with symptoms occurred among unfertilized plants (control), reaching 40 %, also in late spring. The lowest percentage of symptomatic plants was observed in the treatment with the dosage of 0.6 g L<sup>-1</sup>, which varied from 0 to 10 %, during the entire period of the experiment.

In most cases, the evolution of symptoms occurred from the tissues of the younger leaves to the older leaves, both during treatments and during the evaluation period in the same treatment. A slight partial bleaching was observed in the younger leaf, which could evolve to the other areas, while other leaves presented large portions or the entire leaf area with pale yellow pigmentation. In severe cases, the leaves are uniformly yellow, while some have necrotic edges (figure 4). In some plants, depending on the fertilizer concentration, the symptoms started in the older leaves.

In the control treatment and in the two lowest doses (0.6 and 1.2 g L<sup>-1</sup>), the intensity of symptoms was low. The mean score of symptoms between treatments was “1”, evidenced by the higher percentage of plants with better visual appearance when submitted to fertilization (figure 4A) compared to the control (figure 4B). In the second highest dose (2.4 g L<sup>-1</sup>), most plants received a score of “2” on the intensity scale (figure 4C, D).

The intensity of the symptoms was higher in the treatment with higher doses of fertilizer (3.6 g L<sup>-1</sup> of salts), in which 100 % of the plants reached the maximum scale (number 3) about 330 days after the beginning



**Figure 4.** Evolution of the intensity of the symptoms of nutritional disorder in *Butia odorata* seedlings. A-B: scale 1 (absence of symptoms at mild intensity), C-D: scale 2 (medium intensity), E-F: scale 3 (high intensity).

Evolución de la intensidad de los síntomas del trastorno nutricional en plantas de *Butia odorata*. A-B: escala 1 (ausencia de síntomas a intensidad leve); C-D: escala 2 (intensidad media); E-F: escala 3 (alta intensidad).

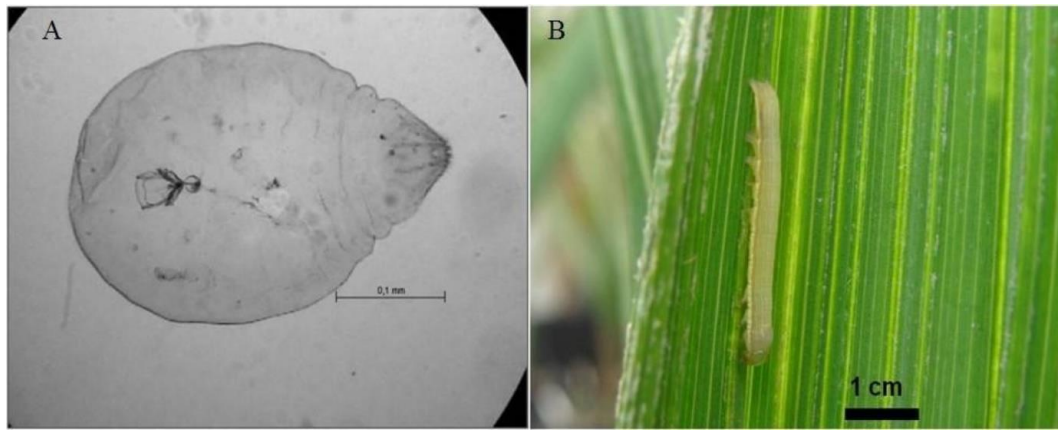
of fertilization. In this condition, in addition to a higher number of young leaves uniformly yellowed, leaves with necrotic edges were observed, although the older leaves remained dark green and without symptoms of nutritional disorders (figure 4E, F). Still, three plants of this treatment died, showing the species intolerance to this level of salinity.

The pest attack started in the spring when the appearance of scale insects of the species *Abgrallaspis cyanophylli* (Signoret, 1869) (figure 5A) and black aphid (Aphididae) were observed, regardless of the fertilizer treatment. In the same period, caterpillars were found feeding on pri-

mary leaves and, for their control, the application of *Bacillus thuringiensis* Berliner was efficient (figure 5B).

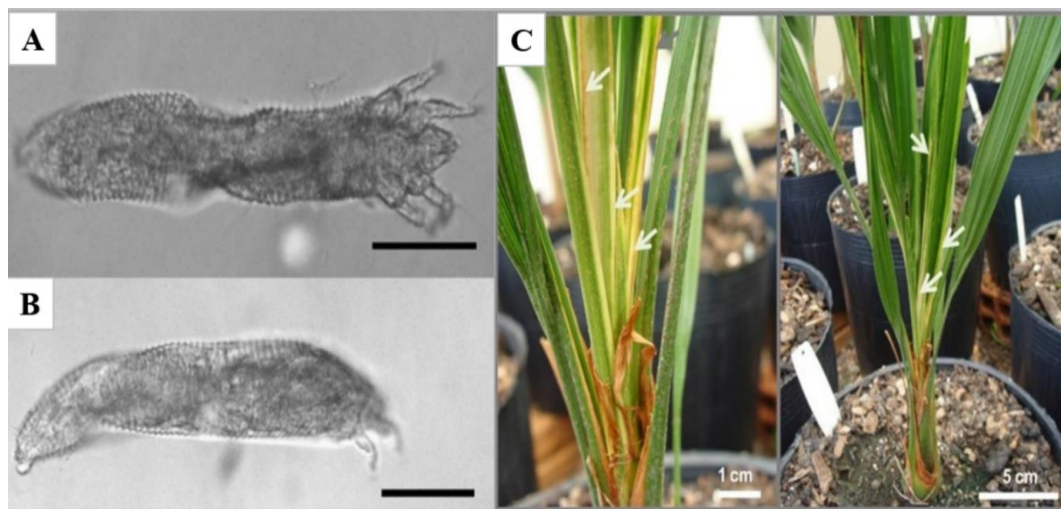
Eventually, symptoms and signs of thrips (Thysanoptera, Phlaeothripidae) were observed, which is characterized by semicircular whitish points in the limbus of primary leaves.

During the summer, mites (Eriophyidae) (figure 6A and B) caused symptoms in newly emitted leaves, similar to foliar stains caused by nutritional disorders (figure 6C). The mites attacked the bases of new leaves, mainly in the region near the point of growth.



**Figure 5.** \*Scale insect *Abgrallaspis cyanophylli* (A) and caterpillars on primary leaves (B) of *Butia odorata* seedlings. \*Collection and processing: Gabriela Chesim de Souza; Identification: Dr. Vera Wolff.

\*Escala de insectos *Abgrallaspis cyanophylli* (A) y orugas en las hojas primarias (B) de las plantas de *Butia odorata*. \*Recolección y procesamiento: Gabriela Chesim de Souza; Identificación: Dra. Vera Wolff.



**Figure 6.** Illustration of the mite (Eriophyidae). A: ventral view, B: side view. Scales bars: 50 µm. Symptom of attack of Eriophyidae in *Butia odorata* seedlings (C). Identification and image: Dr. Ana Paula Ott.

Ilustración del ácaro (Eriophyidae). A: vista ventral e B: vista lateral. Barras de escalas: 50 µm. Síntoma de ataque de Eriophyidae en plantas de *Butia odorata* (C). Identificación e imagen: Dra. Ana Paula Ott.



## DISCUSSION

In this study, the seedlings of *B. odorata* were conditioned in a place with climate and photoperiod conditions similar to those of natural occurrence of the species. Regarding fertilization, no studies with the species were found. In addition, the works available with fertilization of other species of the genus *Butia* are scarce. However, there are reports of positive effects of fertilizer additions on the formation of seedlings in species of other genera of the Arecaceae family. Teixeira *et al.* (2009) evaluated the growth of seedlings from pre-emerged seeds of the palm *Elaeis guineensis* Jacq. on a commercial substrate without fertilization and with addition of 3 kg m<sup>3</sup> of two different slow-release fertilizers for three months. According to these authors, the addition of fertilizers to the substrate was a determining factor in this phase, interfering significantly in all analyzed variables and fundamental for the final formation of seedlings.

As for the substrate, the dry density is within the appropriate ranges (300 a 500 kg m<sup>3</sup>, Kämpf 2005), as well the air space (20-30 %) and the total pore space (85 %) (De Boodt and Verdonck 1972). However, the range of available water is out of the referred as ideal for most species, which is 30 % (De Boodt and Verdonck 1972). Therefore, tensiometers were used to intensify the monitoring of the water availability in the substrate, to avoid water deficiency in the plants. Initially, as indicated by tensiometers, the irrigation periodicity was weekly or every five days. Subsequently, the irrigations were more constant (every two days), and at the end of the experiment, they were daily.

The variation in electric conductivity and substrate pH occurred during the sixth and seventh fertilizer application (February), and can be explained as a consequence of the increased irrigation frequency due to the higher evaporative demand in this period, mainly due to high temperature, which may have contributed to the leaching of part of the salts.

The time difference for the electric conductivity change, associated with the quadratic tendency of the regression of all treatments, suggests that while applications were every 30 days, accumulation and saturation were gradual, which occurred earlier in the higher dosage treatments. With fertilization applied in a larger range, there was partial leaching and consequent drop in electric conductivity.

The decrease in electric conductivity observed in the higher dose treatments (2.4 and 3.6 g L<sup>-1</sup>) occurred after the sixth fertilization and can be explained by the reduction in the frequency of applications since the interval increased from 30 to 60 days. This fact was also observed in other treatments after the increase in the application interval, in other words, decreasing its frequency.

The pH variation of the lower dosage treatments (0.6 and 1.2 g L<sup>-1</sup>) was very similar, suggesting a substrate buffering effect for these fertilizer doses. Except for treatments with the highest dosages (2.4 and 3.6 g L<sup>-1</sup>),

the pH remained in a range considered suitable for most substrate crops. According to Handreck and Black (2010), in general, the pH of the substrate for crops needs to be between 5.5 and 6.3 for palm trees grown in containers. For the availability of all nutrients, Bataglia and Furlani (2010) recommend pH between 5 and 6.

According to plant development results, it can be inferred that 5 mS cm<sup>-1</sup> is the maximum electric conductivity tolerated by the species, once under higher salinity levels, a decreased growth intensity may occur. The higher responses in the analyzed variables indicate that the tolerance to salinity in the substrate aiming at superior seedling development, *B. odorata* is within the electric conductivity range considered adequate for most species. According to Cavins *et al.* (2000), this range is between 2.6 and 4.5 mS cm<sup>-1</sup>, determined by the PourThru method. According to the same authors, the electric conductivity above 4.6 mS cm<sup>-1</sup> is high and decreases the vigor and growth rate of most species.

As reported by Kämpf (2000), regarding salt sensitivity, plants are divided among very sensitive, whose fertilization cannot exceed 1 g of salts per liter of substrate; tolerant plants, whose acceptable range is 1 to 2 g L<sup>-1</sup>; and demanding plants, whose fertilization is about 3 g L<sup>-1</sup>. Based on this classification, the results of this study reveal that *B. odorata* is between the sensitive and tolerant plants since the best response range for the stem diameter and the number of pinnate leaves was 0.74 and 1.1 g L<sup>-1</sup>, respectively.

Geymonat and Rocha (2009) describe *B. odorata* as a species tolerant to salinity and resistant to coastal environment conditions, used for ornamental purposes in this type of environment in several parts of the world. Richards (1954) reported that saline soils analyzed by the "saturated pulp" method presented electric conductivity above 4 mmho cm<sup>-1</sup> (1 mmho.cm<sup>-1</sup> = 1 mS cm<sup>-1</sup>), corresponding to 5.22 mS cm<sup>-1</sup> when determined by the PourThru method (Cavins *et al.* 2000). Therefore, the soil may be considered saline when electric conductivity is higher than 5.22 mS cm<sup>-1</sup> determined by the PourThru method, which is above the maximum limit that the *B. odorata* seedlings supported without interference in the development. Thus, to cultivate the species aiming at the maximum development, saline conditions should be avoided at least until the juvenile stage.

The emission of the first pinnate leaves occurred one year and three months after seed germination under the conditions of seedling production, in a greenhouse without automatic control of temperature and humidity, with 50 % shading and with irrigation management and fertilizers. The stabilization of the total number of leaves per plant after 270 days probably occurred due to the beginning of the emission of pinnate leaves, which are larger and, consequently, may require more energy from the plant for its formation. Besides, environmental conditions were unfavorable for photosynthesis during this period.

For seedlings of *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman., a palm tree species, 480 days were required for 50 % of the plants to emit pinnate leaves in the greenhouse, which can be considered the time to reach the “Juvenile 2” phase (Bernacci *et al.* 2008). However, for *B. odorata*, it was not possible to clearly distinguish the “Juvenile 1” phase, which, according to these authors, is characterized by the presence of thicker young eophiles before the emission of pinnate leaves (figure 3B). The average increase in the number of pinnate leaves per plant was practically continuous and uniform from the beginning of the emission until the middle of March. From this period, it was less intense, possibly due to the decrease in temperature and photoperiods.

The behavior of stem diameter evolution observed in the treatments with the lowest dosages seems to be a characteristic of the species, whose leaf emission intensity decreases when environmental conditions are less favorable, although the development in stem thickness remains. This is an interesting information to investigate because it seems that during the favorable period for photosynthesis, photoassimilates are destined to several demands of the vegetal development, while in the short period of low temperatures, the priority development is the increase in stem thickness.

*Nutritional disorders and occurrence of pests.* The maximum percentage of plants with symptoms among the unfertilized plants can be explained by insufficient nutrients provided by the substrate, triggering the onset of symptoms in late spring. On the other hand, in fertilized plants, the appearance of symptoms suggests that the range of 4 to 5 mS cm<sup>-1</sup> represents the electric conductivity limit tolerated by the species without decreasing the growth rate, confirming the results on plant development.

The average symptom scale “2” observed at the second highest dose indicates that this level of salinity, although high, does not cause serious damage to plants. As reported on the percentage of plants with symptoms, reduction in intensity was also observed during the winter, the period in which, besides the difference in climatic variables and decrease in evaporative demand, there was a reduction in the frequency of application of fertilizer doses.

According to Bataglia and Furlani (2010), the symptoms of nutritional disturbance observed in young leaves of palm trees may be associated with deficiency of calcium, sulfur, boron, iron, manganese, zinc and copper. Thus, for these authors, changes in palm development due to nutritional disorders may also be associated with excess nutrients. This information corroborates the data of the present work. Broschat (2009) reports that the leaching and insolubility of nutrients in containers are not very problematic, due to the retention resulting from the acidic pH of substrates. However, organic substrates limit nitrogen levels, which is considered by this author the most important nutritional problem in the production of palm trees in

containers. However, in this case, the symptoms occur in older leaves, reaching younger ones progressively.

For Bataglia and Furlani (2010), the uniformly yellowish coloration of young palm leaves is a symptom of sulfur deficiency. Considering that the symptoms observed in the plants of this study closely resemble this description, it can be inferred that despite the application of sulfur as part of the fertilization, possibly the excess of salinity, promoted the absorption in superior proportion of some elements to the detriment of others. This can explain the presence of the symptoms of sulfur deficiency.

Visual diagnosis is the simplest procedure for identifying nutritional problems and is suitable for nitrogen, potassium, magnesium, manganese and boron. Many deficiencies, however, have similar symptoms, which leads to the need for chemical analyses for confirmation (Bataglia and Furlani 2010). Chemical analyses of plant tissues were not performed in this study since the removal of parts of the plants for analyses could compromise the execution of subsequent experiments. These experiments are mainly related to investigations of the juvenile period of plants established in the field and will continue to be accompanied as part of a project, after the present work. However, it should be noted that evaluation by tissue analyses is imperative for an upcoming study, to confirm whether the observed symptoms confer with literature information for other palm species.

The symptoms of nutritional disturbance observed in the leaves of the plants of some treatments probably occurred because of the excess salinity in the substrate, making absorption difficult, due to the reduction of water potential. The dissolved solutes in the zone of the roots of plants generate a low osmotic potential (more negative) which decreases soil water potential. Thus, general water balance is affected, because, to develop, plants need even lower potential to maintain a gradient of water potential between the soils and leaves (Taiz *et al.* 2017).

Plants under stress due to lack of water or excessive salinity are stimulated to accumulate and maintain high levels of organic solutes in the cytoplasm at the expense of energy diverted from growth functions. Moreover, these authors affirm that the accumulation of osmoregulators is a way to reduce the internal osmotic potential of cells, and consequently, water potential, generating a gradient favorable to the absorption by the roots (Taiz *et al.* 2017). This phenomenon is called osmotic adjustment or osmotic conditioning and reduces the growth rate of plants (Carillo *et al.* 2011). This information may justify the reduction of rate development of the seedlings of treatments with the highest fertilizer dosages.

Even in the most favorable treatments (0.6 e 1.2 g L<sup>-1</sup>), the development of seedlings was not uniform in relation to the three variables. It seems that a definition of priority in the development of vegetative structures is determined, in part, by the availability of photoassimilates. Thus, it is likely that stem thickening occurred continuously, regard-

less of the time of the year. The emission of leaves during the juvenile phase seems to follow a synchronism oriented by the relation leaves/pinnate leaves. When the formation of pinnate leaves began, the intensity of the increase in the total number of leaves decreased, and for the two apparently less favorable treatments (control and higher dosage), there was a decrease in the total number of photosynthetically active leaves in the winter. This suggests that the plant sacrifices some primary leaves to supply the emission of pinnate leaves when conditions are less favorable for the production of photoassimilates. However, it is only a speculation since the analysis does not allow detailed physiological conclusions.

Regarding the occurrence of pests, for control of scale insects, doses of mineral oil were applied, which also decreased the incidence of aphids. In the case of thrips symptoms and signs, specific phytosanitary products were not used to control these insects.

For mite control, 1 g L<sup>-1</sup> of acephate (Orthene® 750 BR) was applied at an interval of 15 days. From the second application, recent symptoms have not been noticed in plants. It is unlikely that the infestation of mites would have caused the death of seedlings in the development phase. However, in germination studies conducted at the same time, losses of newly germinated seedlings with the same symptoms described previously have occurred, followed by an aspect of drought in the aerial part of the whole plant. Possibly, mites caused these damages at the point of growth of plants.

## CONCLUSIONS

*Butia odorata* responds positively to fertilization during seedling formation at doses of 0.6 and 1.2 g L<sup>-1</sup>. However, until the juvenile stage, its development is held back if fertilization elevates the electrical conductivity of the substrate solution to levels higher than 5 mS cm<sup>-1</sup>.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) for financial assistance and for the accomplishment of the research.

## REFERENCES

- Barbieri RL, JCC Gomes, A Alercia, S Padulosi. 2014. Agricultural Biodiversity in Southern Brazil: Integrating Efforts for Conservation and Use of Neglected and Underutilized Species. *Sustainability* 6(2): 741-757. DOI: <https://doi.org/10.3390/su6020741>.
- Barbieri RL, MM Marchi, GC Gomes, CH Barros, CM Mistura, JEF Dornelles, G Heiden, GT Beskow, RA Ramos, JCB Villela, FA Dutra, FA Costa, EES Júnior, LA Sampaio, P Lan-zetta, PSG Rocha, N Rocha, M Pippo, J Debeizes, M Rivas. 2015. Vida no butiazal. Brasília, Brazil. Embrapa. 200 p.
- Bataglia OC, Furlani PR. 2010. Adubação. In Mathes LAF, RP Uzzo eds. Palmeiras Ornamentais: produção e cultivo. Campinas, Brazil. Fundag. p. 43-57.
- Bernacci LC, FR Martins, FAM dos Santos. 2008. Estrutura de estádios ontogenéticos em população nativa da palmeira *Syagrus romanzoffiana* (Cham.) Glassman (Arecaceae). *Acta Botanica Brasílica* 22(1): 119-130. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062008000100014>.
- Broschat TK. 2000. Palm nutrition guide. Circular SS-ORH-02. Gainesville, Florida, United States. University of Florida Extension. 6 p.
- Broschat TK. 2009. Palm Nutrition and Fertilization. *Hort Technology* 19(4): 690-694. DOI: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.19.4.690>.
- Büttow MV, RL Barbieri, RS Neitzke, G Heiden. 2009. Conhecimento tradicional associado ao uso de butiás (*Butia* spp., Arecaceae) no sul do Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura* 31(4): 1069-1075. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-29452009000400021>.
- Carillo P, MG Annunziata, G Pontecorvo, A Fuggi, P Woodrow. 2011. Salinity stress and salt tolerance. In Shanker A, B Venkateswaralu eds. Abiotic Stress in Plants- Mechanisms and Adaptations. Rijeka, Croatia. InTech Publisher. 428 p.
- Cavins TJ, JL Gibson, BE Whipker, WC Fonteno. 2000. pH and EC Meters - Tool for Substrate Analysis. Raleigh, USA. NC State University. Floriculture Research Report FLOREX.001.
- Deble LP, JNC Marchiori, FS Alves, AS Oliveira-Deble. 2011. Survey on *Butia* (Becc.) Becc. (Arecaceae) from Rio Grande do Sul State (Brazil). *Balduinia* 30: 03-24. DOI: <https://doi.org/10.5902/2358198013883>.
- De Boodt M, O Verdonck. 1972. The physical properties of the substrates in horticulture. *Acta Horticulturae* 26: 37-44. DOI: <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.1972.26.5>
- Geymonat G, N Rocha. 2009. M'botiá. Ecosistema único en el mundo. Montevideo, Uruguay. Casa Ambiental Castillos. 405 p.
- Handreck K, N Black. 2010. Growing media for ornamental plants and turf. 4<sup>th</sup> ed. Sydney, Australia. University of New South Wales. 551 p.
- Kämpf AN. 2005. Produção comercial de plantas ornamentais. 2<sup>nd</sup> ed. Guaíba, Brazil. Agrolivros. 256 p.
- Kämpf AN. 2010. Seleção de materiais para uso como substratos. In Kämpf AN, MH Fermino eds. Substratos para plantas: a base da produção vegetal em recipientes. Porto Alegre: Gênese. p. 139-145.
- Lorenzi H, L Noblick, F Kahn, E Ferreira. 2010. Flora brasileira: Arecaceae (Palmeiras). Nova Odessa, Brazil. Instituto Plantarum. 367 p.
- Marcato AC. 2004. Revisão taxonômica do gênero *Butia* (Becc.) Becc. (Palmae) e filogenia da sub-tribo Buttiinae Saakov (Palmae). Tese de Doutorado. São Paulo, Brasil. Universidade de São Paulo. 147 p.
- Marchi MM, RL Barbieri, JM Sallés, FA da Costa. 2018. Flora herbácea e subarbustiva associada a um ecossistema de butiazal no Bioma Pampa. *Rodriguésia* 69(2): 553-560. DOI: <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869221>.
- Paim LP, MP Paim. 2016. Uso de mudas de *Butia lallemantii* (Deble *et* Marchiori) para recuperar áreas degradadas por arenização no município de Alegrete-RS. *Revista Congrega*



- 13: 984-994.
- Richards LA. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. Washington, USA. USSS. 160 p. (USDA. Agriculture Handbook 60)
- Rio Grande do Sul. 2014. Lista da flora gaúcha ameaçada de extinção. Accessed Feb. 20. 2019. Available in [http://www.fzb.rs.gov.br/conteudo/4809/?Homologada\\_a\\_nova\\_Lista\\_da\\_Flora\\_Ga%C3%BAcha\\_Amea%C3%A7ada\\_de\\_Extin%C3%A7%C3%A3o](http://www.fzb.rs.gov.br/conteudo/4809/?Homologada_a_nova_Lista_da_Flora_Ga%C3%BAcha_Amea%C3%A7ada_de_Extin%C3%A7%C3%A3o).
- Rivas M, RL Barbieri. 2014. Boas práticas em manejo para o extrativismo sustentável do Butiá. Brasília, Brasil. Embrapa. 50 p.
- Schindwein G. 2012. Implicações ecológicas da dormência de sementes em *Butia odorata* (Arecaceae). Tese de Doutorado. Porto Alegre, Brasil. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 139 p.
- Soares KP, SJ Longhi, L Witeck Neto, LC Assis. 2014. Palmeiras (Arecaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Rodriguésia* 65(1): 113-139. DOI: <https://doi.org/10.1590/S2175-78602014000100009>.
- Taiz L, T Zeiger, IM Moller, A Murphy. 2017. Fisiologia e desenvolvimento vegetal. Porto Alegre, Brasil. Artmed. 888 p.
- Teixeira PC, HS Rodrigues, WAA Lima, RNC Rocha, RNV Cunha, R Lopes. 2009. Influência da disposição dos tubetes e da aplicação de fertilizantes de liberação lenta, durante o pré-viveiro, no crescimento de mudas de dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.). *Ciência Florestal* 19(2): 157-168. DOI: <http://dx.doi.org/10.5902/19805098407>.

Recibido: 21/04/20

Aceptado: 08/06/20



## Effect of different soil conservation methods and planting with four-wing salt bush (*Atriplex canescens*) on soil erosion in a semi-arid region of Turkey

Efecto de diferentes métodos de conservación del suelo y plantación con el arbusto chamiza (*Atriplex canescens*) sobre la erosión del suelo en una región semiárida de Turquía

Uğur Şahin <sup>a</sup>, Mehmet Özcan <sup>b\*</sup>

<sup>a</sup> General Directorate of Forestry, Research Institute for Forest Soil and Ecology, 26160 Eskisehir, Turkey.

\*Corresponding author: <sup>b</sup> Duzce University, Faculty of Forestry, Department of Watershed Management, Duzce, Turkey, telefax: +903805421137, mehmetozcan@duzce.edu.tr

### SUMMARY

This study was conducted to evaluate whether the four-wing salt bush plant (*Atriplex canescens*) can be used to prevent erosion on the areas with steep slopes with semi-arid conditions by applying different soil conservation methods and planting spaces in a semi-arid region of Turkey. For this purpose, eight treatments with three replications (20 m<sup>2</sup> plots) were established in the study site to measure amount of runoff and soil loss after precipitation events in 2015 and 2016, where vegetation cover was completely removed by spraying herbicide. Planting holes and terraces were established and half of them were planted with saplings of *Atriplex canescens* with different planting spaces (3 m interval, 0.5 and 1 m distances) to determine if different soil conservation types or combination of them with planting have any impact on soil loss and surface runoff. The results suggested that soil loss and surface runoff in eight treatment plots were higher in 2015 compared to 2016. The highest soil loss was 0.42 Mg ha<sup>-1</sup> in the control treatment, while the lowest was 0.11 Mg ha<sup>-1</sup> with cultivation with terrace + 50 cm of *A. canescens* in 2015. The total surface runoff was 4.66 mm in the control in 2015 whereas it was 2.33 mm in terracing + planting of *A. canescens* at 50 cm spacing. The combined treatment (terrace with planting of *A. canescens* at 50 cm distance) seems to be the best method to decrease surface runoff and erosion compared to the other treatments employed on the slopes (43 %) in Eskisehir.

**Key words:** four-wing saltbush, soil conservation, seedling density, erosion control, surface runoff.

### RESUMEN

Se evaluó el arbusto *Atriplex canescens* para evitar la erosión en áreas con pendientes pronunciadas con condiciones semiáridas de Turquía, mediante aplicación de diferentes métodos de conservación del suelo y densidades de plantación. Se establecieron ocho tratamientos con tres repeticiones (parcelas de 20 m<sup>2</sup>) en el sitio de estudio para medir la escorrentía y pérdida de suelo después de los eventos de precipitación en 2015 y 2016, donde la cubierta vegetal se eliminó mediante herbicida. Se establecieron hoyos y terrazas de plantación y la mitad de ellos se plantaron con individuos jóvenes de *A. canescens* con diferentes densidades de plantación (intervalo de 3 m, distancias de 0,5 y 1 m). Los resultados sugirieron que la pérdida de suelo y la escorrentía superficial en las ocho parcelas de tratamiento fueron mayores en 2015 en comparación con 2016. La mayor pérdida de suelo fue de 0,42 Mg ha<sup>-1</sup> en el tratamiento de control, mientras que la más baja fue de 0,11 Mg ha<sup>-1</sup> con cultivo con terraza + 50 cm de *A. canescens* en 2015. La escorrentía total de la superficie fue de 4,66 mm en el control en 2015, mientras que fue de 2,33 mm en terrazas + plantación de *A. canescens* con un distanciamiento de 50 cm. El tratamiento combinado (terracea con plantación de *A. canescens* a 50 cm de distancia) parece ser el mejor método para disminuir la escorrentía superficial y la erosión en comparación con los otros tratamientos empleados en las pendientes (43 %) en Eskisehir.

**Palabras clave:** chamiza, conservación del suelo, densidad de plántulas, control de erosión, escorrentía superficial.

### INTRODUCTION

Erosion is a natural phenomenon that is characterized by the carry-over of soil due to wind and water in a geological process. However, this process is accelerated by the destruction of plant cover, wrong agricultural practices and improper land use, which is a crucial problem today.

Many countries face erosion danger. Every year 24 billion tons of soils on average are lost due to erosion across the world (Erosion Action Plan in Turkey 2013). Turkey is one of the countries with the maximum scale of erosion. Erosion actively affects 59 % of the agricultural lands, 54 % of the forestlands and 64 % of the rangelands in Turkey (Erosion Action Plan in Turkey 2013).

It is not possible to stop erosion completely. Nevertheless, its impact can be reduced, and speed can be decreased or controlled through certain methods. These methods include the termination of improper agricultural practices, prevention of excessive and early grazing in the rangelands and increased plantation activities in forest lands (Zaimes *et al.* 2019). As a matter of fact, there are several studies conducted in Turkey about this subject (Acar *et al.* 2002, Fidan 2003, Erdem 2005). In addition to these methods, the severity of erosion can be decreased significantly by planting forage crops, which tolerate grazing especially in the arid and semiarid areas where plantation is limited or not possible, can be regenerated quickly, have intensive root structure which enables them to hold the soil tightly and provide organic matter to the soil (Balabanlı *et al.* 2005). However, using appropriate species for the land preparation method and site conditions is an essential factor that affects the success of these efforts. In Turkey, black pine (*Pinus nigra* Arnold.) and cedar (*Cedrus libani* A. Rich.) trees have been mostly used for afforestation in the arid and semi-arid areas for soil conservation (Çalışkan and Boydak 2017), except shallow and litosolic areas, and protected areas where the primary object is to protect existing vegetation cover. The primary method used for forest plantation of the sloped lands in Turkey is to build terraces on the land and plant them with saplings of some tree species. In fact, decreasing slope length by building terraces on the land alone is an important method to decrease the erosion and surface runoff (Chow *et al.* 1999, Shen *et al.* 2010, Liu *et al.* 2013, Li *et al.* 2014, Chen *et al.* 2017).

*Atriplex canescens* (Pursh.) Nutt. is commonly used for producing roughage, soil reclamation, and combating erosion in problematic areas across the world (Naidu and Harwood 1997, Nefzaoui 1997). Recently, this species has been introduced to Turkey as well. The use of this bush species has yielded positive results as a relatively easy and cheap method applied to improve the soil structure in salty, alkaline, extremely arid, extremely steep areas and mining areas (Houerou 1992). Several studies have been conducted about this plant for many years in the USA, Iran, Australia and many other countries (Glenn and Brown 1998, Koocheki 2000) whereas there are a limited number of studies in Turkey (Erdoğan *et al.* 2013).

Herbaceous and bush species are mainly used for revegetation to prevent erosion in arid and semi-arid areas in Turkey. For example, Güven *et al.* (2015) reported the success of 20 herbaceous and bush species in preventing erosion in the eastern part of Turkey. In that study, soil loss was found to be 19.5 % less in the plots revegetated with bush species and 46 % less in the plots revegetated with herbaceous species compared to the control plot according to the average based on three years of measurements. Soil loss was found to be 33 % less in the parcels planted with herbaceous species than in the parcels planted with bush species. Moreover, Yüksek *et al.* (2018) studied the survival rate of caper bush (*Capparis* spp.) and its importance

to prevent erosion in semiarid areas. They reported that caper bush had a survival rate of 21 % and found that caper bush did not have a significant effect for soil protection from the erosion. Erdoğan *et al.* (2013) conducted a study to determine the forage yield and quality of *Atriplex* spp. growing with different planting spaces and locations. The highest yield and quality were found in Eskisehir-Hamidiye experiment field where the planting space was 2x2 meters, whereas the lowest yield was found in Konya-Karapınar with the lowest precipitation. This study evaluated the forage yield of *Atriplex* spp., and its performance on soil reclamation and erosion prevention by applying two different planting spaces (3x3 m) and (2x2 m) in different regions (Konya/Karapınar, Konya, and Eskisehir/Hamidiye) between 2011 and 2014. The planting space of 2x2 m was found to be more effective compared to 3x3 m in terms of canopy cover that is crucial for erosion control (Sever *et al.* 2014). In regard to the studies conducted across the world, Marques *et al.* (2005), in Spain, found that *Atriplex halimus* L. decreased surface runoff and soil loss from 16.9 to 6.7 ml m<sup>-2</sup> and from 0.16 to 0.02 g m<sup>-2</sup>, respectively at a rainfall intensity of 70 mm h<sup>-1</sup>. Furthermore, Andreu *et al.* (1994) indicated that *Medicago arborea* L. bush was found to be effective to decrease the sediment loss by 47.1 % and surface runoff by 25.7 % compared to bare soil in Spain.

Earlier studies in Turkey mostly focused on yield and adaptation capacity of the *Atriplex* sp. (Erdoğan *et al.* 2013, Sever *et al.* 2014). This study aims at providing complementary contributions to the relevant field since it deals with the effectiveness of *A. canescens* in erosion control studies. The main hypothesis of this study was that *A. canescens* plantation and some terracing combinations are effective tools for erosion and runoff control. In this regard, the objectives of this study are to determine the best conservation method to prevent water erosion in steep slopes in semiarid regions of Turkey and provide guidelines to practitioners and decision makers about the appropriate planting space for *A. canescens* plantations.

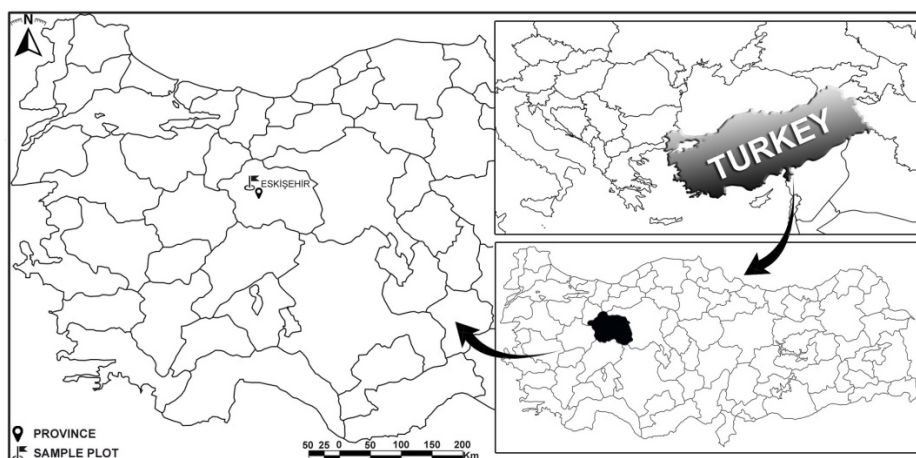
## METHODS

**Study area.** This study was conducted on a hillside at an elevation of 899 m and with a slope of 43 % in the Eskisehir Province, Tepebaşı District at the UTM coordinates of 36S 4404586-277659 (figure 1).

The study area is located on northern slope with a soil depth of 70 cm and with limestone and serpentine parent material. The topsoil in the research area consists of sandy clay loam and has a rapid permeability rate (table 1).

The climatic data of Eskisehir meteorology station shows that the annual precipitation is 369 mm while the mean annual temperature is 11 °C in the study area (table 2) (Turkish State Meteorological Service 2018).

**Field works.** In the study, first the existing vegetation was removed from the area by herbicide spraying in 2014.



**Figure 1.** Location of the study site.  
 Localización del área de estudio.

**Table 1.** Topsoil characteristics of the study plots.  
 Características del suelo superficial en las parcelas de estudio.

Profile (depth 0-30 cm)	Permeability (mm h <sup>-1</sup> )	Volume weight (g cm <sup>-3</sup> )	Porosity (%)	Max. water holding capacity (%)	Sand (%)	Silt (%)	Clay (%)	Texture
Profile 1	380.0 (Fast)	0.83	68	69.27	45.06	29.58	25.36	Sandy clay loam
Profile 2	255.2 (Fast)	0.84	68	63.59	46.88	25.50	27.62	Sandy clay loam
Profile 3	173.4 (Fast)	0.93	64	64.22	46.69	27.72	25.59	Sandy clay loam

**Table 2.** Climatic data for the research area.  
 Datos climáticos en el área de estudio.

Meteorological variables	Month												Annual
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	
Average temperature (°C)	0.0	1.5	5.2	10.3	15.1	19.1	21.8	21.5	17.3	11.9	6.3	2.1	11.0
Precipitation (mm)	40.3	32.3	37.4	40.8	43.5	32.0	13.0	8.5	15.2	29.5	30.3	46.2	369
Average highest temperature (°C)	4.0	6.4	11.4	17.0	21.8	25.9	29.0	29.3	25.3	19.4	12.4	6.1	17.33
Average lowest temperature (°C)	-3.5	-2.9	-0.4	3.8	7.9	11.3	13.9	13.6	9.5	5.2	1.1	-1.4	4.8

After treatments with terraces and pits, 24 erosion measurement plots (8 treatments x 3 replications with size of 2x10 m) were established and all plots were fenced using polycarbonate materials. Buckets with a cover and with a capacity of 70 liters were placed at the bottom of the plots to collect runoff and sediments in these erosion measurement plots (figure 2).

The experiment was a completely randomized block design with three replications and eight treatments. The treatments were as following:

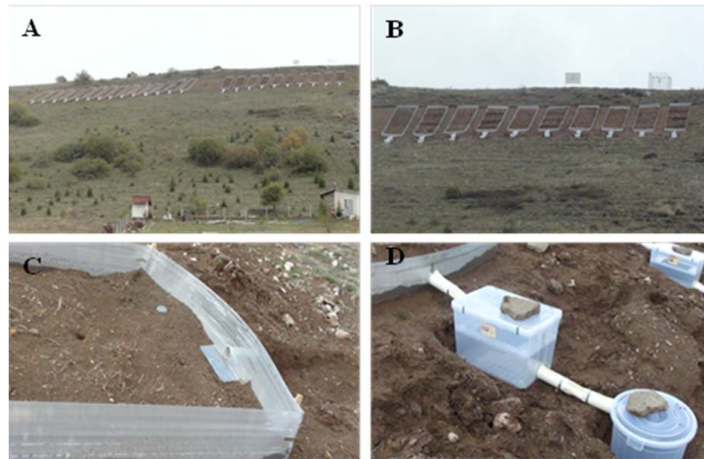
- 1: Control (without any treatment)
- 2: Digging pits with a spacing of 3 m and distance of 50 cm (no plantation)
- 3: Digging pits with a spacing of 3 m and distance of 100 cm (no plantation)
- 4: Digging pits with a spacing of 3 m and distance of 50 cm + *A. canescens* plantation
- 5: Digging pits with a spacing of 3 m and distance of 100 cm + *A. canescens* plantation
- 6: Terracing at a spacing of 3 m



- 7: Terracing at a spacing of 3 m and planting of *A. canescens* at distance of 50 cm
- 8: Terracing at a spacing of 3 m and planting of *A. canescens* at distance of 100 cm (figure 3).

After each rainfall event, the study site was visited, and the runoff collected from each plot was measured. Afterwards the surface runoff amount was determined;

the amount of sediment load deposited in the buckets was measured. Before the sediment samples were collected, the water and sediments mixture in the buckets was stirred thoroughly and 0.5-liter samples were taken into polyethylene bottles for laboratory analyses. Data collection was carried out between 2015 and 2016. Thus, there were 11 measurements in 2015 and 10 measurements in 2016 that were analyzed.



**Figure 2.** Runoff measurement plots in the research area. A and B: general view of the study area, C: evacuation of runoff and sediments, D: mechanism of reception of runoff and sediments.

Medición de escorrentía en el área de investigación. A y B: vista general del área de estudio, C: evacuación de escorrentía y sedimentos, D: mecanismo de recepción de escorrentía y sedimentos.



**Figure 3.** Some parts of the treatments in the research area (A: terrace treatments at the beginning of 2015, B: terraces treatments at the end of the 2015 with bushes, C: control plot (right) and dig pits with plants (left) in 2015, D: terrace treatments with bushes and herbaceous plants in 2016).

Parte de los tratamientos en el área de investigación (A: tratamientos de terrazas a principios de 2015, B: tratamientos de terrazas a finales de 2015 con arbustos, C: parcela de control (derecha) y excavaciones de hoyos con planta (izquierda) en 2015, D: tratamientos en terrazas con arbustos y plantas herbáceas en 2016).

**Laboratory studies.** Samples taken with 0.5-liter polyethylene bottles from each bucket were transported to the laboratory and evaporated at 105 °C. The oven-dried sediment samples were weighed on a balance to calculate their quantity. The amount of sediment carried over from the erosion plot was calculated on the basis of the sediment weight and volume of the runoff accumulated in the buckets. Using this value, the amount of sediment loss from an area of 1 ha in size was calculated considering the size of the study plots. In this way, the impacts of the treatments on soil loss and surface runoff were determined with the use of erosion plots.

**Statistical methods.** The experiment was a completely randomized block design with eight treatments and three replications. Data were analyzed by ANOVA using SPSS software program and means were compared using Duncan's multiple range test at alpha level of 0.05 ( $P < 0.05$ ) (SPSS v.22.0® 2015).

## RESULTS

**Sediment quantity.** In general, all seven treatments decreased the soil loss in 2015 although not in 2016 compared to control plot. The highest soil loss was found in the control plot with 0.42 Mg ha<sup>-1</sup> while the lowest was found in the plot that was cultivated with terrace + 50 cm *A. canescens*

with 0.11 Mg ha<sup>-1</sup> in 2015 (table 3). Soil conservation in the form of pits and plantation with *A. canescens* decreased the sediment loss, nevertheless this decrease was not statistically significant. The lowest sediment loss was found in the plot planted with *A. canescens* on terraces. The planting space of 50 to 100 cm for planting *A. canescens* on terraces did not have any significant effect on soil loss.

Sediment loss did not vary significantly across the treatments in 2016. However, sediment quantity decreased significantly compared to the levels in 2015 (table 3).

**Runoff.** There was significant difference among soil conservation treatments in terms of their effect on the quantity of surface runoff in 2015 while there was not any in 2016. As a matter of fact, the surface runoff was lower in the plots cultivated in the form of terraces (treatments 6, 7 and 8.) compared to the other treatments and control plots, and this difference was statistically significant. The total surface runoff was 4.66 mm in the control plot in 2015 whereas it was 2.33 mm in terracing + planting of *A. canescens* at a spacing of 50 cm (table 4). This means that terracing together with planting *A. canescens* at a distance of 50 cm decreased surface runoff by 50 %.

These differences in surface runoff between the different soil conservation treatments in 2015 were not observed in 2016. Averaging over the years, results of ANOVA revealed that runoff in 2015 was higher than that in 2016

**Table 3.** Mean annual soil loss under different treatments from study plots.

Pérdida media anual de suelo bajo diferentes tratamientos en las parcelas de estudio.

Years	Treatment plots	Total soil loss (Mg ha <sup>-1</sup> )	Precipitation (mm)
2015	Control	0.42 ± 0.13a	402.8
	50 cm P. hole	0.31 ± 0.04a	
	100 cm P. hole	0.31 ± 0.05a	
	50 cm P. hole + <i>A. canescens</i>	0.35 ± 0.08a	
	100 cm P. hole + <i>A. canescens</i>	0.29 ± 0.09a	
	Terrace	0.11 ± 0.01b	
	Terrace+50 cm <i>A. canescens</i>	0.11 ± 0.01b	
	Terrace+100 cm <i>A. canescens</i>	0.13 ± 0.04b	
2016	Control	0.02 ± 0.01b	262.9
	50 cm P. hole	0.02 ± 0.01b	
	100 cm P. hole	0.01 ± 0.00b	
	50 cm P. hole + <i>A. canescens</i>	0.02 ± 0.00b	
	100 cm P. hole + <i>A. canescens</i>	0.02 ± 0.00b	
	Terrace	0.02 ± 0.00b	
	Terrace+50 cm <i>A. canescens</i>	0.02 ± 0.01b	
	Terrace+100 cm <i>A. canescens</i>	0.03 ± 0.00b	

a, b: There are statistical differences at the alpha level = 0.05 among different tillage types in the same column for the same year and between years for the same treatment types (Mean± Standard Error).

**Table 4.** Mean annual runoff and runoff coefficients from different plots under different treatments.  
 Escorrentía media anual y coeficientes de escorrentía de diferentes tratamientos.

Year	Treatment plots	Runoff (mm)	Runoff coefficient (%)	Precipitation (mm)
2015	Control	4.66 ± 0.91a*	1.15 ± 0.22 a	402.8
	50 cm P. Hole	4.40 ± 0.23a	1.09 ± 0.06 a	
	100 cm P. Hole	4.29 ± 0.43a	1.07 ± 0.11 a	
	50 cm P. Hole + <i>A. canescens</i>	4.05 ± 0.91a	1.00 ± 0.23 a	
	100 cm P. Hole + <i>A. canescens</i>	4.01 ± 0.70a	1.00 ± 0.17 a	
	Terrace	2.64 ± 0.48b	0.66 ± 0.12 b	
	Terrace+50 cm <i>A. canescens</i>	2.33 ± 0.31b	0.58 ± 0.08 b	
	Terrace+100 cm <i>A. canescens</i>	2.57 ± 0.57b	0.64 ± 0.14 b	
2016	Control	0.42 ± 0.05c	0.16 ± 0.02 c	262.9
	50 cm P. Hole	0.40 ± 0.08c	0.15 ± 0.03 c	
	100 cm P. Hole	0.34 ± 0.05c	0.13 ± 0.02 c	
	50 cm P. Hole + <i>A. canescens</i>	0.53 ± 0.06c	0.20 ± 0.02 c	
	100 cm P. Hole + <i>A. canescens</i>	0.57 ± 0.15c	0.22 ± 0.06 c	
	Terrace	0.41 ± 0.14c	0.16 ± 0.05 c	
	Terrace+50 cm <i>A. canescens</i>	0.36 ± 0.11c	0.14 ± 0.04 c	
	Terrace+100 cm <i>A. canescens</i>	0.63 ± 0.13c	0.24 ± 0.05 c	

a, b, c: There are statistical differences at the alpha level = 0.05 among different tillage types in the same column for the same year and between the years for the same treatment types (mean± standard error).

and the difference was statistically significant. Surface runoff was 4.66 mm in 2015 in the control plot while it was 0.42 mm in 2016 (table 4).

In terms of the effect of *A. canescens* on the amount of surface runoff there was no significant difference between soil conservation methods (terracing and pit creation) with and without *A. canescens* plantation for both years (table 4). However, terracing was found to decrease possible surface runoff significantly. Surface runoff was found to be less in plots with terraces in both years (table 4).

## DISCUSSION

Our findings revealed that terracing and terracing with *A. canescens* had the lowest sediment quantity. Hammad *et al.* (2004) found similar results in a study conducted in Palestine and reported that terrace establishment decreased the sediment delivery from 3.52 to 0.18 Mg ha<sup>-1</sup> in the first year and from 5.0 to 0.17 Mg ha<sup>-1</sup> in the second year. While some studies suggested that soil tillage intensifies soil erosion (Çepel 1985, Van Oost 2006), pits and terraces decreased soil loss in our study.

Sediment quantity was lower in 2016 for all treatments. This can be explained by the fact that the plots were covered with herbaceous plant species in 2016 and precipitation was lower in 2016 than in 2015. In fact, precipitation

for 2015 was calculated as the sum of 12 months, which was 402.8 mm; whereas it was the sum of eight months in 2016 with 262.9 mm. The total precipitation in the first eight months of 2015 (351.9 mm) was 89 mm higher than that in the first eight months of 2016 (262.9 mm).

In addition to the impact of soil conservation treatments on the reduction of erosion in 2015, it was observed that natural herbaceous vegetation was more effective in reduction of erosion than were soil conservation treatments in 2016. As soil surface was covered with natural herbaceous vegetation in 2016, the decrease in soil erosion could be attributed to the vegetation cover. As a matter of fact, while the surface covered with vegetation was 30 % on average in 2015, this ratio was measured as 80 % in 2016. Loch (2000) reported that sediment quantity could be reduced from 30-35 Mg ha<sup>-1</sup> to 0.5 Mg ha<sup>-1</sup> when the rate of herbaceous vegetation cover was increased from 0 % to 47 %. In this study, soil tillage was found to be effective to decrease erosion in the first year. Daşdemir *et al.* (1996) reported that the types of terraces were effective in erosion control and thus created an environment for vegetation. Erdem (2005) stated that ploughed pits vertical to the slope direction at different depths on agricultural fields decreased soil loss as the pit depth increased.

The most prominent result of this study in terms of surface runoff was that terracing + planting of *A. canescens* at

a distance of 50 cm was the most efficient method in the first year. Hammad *et al.* (2004) also reported that terracing decreased surface runoff by 59 % on average. Uslu (1971) reported that the highest surface runoff was found on the bare parcels depending on precipitation while the lowest surface runoff was found to be on the bush-covered parcels. Moreover, Aydemir (1973) reported that vegetative plantations for the reclamation of the basin around Eymir Lake in Ankara were effective in decreasing surface runoff.

Runoff was not different among treatments in the second year mostly because of the lesser precipitation and increased vegetation cover. Kinetic energy of raindrops as a function of amount and intensity of precipitation is one of the most effective factors on runoff and soil erosion (Ran *et al.* 2012). Güven *et al.* (2015) reported 34 % lesser runoff as a result of growth performance of herbs and shrubs and their vegetation cover on the soil surface. Furthermore, the comparative study between the bush and herbaceous plants covered plots revealed that herbaceous vegetation was better in preventing water loss than the bush-covered plots. A similar study conducted in Australia (Loch 2000) showed that as the amount of herbaceous vegetation on the soil increased, both surface runoff and erosion decreased substantially.

Our findings were consistent with those of the studies reporting that operations performed parallel to the slope (tillage, furrow, terrace, plant) were effective in decreasing surface runoff (Aydemir 1973, Daşdemir *et al.* 1996, Erdem 2005, Shen *et al.* 2010, Liu *et al.* 2013, Li *et al.* 2014, Chen *et al.* 2017).

High permeability and porosity in the topsoil, as well as low precipitation, are often referred as the reason of low surface runoff as it is in all treatments in the current study. Analyses of the soil samples collected from the study area revealed that soil permeability was 269.3 mm h<sup>-1</sup> (fast) on average and the mean porosity was 66.8 % (table 1).

## CONCLUSIONS

In this study, the effect of soil conservation methods and planting space of *A. canescens* on surface runoff and sediment loss was investigated in a semi-arid area on steep slopes in Turkey. Terraces and planting of *A. canescens* had an impact in preventing sediment loss and surface runoff. Surface runoff and sediment loss decreased as the planting space got smaller. We understood from these results that the planting intervals used in this study are not adequate. Hence, further studies with closer intervals are needed to explore the effect of *A. canescens* or similar bushes on surface runoff and sediment loss.

Coverage of the area with herbaceous vegetation and substantial reduction in erosion in the second year due to this vegetation makes it necessary to study the effect of terraces and planting of different herbaceous species together. It can be concluded that terracing and planting of herbaceous species were more effective than planting of

bush species for the quick control of soil loss. Introducing bush or tree species in the following years can be suggested for long term results in preventing erosion. These rehabilitation methods can be used as an effective measure to prevent erosion in similar sites. *Atriplex canescens* saplings have a high survival rate, a good adaptation capability and tolerance to drought and cold weather conditions. Similarly, they remain green in semiarid areas in dry summer periods. Therefore, they can be used as an alternative forage crop in rangelands for domestic and wildlife animals.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Funding from General Directorate of Forestry (Project No. ESK-23(6401)2014-2017) is gratefully acknowledged.

## REFERENCES

- Acar C, A Gül, F Bilgin. 2002. Studies on determination of some plant species usable for forestry, agroforestry, silva-pastoral systems and effects of these land use systems on soil stabilization and erosion control in Manisa-Sarıgöl region of Turkey. İzmir, Turkey. Ege Forestry Research Director Publication No: 026, Technical Bulletin: 19. 65 p.
- Andreu V, J Rubio, R Cerni. 1994. Use of a shrub (*Medicago arborea*) to control water erosion on steep slopes. *Soil Use and Management* 10: 95-99. DOI: [10.1111/j.14752743.1994.tb00466.x](https://doi.org/10.1111/j.14752743.1994.tb00466.x)
- Aydemir H. 1973. The amount of soil transported around Emir Lake and the effect of improvement measures on this amount. *Forestry Research Institute Publications* 2: 1-24.
- Balabanlı C, M Türk, O Yüksel. 2005. Erosion and grasslands-rangeland relations. *Journal of Süleyman Demirel University Faculty of Forestry A* (2): 23-34.
- Chen D, W Wei, L Chen. 2017. Effects of terracing practices on water erosion control in China: A meta-analysis. *Earth-Science Reviews* 173: 109-121. DOI: [10.1016/j.earsci-rev.2017.08.007](https://doi.org/10.1016/j.earsci-rev.2017.08.007)
- Chow TL, HW Rees, JL Daigle. 1999. Effectiveness of terraces/grassed waterway systems for soil and water conservation: a field evaluation. *Journal of Soil and Water Conservation* 3: 577-583.
- Çalışkan S, M Boydak. 2017. Afforestation of arid and semiarid ecosystems in Turkey. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 41: 317-330. DOI: [10.3906/tar-1702-39](https://doi.org/10.3906/tar-1702-39).
- Çepel N. 1985. Ecological results of mechanization related to land preparation applied in afforestation studies. *Istanbul University Journal of the Faculty of Forestry B* 35 (1): 1-13.
- Daşdemir İ, M Tetik, M Güven, H Doğan. 1996. The researches on determination of some plant species usable in erosion control in Eastern Anatolia Region. Erzurum, Turkey. Eastern Anatolia Forestry Research Directorate Technical Report: 1. 56 p.
- Erdem VF. 2005. Effects of contouring with different furrow depths on runoff and soil losses for agricultural soils under laboratory conditions. Agriculture Engineer Thesis. Bursa, Turkey. Institute of Science and Technology, Uludag University. 66 p.
- Erdoğan İ, AL Sever, AK Atalay, C Aygün, S Akkaya, Ş Işık, F



- Kırtış. 2013. Effect of different planting spaces on some yield and forage quality characteristics of four wing saltbush (*Atriplex canescens* Pursh Nutt.) at three locations in Eskisehir and Konya. *Journal of Agricultural Faculty of Bursa Uludağ University* 27(1): 55-63.
- Erosion Action Plan in Turkey. 2013. Erosion action plan 2013-2017. Ankara, Turkey. Ministry of Forestry and Water Affairs. 20 p.
- Fidan C. 2003. Effects of different soil tillages and reseeds on soil characteristics and runoff in potential rangelands of Elazığ province. Elazığ, Turkey. Southeastern Anatolia Forestry Research Institute Publications, No: 14. 42 p.
- Glenn PE, JJ Brown. 1998. Effects of soil salt levels on the growth and water use efficiency of *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) varieties in drying soil. *American Journal of Botany* 85(1): 10-16. DOI: [10.2307/2446548](https://doi.org/10.2307/2446548)
- Güven M, A Bilgili, A Koç, T Öztaş, B Çomaklı, M Daşçı, EL Aksakal, MK Güllap, M Köse, Ö Öncül. 2015. A study on determination of natural bush and perennial herb species useable in soil and water conservation in the Tortum watershed. Erzurum, Turkey. Eastern Anatolia Forestry Research Institute, Project Number: 01.6904/2007-2015. 53 p.
- Hammad AA, LE Haugen, T Borresen. 2004. Effects of stonewalled terracing techniques on soil-water conservation and wheat production under Mediterranean conditions. *Environmental Management* 34(5): 701-710. DOI: [10.1007/s00267-003-0278-9](https://doi.org/10.1007/s00267-003-0278-9)
- Koocheki A. 2000. Potential of saltbush (*Atriplex* spp.) as a fodder shrub for the arid lands of Iran. *Fodder Shrub Development in Arid and Semiarid Zones* 1: 178-183.
- Houerou HNL. 1992. The role of saltbushes (*Atriplex* spp.) in arid land rehabilitation in the Mediterranean Basin: a review. *Agroforestry Systems* 18: 107-148. DOI: [10.1007/BF00115408](https://doi.org/10.1007/BF00115408)
- Li X, J Yang, C Zhao, B Wang. 2014. Runoff and sediment from Orchard terraces in Southeastern China. *Land Degradation & Development* 25: 184-192. DOI: [10.1002/ldr.1160](https://doi.org/10.1002/ldr.1160)
- Liu SL, YH Dong, D Li, Q Liu, J Wang, XL Zhang. 2013. Effects of different terrace protection measures in a sloping land consolidation project targeting soil erosion at the slope scale. *Ecological Engineering* 53: 46-53. DOI: [10.1016/j.ecoleng.2012.12.001](https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2012.12.001)
- Loch RJ. 2000. Effects of vegetation cover on runoff and erosion under simulated rain and overland flow on a rehabilitated site on the Meandu Mine, Tarong, Queensland. *Australian Journal of Soil Research* 38(2): 299-312. DOI: [10.1071/SR99030](https://doi.org/10.1071/SR99030)
- Marques, MJ, L Jimenez, R Perez-Rodriguez, S Garcia-Ormaechea, R Bienes. 2005. Reducing water erosion in a gypsum soil by combined use of organic amendment and shrub revegetation. *Land Degradation & Development* 16: 339-350. DOI: [10.1002/ldr.658](https://doi.org/10.1002/ldr.658)
- Naidu BP, MR Harwood. 1997. Opportunities for landscape stabilization and revegetating disturbed land in stressful environments with exotic or native forages. *Tropical Grasslands* 31: 364-369.
- Nefzaoui A. 1997. The integration of fodder shrubs and cactus in the feeding of small ruminants in the arid zone of North Africa. Livestock feed resource within integrated farming systems. Second FAO Electronic Conference September 1996-February 1997. 467-483.
- Ran Q, D Su, P Li, Z He. 2012. Experimental study of the impact of rainfall characteristics on runoff generation and soil erosion. *Journal of Hydrology* 424-425: 99-111 DOI: [10.1016/j.jhydrol.2011.12.03599-111](https://doi.org/10.1016/j.jhydrol.2011.12.03599-111)
- Sever AL, Erdoğan İ, AK Atalay, C Aygün, S Akkaya, F Kırtış, N Şimşekli, Ş Işık, A Güneş. 2014. Evaluation of four-wing saltbush (*Atriplex canescens* Pursh Nutt.) plant in different locations for forage plant production. Eskisehir, Turkey. Transition Zone Agricultural Research Institute, Soil Reclamation and Erosion Control, Project Final Report. 38 p.
- Shen Z, Y Gong, Y Li, R Liu. 2010. Analysis and modeling of soil conservation measures in the Three Gorges Reservoir Area in China. *Catena* 81(2): 104-112. DOI: [10.1016/j.catena.2010.01.009](https://doi.org/10.1016/j.catena.2010.01.009)
- Turkish State Meteorological Service. 2018. Climatically data of the Eskisehir. Consulted 12 Jan. 2018. Available in <https://www.mgm.gov.tr/veridegerlendirme/il-ve-ilceler-istatistik.aspx?k=H&m=ESKISEHIR>
- Uslu S. 1971. The effects of various land use forms on surface runoff and erosion. Istanbul, Turkey. Istanbul University, Faculty of Forestry Publications, Publication Number 1643. 54 p.
- Van Oost K, G Govers, S De Alba, TA Quine. 2006. Tillage erosion: a review of controlling factors and implications for soil quality. *Progress in Physical Geography. Earth and Environment* 30(4): 443-466. DOI: [10.1191/0309133306pp487ra](https://doi.org/10.1191/0309133306pp487ra)
- Yüksek T, F Yüksek, M Özalp, Z Ölmez. 2018. Determination of the growth performance and soil protection ability of the Capar (*Capparis* sp) in eroded site in semi-arid Region of Artvin Turkey. *Journal of Anatolian Environmental and Animal Sciences* 3(2): 62-67. DOI: [10.35229/jaes.398500](https://doi.org/10.35229/jaes.398500)
- Zaimes GN, G Tardio, V İakovoglou, M Gimenez, JL Garcia-Rodriguez, P Sangalli. 2019. New tools and approaches to promote soil and water bioengineering in the Mediterranean. *Science of the Total Environment* 693: 133677. DOI: [10.1016/j.scitotenv.2019.133677](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133677)

Recibido: 06/04/20

Aceptado: 22/06/20



## Study of the floristic, functional and phylogenetic composition of trees in a short time in a forest fragment of the Atlantic Forest, Brazil

Estudio de la composición florística, funcional y filogenética de árboles en poco tiempo en un fragmento de bosque del bosque atlántico, Brasil

**Gabriela Gomes Pires de Paula <sup>\*\*</sup>, Cleber Rodrigo de Souza <sup>a</sup>, Vinícius Andrade Maia <sup>a</sup>, Natalia de Aguiar-Campos <sup>a</sup>, Nathalie Cristine Alencar Fagundes <sup>b</sup>, Fernanda Moreira Gianasi <sup>b</sup>, Diego Teixeira Girardelli <sup>a</sup>, Aurélio de Jesus Rodrigues Pais <sup>a</sup>, Wilder Bento da Silva <sup>a</sup>, Rubens Manoel dos Santos <sup>a</sup>**

\*Corresponding author: <sup>a</sup> Federal University of Lavras, Science Forest Department, 3037 Brazil, gabyfloresta@gmail.com

<sup>b</sup> Federal University of Lavras, Botany Department, 3037 Brazil.

### SUMMARY

Discrete thresholds of structural or functional decline of a vegetation type are not readily apparent, as a vegetation type can slowly decline leading to transformations in its species composition and weakened or altered functions. However, forest monitoring can be used to assess changes in ecological functions in community structure and functional and phylogenetic composition of species. This study evaluated the existence of temporal variations in the functional and phylogenetic composition of a tree community, the occurrence of heterogeneity in the behavior of phylogenetic and functional variations, and how this possible heterogeneity influences the functional and phylogenetic variations under the aspect of environmental variations and by demographic ecological processes. Results detected quantitative and qualitative changes throughout the community, such as colonization, local extinctions, in demography and biomass, and increased evolutionary distinction, lower wood density species and phylogenetic clustering. These results have shown us that the natural changes of a community should not be underestimated, because the disappearance of a community can not only occur by the direct elimination of vegetation, but can be incremental with gradual changes in its functional characteristics and species composition, transforming itself into a new community with a new combination of species and new functions.

*Key words:* functional attributes, forest ecology, Atlantic forest, phylogeny, forest dynamics.

### RESUMEN

Los umbrales discretos de deterioro estructural o funcional de un tipo de vegetación no son fácilmente aparentes, ya que un tipo de vegetación puede disminuir lentamente, lo que lleva a transformaciones en la composición de sus especies y funciones debilitadas o alteradas. Sin embargo, las observaciones pueden usarse para evaluar los cambios en las funciones ecológicas antes de que esto ocurra a través de la estructura comunitaria y la composición funcional y filogenética de las especies. Este estudio evaluó la existencia de variaciones temporales en la composición funcional y filogenética de una comunidad arbórea; la ocurrencia de heterogeneidad en el comportamiento de variaciones filogenéticas y funcionales; y cómo esta posible heterogeneidad influye en las variaciones funcionales y filogenéticas bajo el aspecto de variaciones ambientales y por procesos demográficos ecológicos. Los resultados en la detección de cambios cuantitativos y cualitativos en toda la comunidad con la colonización y las extinciones locales en la comunidad, las diferencias demográficas y de biomasa, la distinción evolutiva aumentada, las especies de menor densidad de madera y el agrupamiento filogenético. Los resultados han demostrado que los cambios naturales de una comunidad no deben subestimarse, porque la desaparición de una comunidad no solo puede ocurrir por la eliminación directa de la vegetación, sino que puede ser incremental con cambios graduales en sus características funcionales y composición de especies, transformando en una nueva comunidad con una nueva combinación de especies y nuevas funciones.

*Palabras clave:* atributos funcionales, ecología forestal, bosque atlántico, filogenia, dinámica forestal.

### INTRODUCTION

Knowledge about the worldwide conservation status of biodiversity, as well as its human use, has faced a growing

demand worldwide, which has been driving increasing support for strategies of natural resource management, nature protection and sustainable resource use. The perception and quantification of biodiversity change over time

are nonetheless a great challenge, especially when gradual, low-intensity changes are observed within short timespans in a local or regional geographic range. The lack of temporal studies on this matter prevents the assessment of the actual status of biodiversity (Del Vecchio *et al.* 2016).

Changes in biodiversity may encompass more than species richness decline, but entails alterations in the identity of species and, potentially, in community function (Hillebrand *et al.* 2018). From the human perspective, these shifts can hamper the provision of ecosystem services such as food sources, fuel, structural materials, medicines and genetic resources (Chapin *et al.* 2000). The abundances of species that control ecosystem processes may also be compromised, leading to further compositional changes in the community and, consequently, increasing vulnerability to species invasion (Navarro *et al.* 2017). Although the reduction in species distribution may be detected with relative ease, discrete thresholds of structural or functional decline are not easily perceptible (Del Vecchio *et al.* 2016).

According to a recent study, since the year 1900, seed plants have been extinguishing by a rate of approximately three species per year, with emphasis on island and wet tropics floras (Humphreys *et al.* 2019). In Brazil, the greatest loss has occurred in the south-eastern region where the Atlantic Forest vegetation predominates, with 21 to 30 species becoming extinct within the last 119 years (Humphreys *et al.* 2019). For its high biological relevance and anthropogenic threats faced by its highly endemic flora, the Atlantic Forest is considered a hotspot of biodiversity (Ribeiro *et al.* 2009). The broad range of agricultural land uses and lack of an efficient forest management plan threaten the Atlantic Forest remnants (Becker *et al.* 2013), specifically in Mantiqueira Range (*Serra da Mantiqueira*), inserted in a densely populated area that neighbors large cities like Rio de Janeiro and São Paulo. One of the main issues concerning Atlantic Forest conservation is the intense fragmentation process that it has undergone since the beginning of colonization in the sixteenth century, which resulted in its occurrence being currently restricted to small scattered fragments (Ribeiro *et al.* 2009).

Wet tropical regions are characterized by high annual rainfall and high evapotranspiration rates, with drought being an important driver of diversity patterns and survival of species in tropical forests (Esquivel-Muelbert *et al.* 2017). However, with the likely changes in precipitation regimes promoted by climate change, many plant species may not be able to adapt fast enough nor to track suitable habitats in terms of water availability (Esquivel-Muelbert *et al.* 2017). Moreover, in a given ecosystem, niche opportunities that stem from climatic fluctuations over time can determine which species will be able to occupy these novel niche dimensions and which functions may be provided or lost (Pulla *et al.* 2017, Maia *et al.* 2020). Such niche opportunities can explain changes in species composition and forest productivity, as well as species colonization and occupation strategies (Pulla *et al.* 2017).

In view of all this context, it is important to note that in 2010, the Parties to the Convention on Biological Diversity adopted the Strategic Plan for Biodiversity 2011-2020 and its 20 associated Aichi Biodiversity Targets. Aichi Biodiversity Target 19 refers specifically to knowledge, values, functioning, situations and trends about biodiversity through its monitoring. Although long term studies are important for monitoring the conservation status of biodiversity in vegetation fragments, detecting changes in shorter periods offers interesting possibilities to observe more specific changes in the taxonomy, phylogeny, structure and functions of the community, as well as interactions between them. Importantly, these short-term assessments of biodiversity change may serve as an alert before detrimental and irreversible alterations occur.

We, field researchers, were able to see in the surveys that even in a short period of time, forest communities have been reflecting perceptible changes in their physiognomy. And for that, we tested the following hypothesis: Over a period of six years, are the changes that occur in the community due to the effect of demographic fluctuations able to reflect on ecological functions and alter the phylogeny of a community? To explore this hypothesis, this study seeks to relate: (i) if taxonomic composition changed between the intervals (controlling soil effects) and (ii) if taxonomic composition, along with community dynamics, phylogenetic diversity shifts and soil, leads to shifts in community structure, community function, above-ground woody biomass and evolutionary distinctiveness.

## METHODS

*Study area.* This study was carried out in an area inserted in the Atlantic domain, in Mantiqueira Range (*Serra da Mantiqueira*, in Portuguese), south-east Brazil. The studied forest fragment is named *Mata dos Gnomos* (Gnome Woods, in free translation) and is located in a private natural heritage reserve (RPPN Altomontana) in the Municipality of Itamonte, Minas Gerais State (figure 1). *Mata dos Gnomos* is a semideciduous forest disjunction inserted in a matrix of ombrophilous forests (Oliveira-Filho 2009), and its altitude ranges from 1,445 to 1,495 m.

The climate of the region is Cwb according to the Köppen classification, mesothermic with dry winters (June-July) and rainy with mild summers (December-January). The temperature varies from 17.4 °C to 19.8 °C, not exceeding 22 °C, and average annual rainfall is 1,749 mm. The fragment has been under protection as a private natural heritage reserve for about 80 years, with presence of some remaining old trails inside the forest, which has presence of the Brazilian pine *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze. Adjacent to this fragment, there are ecotonal areas: one of them with monodominance of bamboo and another with dominance of candeia (*Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeish).

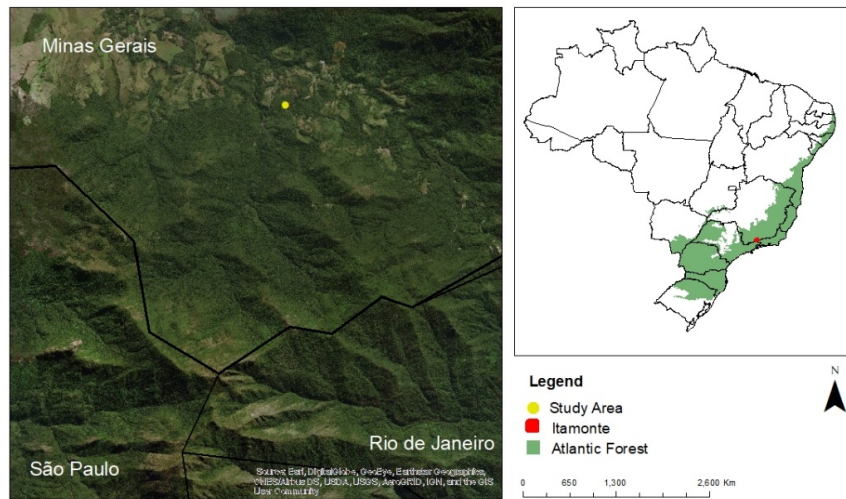
To better analyze the behavior of precipitation, and thus be able to infer about changes in precipitation over time,

we took the precipitation data in the interval from 2005 to 2017. This analysis was made only to set up a scenario of rainfall distribution over time, to help in understanding the behavior of the forest under study. The study area had a rainfall coefficient of variation of 21.27 % and its annual rainfall profile is displayed in figure 2.

*Data collection.* In 2011, 22 plots of 400 m<sup>2</sup> were established along five transects, spaced 10 m apart. All arboreal individuals with diameter at breast height (DBH)  $\geq$  5 cm within these plots were measured. For trees with multiple

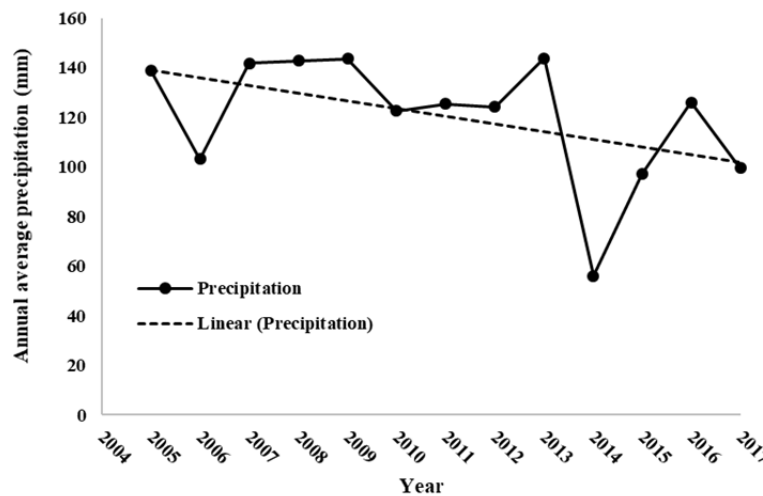
stems, we included those of which the square-root of the sum of squares of each stem DBH met the inclusion criterion (DBH  $\geq$  5 cm). The plots were resurveyed in 2017 and all surviving trees were re-measured. New individuals that reached the inclusion criterion (recruits, DBH  $\geq$  5 cm) were identified to the species level, measured in terms of DBH and height and marked with numbered aluminum tags, while dead individuals were also recorded.

In each plot, one soil sample was collected at a depth of 0 to 10 cm to characterize soil physical and chemical aspects. The following attributes were assessed: aluminum,



**Figure 1.** Study area location (Itamonte) in Minas Gerais State, Brazil, and Brazilian biogeographic domain of area.

Ubicación del área de estudio (Itamonte) en el estado de Minas Gerais, Brasil, y el dominio biogeográfico brasileño del área.



**Figure 2.** Total annual precipitation from 2004 to 2017 in the study region of Itamonte, Minas Gerais State, Brazil. Data obtained from Instituto Nacional de Meteorología (INMET)-BDMEP database, collected from the meteorological station of São Lourenço Municipality.

Precipitación total anual de 2004 a 2017 en la región de estudio de Itamonte, estado de Minas Gerais, Brasil. Datos obtenidos de la base de datos del Instituto Nacional de Meteorología (INMET) -BDMEP, recopilados de la estación meteorológica del municipio de São Lourenço.

sum of bases, organic matter, pH in water and sand, silt and clay proportions (dag/kg) to characterize soil texture.

Tree identification followed APG IV and was performed in the field, or else by consulting experts or the ESAL Herbarium at the Federal University of Lavras (UFLA). Species nomenclature followed The Plant List database (theplantlist.org) in case synonyms were eventually recorded.

From the species abundance matrix and using the *vegan* package (Oksanen *et al.* 2018), we performed a Detrended Correspondence Analysis (DCA) using data from both inventories to synthesize differences in taxonomic composition among plots (*i.e.* beta diversity).

Biomass and productivity were calculated following the methodology described by Poorter *et al.* (2017), assuming that biomass stocks and dynamics are key ecosystem functions because biomass largely mediates local and global biogeochemical cycles in carbon, nutrients and water (Chapin *et al.* 2000). Productivity was obtained by the difference in the biomass between the inventories (biomass of the last year minus the biomass of the first year).

*Obtaining variables of interest.* Variables, aimed at describing the functional composition of each sample unit at each data collection year, were obtained through the community weighted means (CWMs) of the following attributes: wood density (WD), obtained from the Global Wood Density Database through values for species or averages of the genus or family (Chave *et al.* 2009); sprouting intensity (Spr intensity - %), obtained by the ratio between the number of stems and the number of individuals; sprouting frequency (number of individuals that have more than one stem/number of individuals – Spr frequency - %); and species' maximum DBH (cm). The CWM values were calculated with the R function *functcomp* from the FD package v. 3.5.2 (2018) (Laliberté *et al.* 2014). The Evolutionary Distinctiveness (ED) metric was obtained for each species by dividing the total phylogenetic diversity of a clade among its members, applying a value to each branch equal to its length divided by the number of species belonging to the branch; species with no close relatives have high ED values, and a community with high ED values is considered to have more evolutionarily unique species (Edwards *et al.* 2017). We also calculated the CWM of this metric to obtain a single value of evolutionary distinctiveness for each sample unit. For each measurement year, we calculated the standardized effect sizes (SES) of phylogenetic diversity (PD), mean pairwise distance (MPD) and mean nearest taxon distance (MNTD), aiming at neutralizing the bias caused by variations in species richness across sample units. We used the packages V.PhyloMaker (Jin and Qian 2019), PhyloMeasures (Tsirogianis and Sandel 2016) and the mega angiosperm tree GBOTB.extended to build our tree and obtain the metrics of ED diversity and phylogenetics.

Based on the abundances of dead individuals and recruits, we calculated the annual mortality and recruitment rates as proposed by Sheil *et al.* (1995). The above-ground

woody biomass (AGWB, in Mg) of dead individuals (AGWBdead) and of recruits (AGWBrec) was also calculated to evaluate the demographic fluctuations by changes in biomass and not only through changes in species abundances (Sheil *et al.* 1995). Biomass was obtained through the BIOMASS package (Rejou-Mechain *et al.* 2017), using the modified equation of Chave *et al.* (2014). We used equation with parameters for DBH, wood density and E, which is related to climate stress and predicts tree height when it is absent in the data. This equation has been developed and has been widely applied in rain forests, although with uncertain expectations when applied to other vegetation types. We calculated the temporal beta diversity for each sample unit using the squared distances between the coordinates of the plots in DCA axis 1 in the first census and in the second census. Only the DCA axis 1 was used in the analysis due to its eigenvalue of 0.45 against 0.22 from axis 2. The soil variables were synthesized in two explanatory summary variables represented by the value of each sample unit on the two first axes of a Principal Component Analysis (PCA) performed with all the collected soil variables (figure S1).

*Data analyses.* All analyses were performed in the environment R version 3.6.1 (R Core Team 2019), adopting the significance level of 5 % for all analyses.

Two matrices were used to test the change in species composition and functional attributes over time, each containing data from one of the inventories. We performed non-metric multidimensional scaling (nMDS) for the difference in species composition among sample units using Bray-Curtis dissimilarity. We used the Procrustes and ProTest analyses in both cases. The most commonly used method for Procrustean fit is based on the least squares criterion that minimizes the sum of square residuals (m) between the two configurations. The analyses were implemented using the *vegan* package.

Three main analyses were conducted with all the variables of interest regarding taxonomic composition, functional composition and phylogenetic diversity (DCA axis 1, CWM WD, AGWB, CWM sprouting frequency, CWM sprouting intensity, CWM maximum DBH and CWM evolutionary distinctiveness), as well as demographic variables (mortality and recruitment rates); AGWB of mortality, recruitment and productivity, environmental variables (edaphic PCA axes 1 and 2), and phylogenetic diversity variables (sesPD, sesMPD and sesMNTD). First, we tested if the taxonomic composition (Procrustes and DCA axis 1), functional composition (CWMs) and phylogenetic diversity metrics differ between the censuses and if its relationship with soil and taxonomic composition (except for DCA axis 1) shifted across the censuses. For this, we used Generalized Linear Mixed Effects Models (LMM). Plot was used as random factor because of the repeated measures at the same plot.

We, afterwards, evaluated if there are differences between the inventories in the mortality and recruitment rates and in the AGWB of recruitment and mortality through



LMM. Finally, we also assessed potential relationships between the temporal variation of functional composition, community structure/dynamics and phylogenetic diversity with demographic, phylogenetic diversity variation, taxonomic composition shifts and edaphic variables. To do so, we obtained the percentage variation of the CWM of each attribute ( $[(\text{CWM year 2} - \text{CWM year 1}) / \text{CWM year 1}] * 100$ ) and for productivity (AGWB year 2 minus AGWB year 2) as a function of demographic variables (mortality, recruitment, AGWB of dead and AGWB of recruits), species substitution (DCA axis 1 squared distances), edaphic (PC1 and PC2) and variation in phylogenetic diversity ( $\Delta$  ses PD,  $\Delta$  ses MPD and  $\Delta$  ses MNTD, between years). In this case we used linear models (LM).

In the modelling approach we built a global model containing all the variables and dredged it to obtain models with all combinations of a maximum of two variables (due to the reduced number of observations) and which correlate by less than  $|0.6|$ . The models obtained with  $\Delta$  AICc less than or equal to 2 in relation to the best model were submitted to a multi-model inference, using the “model.avg” function of “MuMIn” package (Bartón 2009) to capture the uncertainty of the effects of all predictors on the response variables, so that the coefficients were averaged and significant values were obtained. All variables were worked within the Gaussian distribution family, assuming

the criteria of residual normality (Shapiro-Wilk test) and absence of spatial autocorrelation in the global model by the ncf package correlog function (Bjørnstad 2008).

The variables, together with the analyses used and their functions, are found in a summary table 1.

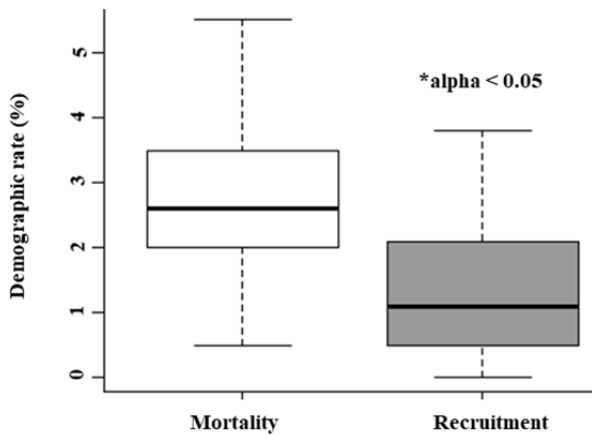
## RESULTS

Overall, a total of 139 species were recorded: 135 species in the first inventory year (2011) and 131 in the second year (2017). In the first measurement, 1304 individuals with a total AGWB of 282.3 Mg (density of 1552 individuals/ha; AGWB of 336.07 Mg/ha) were recorded, whereas in the second measurement, 1189 individuals summing up 281.1 Mg of AGWB (density of 1415 individuals/ha AGWB of 334.64 Mg/ha) were recorded. Mortality was significantly higher than recruitment through the six-year time span (figure 3).

Qualitative differences were identified in terms of the balance between recruitment and mortality for a few species between inventory years – e.g. mortality but no recruitment of *Tachigali rugosa* (Mart. ex Benth.) Zarucchi et Pipoly and *Solanum leucodendron* Sendtn. There were species that disappeared from the community and species that arrived in the community (e.g. *Cyathea delgadii* Sternb). Other species, like *Leandra melastomoides* Raddi, entered the community (table 2). The Procrustes for the nMDS

**Table 1.** Summary table with the variables used and their respective analyses and classification regarding the topic addressed.  
 Resumen de las variables utilizadas y sus respectivos análisis y clasificación con respecto al tema abordado.

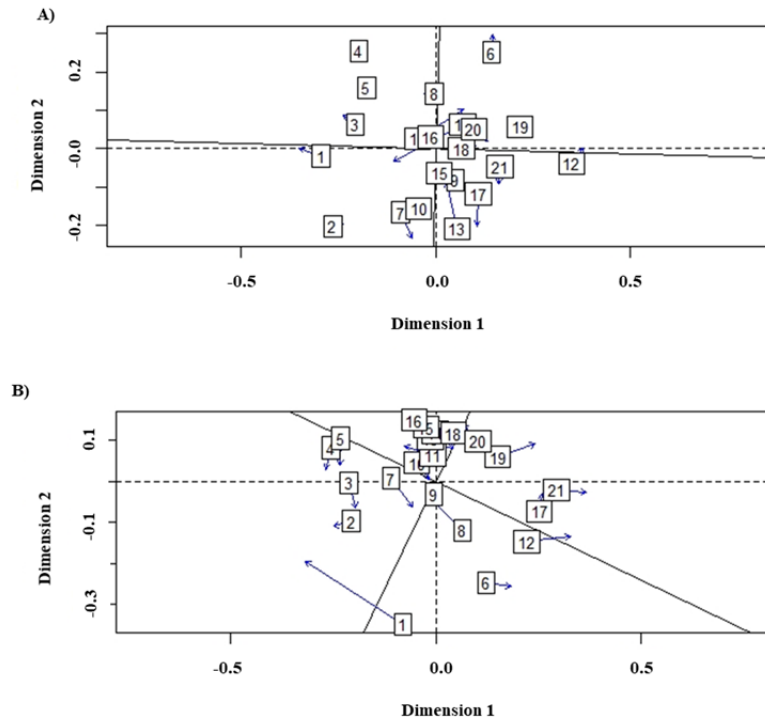
Variables	Abbreviation	Analyses	Classification
Species composition		nMDS; Procrustes and ProTest; DCA	Taxonomic and functional
Soil texture		PC2	Taxonomic
Evolutionary distinctiveness	ED	LMM	Phylogenetic
Community weighted means	Wood density	CWM WD	Functional
	Sprouting intensity	CWM Sprouting	
	Sprouting frequency	CWM Spr Freq	
	Maximum DBH	CWM Max DBH	
	Evolutionary distinctiveness	CWM ED	
Standardized phylogenetic diversity	sesPD	LMM	Phylogenetic
Standardized mean distance of pairs	sesMPD	LMM	Phylogenetic
Standardized average distance from the nearest taxon	sesMNTD	LMM	Phylogenetic
Demographic	Mortality rate		Taxonomic and functional
	Recruitment rate		
	Above-ground woody biomass	AGWB	
	Above-ground woody biomass of dead individuals	AGWBdead	
	Above-ground woody biomass of recruits	AGWBrec	



**Figure 3.** Mortality (%) and recruitment (%) of individuals observed between inventories for the sample units of the upper montane semi-deciduous tropical forest.

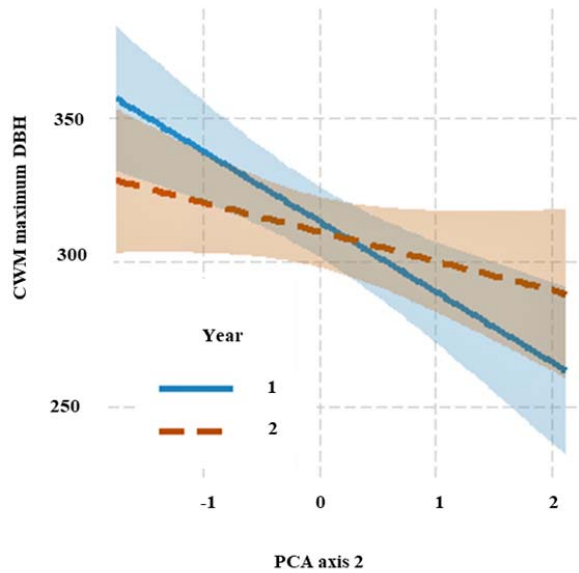
Mortalidad (%) y reclutamiento (%) de individuos observados entre inventarios para las unidades de muestra del bosque tropical montano superior.

and CWM values corroborated these floristic differences (figure 4). The graphical description of the Procrustes and ProTest analyses (figure 4) indicated that there occurred changes in species composition (Procrustes  $m^2 = 0.3618$ ; ProTest 0.7989,  $P < 0.0001$ ) and functional traits (Procrustes  $m^2 = 0.3189$ ; ProTest 0.8253,  $P < 0.0001$ ) of the sample units in the six-year period covered. The DCA axis 1 scores showed significant differences between the communities sampled in 2011 and 2017 ( $P = 0.01$ ), indicating that the taxonomic composition changed in the interval. Both variables related to sprouting differed significantly between censuses (2011 and 2017) and were strongly affected by species composition (DCA axis 1) ( $P < 0.001$  for both). The CWM of maximum diameter showed a significant relationship with soil (PC2) ( $P < 0.001$ ), with decrease in soil effect over this response variable between inventory years (figure 5A). The CWM of evolutionary distinctiveness only displayed significant relationships with the interaction between species composition (DCA axis 1) and year 2, in a way that the effect of species composition on evolutionary distinctiveness CWM increased in the second inventory (figure 5B). This indicates that the evolutionary



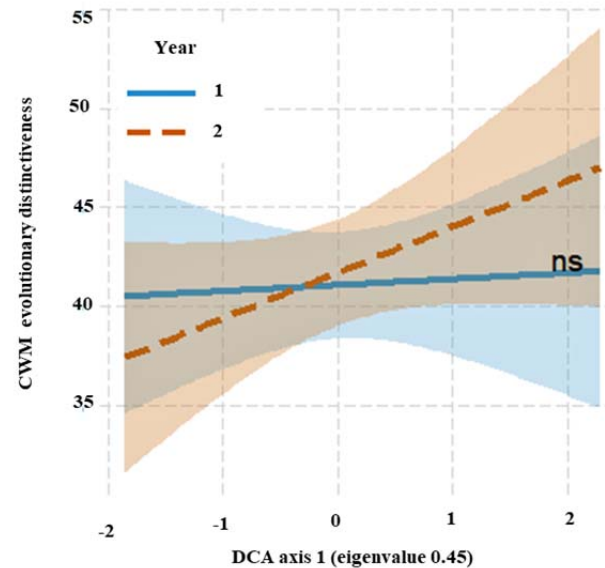
**Figure 4.** Procrustes Graph generated from (A) nMDS results and (B) CWM values. The numbers represent the sample units. The distance between the two inventories is the residual of Procrustes. Longer arrows indicate residuals with higher values (*i.e.* a larger difference in species composition/CWM between a pair of samples). The numbers are equivalent to the plots, the arrows indicate the direction and size of the change.

Gráfico de Procrustes generado a partir de (A) resultados de nMDS y (B) valores de CWM. Los números representan las unidades de muestra. La distancia entre los dos inventarios es el residuo de Procrustes. Las flechas más largas indican residuos con valores más altos (es decir, una diferencia mayor en la composición de especies/CWM entre un par de muestras). Los números son equivalentes a los gráficos, las flechas indican la dirección y el tamaño del cambio.



**Figure 5.** Relationships of temporal shift community-weighted mean (CWM) of: (A) maximum diameter (DBH maximum) with the soil (PC2), (B) evolutionary distinctiveness (ED) with species composition (DCA). The shades are the confidence bands of the fitted lines.

Relaciones del cambio temporal media ponderada por la comunidad (CWM) de: (A) diámetro máximo (DBH máximo) con el suelo (PC2); (B) distinción evolutiva (ED) con la composición de especies (DCA). Las sombras son las bandas de confianza de las líneas ajustadas.



**Figure 6.** Relationships of temporal shift community-weighted mean (CWM) of evolutionary distinctiveness (ED) with species composition (DCA). The shades are the confidence bands of the fitted lines.

Relaciones de cambio temporal ponderadas por la comunidad media (CWM) de distinción evolutiva (ED) con composición de especies (DCA). Las sombras son las bandas de confianza de las líneas ajustadas.

**Table 2.** Table with the floristic balance of the 6-year interval with its respective evolutionary distinction value. Code: ● dead and no recruits. NA-These species did not have their ED calculated due to the name being under review.

Balance florístico del intervalo de seis años con su respectivo valor de distinción evolutiva. Código: ● muertos y sin reclutas. NA: estas especies no tenían su ED calculado debido al nombre que se estaba revisando.

Species	Family	ED	2011	2017
<i>Alchornea glandulosa</i> Poepp. et Endl. ●	Euphorbiaceae	47.51	X	X
<i>Alchornea triplinervia</i> (Spreng.) Müll.Arg.	Euphorbiaceae	47.51	X	X
<i>Allophylus puberulus</i> (Cambess.) Radlk.	Sapindaceae	55.49	X	X
<i>Amaioua intermedia</i> Mart. ex Schult. et Schult.f.	Rubiaceae	59.78	X	X
<i>Annona cacans</i> Warm. ●	Annonaceae	43.40	X	X
<i>Annona emarginata</i> (Schltdl.) H. Rainer	Annonaceae	43.40	X	X
<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze ●	Araucariaceae	325.5	X	X
<i>Aspidosperma australe</i> Müll.Arg.	Apocynaceae	43.99	X	X
<i>Aspidosperma olivaceum</i> Müll.Arg. ●	Apocynaceae	43.99	X	X
<i>Blepharocalyx salicifolius</i> (Kunth) O. Berg	Myrtaceae	33.94	X	X
<i>Byrsonima laxiflora</i> Griseb.	Malpighiaceae	NA	X	X
<i>Cabralea canjerana</i> (Vell.) Mart. ●	Meliaceae	52.82	X	X
<i>Calyptanthes grandiflora</i> O. Berg	Myrtaceae	28.42	X	X
<i>Calyptanthes widgreniana</i> O. Berg ●	Myrtaceae	28.42	X	X
<i>Campomanesia guaviroba</i> (DC.) Kiaersk.	Myrtaceae	27.79	X	X

Continue

Table 2 Continued

<i>Campomanesia guazumifolia</i> (Cambess.) O. Berg ●	Myrtaceae	27.79	X	X
<i>Campomanesia xanthocarpa</i> (Mart.) O. Berg ●	Myrtaceae	27.79	X	X
<i>Casearia decandra</i> Jacq.	Salicaceae	44.79	X	X
<i>Casearia mariquitensis</i> Kunth	Salicaceae	44.79	X	X
<i>Casearia sylvestris</i> Sw.	Salicaceae	44.79	X	X
<i>Cinnamomum glaziovii</i> (Mez) Kosterm.	Lauraceae	19.69	X	X
<i>Clethra scabra</i> Pers. ●	Clethraceae	98.01	X	X
<i>Cyathea delgadii</i> Sternb.	Cyatheaceae	390.70	X	
<i>Cybianthus peruvianus</i> (A.DC.) Miq. ●	Primulaceae	40.61	X	X
<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart. ●	Bignoniaceae	37.18	X	X
<i>Dalbergia frutescens</i> (Vell.) Britton	Fabaceae	73.57	X	X
<i>Daphnopsis coriacea</i> Taub.	Thymelaeaceae	60.35	X	
<i>Daphnopsis utilis</i> Warm.	Thymelaeaceae	60.35	X	X
<i>Dendropanax cuneatus</i> (DC.) Decne. et Planch.	Araliaceae	57.42	X	X
<i>Dictyoloma vandellianum</i> A.Juss.	Rutaceae	74.24	X	X
<i>Diploptropis ferruginea</i> Benth.	Fabaceae	65.50	X	X
<i>Eremanthus erythropappus</i> (DC.) MacLeish ●	Asteraceae	30.92	X	X
<i>Eugenia hiemalis</i> Cambess.	Myrtaceae	31.67	X	X
<i>Eugenia sonderiana</i> O. Berg	Myrtaceae	31.67	X	X
<i>Euplassa legalis</i> (Vell.) I.M.Johnst.	Proteaceae	50.91	X	
<i>Euplassa rufa</i> (Loes.) Sleumer ●	Proteaceae	50.91	X	X
<i>Ficus enormis</i> Mart. ex Miq.	Moraceae	77.84	X	X
<i>Laplacea fruticosa</i> (Schrad.) Kobuski	Theaceae	98.45	X	X
<i>Guapira opposita</i> (Vell.) Reitz ●	Nyctaginaceae	122.00	X	X
<i>Guatteria australis</i> A.St.-Hil. ●	Annonaceae	42.99	X	X
<i>Guatteria villosissima</i> A.St.-Hil.	Annonaceae	42.99	X	X
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	Bignoniaceae	37.18	X	X
<i>Ilex brevicuspis</i> Reissek	Aquifoliaceae	105.70	X	
<i>Jacaranda macrantha</i> Cham.	Bignoniaceae	27.68	X	X
<i>Jacaranda puberula</i> Cham. ●	Bignoniaceae	27.68	X	X
<i>Jacaranda subalpina</i> Morawetz	Bignoniaceae	27.68	X	X
<i>Lamanonia ternata</i> Vell. ●	Cunoniaceae	100.40	X	X
<i>Leandra aurea</i> (Cham.) Cogn. ●	Melastomataceae	15.81	X	X
<i>Leandra melastomoides</i> Raddi	Melastomataceae	16.44		X
<i>Leandra quinquedentata</i> (DC.) Cogn. ●	Melastomataceae	15.81	X	X
<i>Leucochloron incuriale</i> (Vell.) Barneby et J.W.Grimes	Fabaceae	65.65	X	X
<i>Matayba guianensis</i> Aubl. ●	Sapindaceae	55.47	X	X
<i>Maytenus gonoclada</i> Mart.	Celastraceae	45.28	X	X
<i>Maytenus ilicifolia</i> Mart. ex Reissek	Celastraceae	37.89	X	X
<i>Maytenus robustoides</i> Loes.	Celastraceae	45.28	X	X
<i>Maytenus salicifolia</i> Reissek	Celastraceae	37.89		X

Continue



Table 2 Continued

<i>Miconia cabussu</i> Hoehne	Melastomataceae	17.89	X	X
<i>Miconia chartacea</i> Triana ●	Melastomataceae	13.69	X	X
<i>Miconia cinnamomifolia</i> (DC.) Naudin ●	Melastomataceae	15.60	X	X
<i>Miconia corallina</i> Spring	Melastomataceae	13.69	X	
<i>Miconia latecrenata</i> (DC.) Naudin	Melastomataceae	15.60	X	X
<i>Miconia pusilliflora</i> (DC.) Naudin	Melastomataceae	15.56		X
<i>Miconia sellowiana</i> Naudin ●	Melastomataceae	15.56	X	X
<i>Miconia willdenowii</i> Klotzsch ex Naudin	Melastomataceae	13.82	X	X
<i>Mollinedia argyrogyne</i> Perkins	Monimiaceae	108.70	X	X
<i>Myrcia fenzliana</i> O.Berg	Myrtaceae	27.85	X	X
<i>Myrcia guianensis</i> (Aubl.) DC. ●	Myrtaceae	27.43	X	X
<i>Myrcia multiflora</i> (Lam.) DC.	Myrtaceae	27.10	X	X
<i>Myrcia obovata</i> (O.Berg) Nied.	Myrtaceae	27.85	X	X
<i>Myrcia pulchra</i> (O.Berg) Kiaersk.	Myrtaceae	27.12	X	X
<i>Myrcia splendens</i> (Sw.) DC.	Myrtaceae	27.10	X	X
<i>Myrcia venulosa</i> DC.	Myrtaceae	27.85	X	X
<i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd.) O.Berg	Myrtaceae	32.10	X	
<i>Myrsine lineata</i> (Mez) Imkhan.	Primulaceae	39.90	X	X
<i>Myrsine umbellata</i> Mart.	Primulaceae	39.90	X	X
<i>Nectandra grandiflora</i> Nees ●	Lauraceae	14.31	X	X
<i>Nectandra nitidula</i> Nees	Lauraceae	14.31	X	
<i>Nectandra oppositifolia</i> Nees	Lauraceae	14.40	X	X
<i>Ocotea aciphylla</i> (Nees et Mart.) Mez ●	Lauraceae	16.39	X	X
<i>Ocotea corymbosa</i> (Meisn.) Mez	Lauraceae	15.88	X	X
<i>Ocotea diospyrifolia</i> (Meisn.) Mez	Lauraceae	16.36	X	X
<i>Ocotea indecora</i> (Schott) Mez	Lauraceae	16.39	X	X
<i>Ocotea minarum</i> (Nees et Mart.) Mez	Lauraceae	17.14	X	X
<i>Ocotea odorifera</i> (Vell.) Rohwer	Lauraceae	16.62	X	X
<i>Ocotea puberula</i> (Rich.) Nees	Lauraceae	15.73	X	X
<i>Ocotea pulchella</i> (Nees et Mart.) Mez	Lauraceae	15.73	X	X
<i>Ormosia fastigiata</i> Tul. ●	Fabaceae	65.50	X	X
<i>Ouratea floribunda</i> (A.St.-Hil.) Engl. ●	Ochnaceae	98.81	X	X
<i>Pera glabrata</i> (Schott) Poepp. ex Baill.	Peraceae	82.83	X	X
<i>Persea major</i> (Meisn.) L.E.Kopp ●	Lauraceae	23.05	X	X
<i>Persea willdenovii</i> Kosterm.	Lauraceae	23.05	X	X
<i>Pimenta pseudocaryophyllus</i> (Gomes) Landrum	Myrtaceae	30.93	X	X
<i>Piptocarpha axillaris</i> (Less.) Baker ●	Asteraceae	27.36	X	X
<i>Piptocarpha macropoda</i> (DC.) Baker ●	Asteraceae	27.36	X	X
<i>Protium heptaphyllum</i> (Aubl.) Marchand	Burseraceae	34.79	X	X
<i>Protium spruceanum</i> (Benth.) Engl.	Burseraceae	34.79	X	X
<i>Protium widgrenii</i> Engl. ●	Burseraceae	34.79	X	X

Continue

Table 2 Continued

<i>Prunus myrtifolia</i> (L.) Urb.	Rosaceae	106.00	X	X
<i>Psidium rufum</i> Mart. ex DC.	Myrtaceae	33.65	X	X
<i>Psychotria nuda</i> (Cham. et Schltld.) Wawra ●	Rubiaceae	30.47	X	X
<i>Psychotria vellosiana</i> Benth.	Rubiaceae	30.47	X	X
<i>Qualea cryptantha</i> (Spreng.) Warm. ●	Vochysiaceae	47.32	X	X
<i>Annona sylvatica</i> A.St.-Hil.	Annonaceae	46.98	X	X
<i>Roupala rhombifolia</i> Mart. ex Meisn.	Proteaceae	44.46	X	X
<i>Rudgea jasminoides</i> (Cham.) Müll.Arg.	Rubiaceae	31.10	X	X
<i>Rudgea triflora</i> Benth.	Rubiaceae	31.10	X	X
<i>Sapium glandulosum</i> (L.) Morong ●	Euphorbiaceae	48.02	X	X
<i>Sapium haematospermum</i> Müll.Arg. ●	Euphorbiaceae	48.02	X	X
<i>Schefflera calva</i> (Cham.) Frodin et Fiaschi	Araliaceae	57.42	X	X
<i>Senna velutina</i> (Vogel) H.S.Irwin et Barneby	Fabaceae	68.13	X	X
<i>Siphoneugena densiflora</i> O.Berg	Myrtaceae	NA	X	X
<i>Siphoneugena reitzii</i> D.Legrand ●	Myrtaceae	NA	X	X
<i>Siphoneugena crassifolia</i> (DC.) Proença et Sobral	Myrtaceae	NA	X	X
<i>Sloanea hirsuta</i> (Schott) Planch. ex Benth.	Elaeocarpaceae	100.40	X	X
<i>Solanum bullatum</i> Vell.	Solanaceae	31.03	X	X
<i>Solanum caavurana</i> Vell.	Solanaceae	31.03	X	X
<i>Solanum leucodendron</i> Sendtn. ●	Solanaceae	31.03	X	X
<i>Solanum pseudoquina</i> A.St.-Hil.	Solanaceae	31.03	X	X
<i>Sorocea bonplandii</i> (Baill.) W.C.Burger et al.	Moraceae	77.84	X	X
<i>Symplocos celastrinea</i> Mart. ●	Symplocaceae	42.90	X	X
<i>Symplocos insignis</i> Brand	Symplocaceae	51.55	X	X
<i>Symplocos pubescens</i> Klotzsch ex Benth.	Symplocaceae	42.90	X	X
<i>Tachigali rugosa</i> (Mart. ex Benth.) Zarucchi et Pipoly ●	Fabaceae	65.65	X	X
<i>Tapirira guianensis</i> Aubl.	Anacardiaceae	63.98	X	X
<i>Ternstroemia brasiliensis</i> Cambess.	Pentaphylacaceae	103.40	X	X
<i>Toulicia subsquamulata</i> Radlk.	Sapindaceae	NA	X	X
<i>Trichilia casaretti</i> C.DC.	Meliaceae	49.47	X	X
<i>Trichilia catigua</i> A.Juss.	Meliaceae	49.47	X	X
<i>Vantanea compacta</i> (Schnizl.) Cuatrec.	Humiriaceae	106.60	X	X
<i>Vernonanthura discolor</i> (Spreng.) H.Rob. ●	Asteraceae	27.21	X	X
<i>Vernonanthura divaricata</i> (Spreng.) H.Rob. ●	Asteraceae	27.21	X	X
<i>Vismia guianensis</i> (Aubl.) Choisy	Hypericaceae	60.22	X	X
<i>Vismia magnoliifolia</i> Cham. et Schltld.	Hypericaceae	60.22	X	X
<i>Vitex megapotamica</i> (Spreng.) Moldenke	Lamiaceae	57.86	X	X
<i>Vochysia magnifica</i> Warm. ●	Vochysiaceae	34.91	X	X
<i>Vochysia riedeliana</i> Stafleu	Vochysiaceae	34.91	X	X
<i>Vochysia tucanorum</i> Mart.	Vochysiaceae	34.91	X	X
<i>Zanthoxylum fagara</i> (L.) Sarg.	Rutaceae	74.24	X	

distinctiveness of the studied community became more related to the taxonomic groups recorded in the second inventory. Phylogenetic diversity metrics, wood density CWM and AGWB did not show significant relationships with any of the explanatory variables (table 3).

Shifts in wood density CWM were negatively related to shifts in standardized phylogenetic diversity (sesMPD), while both sprouting CWM variables shifted as a function of community composition. Changes in CWM of sprouting intensity were also negatively and significantly related to shifts in standardized phylogenetic diversity and mortality rate. Changes in maximum diameter CWM were positively and significantly related to soil

(PC2) and recruitment rate, whereas changes in evolutionary distinctiveness CWM were positively explained by mortality rate. Productivity was positively explained by AGWB of survivors and negatively explained by AGWB of dead individuals, with the latter displaying more important effects than those produced by survivors' AGWB (figure S2-S5; table S1).

## DISCUSSION

The ability to monitor changes in biodiversity is critical to species conservation and ecosystem management. While emerging technologies increase the breadth and scope of

**Table 3.** Results of the analysis of functional composition temporal variations in relation to the evaluated drivers. The first two columns correspond to the analysis of the existing differences between the inventory years through LMM, with the first one (Between years) giving information on the existence of significant differences through the p-value, and the second presenting the tendency of the variables that varied significantly by the “estimate” value provided by LMM. The third corresponds to an analysis of the variation in the functional composition values ( $\Delta$  CWM) by LMM, with the first presenting the significant explanatory factors and the second (fourth) presenting the estimate values provided by the analysis. \* Significant *P*.

Resultados del análisis de las variaciones temporales de la composición funcional en relación con los controladores evaluados. Las primeras dos columnas corresponden al análisis de las diferencias existentes entre los años de inventario a través del GLMM, la primera (entre años) brinda información sobre la existencia de diferencias significativas a través del valor *p*, y la segunda presenta la tendencia de las variables que variaron significativamente por el valor “estimado” proporcionado por el GLMM. El tercero y el cuarto corresponden a un análisis de la variación en los valores de composición funcional ( $\Delta$  CWM) por GLM, el primero presenta los factores explicativos significativos y el segundo (cuarto) presenta los valores estimados proporcionados por el análisis.

Response	Main driver (s)	Estimate
DCA axis 1	Year 2	-0.05*
CWM WD	none	
CWM Spr Freq	Year 2, DCA axis 1	-0.52**; -1.3***
CWM Sprouting	Year 2, DCA axis 1	-0.81**; -1.9***
CWM Max DBH	PC2, PC2:Year 2	-23***; 13.5**
CWM ED	Year 2:DCA axis 1	1.65*
sesPD	none	
sesMPD	none	
sesMNTD	none	
AGWB	none	
$\Delta$ CWM WD	$\Delta$ sesMPD	-0.86**
$\Delta$ CWM Spr Freq	$\Delta$ DCA axis 1 (squared)	-9.03*
$\Delta$ CWM Sprouting	$\Delta$ DCA axis 1 (squared), $\Delta$ sesMPD, mortality rate	-8*; -7*; -8.3*
$\Delta$ CWM Max DBH	PC2, recruitment rate	3.5**; 3.7**
$\Delta$ CWM ED	mortality rate	4.25**
$\Delta$ AGWB	$\Delta$ AGWB mortality, $\Delta$ AGWB survivals	-1.5***; 0.6***

Note: CWM: Community Weighted Means,  $\Delta$ : temporal variation, WD: Wood Density (g/cm<sup>3</sup>), Spr Freq: Sprouting Frequency (%), Spr Int: Sprouting Intensity, Max DBH: Maximum Diameter at the Breast Height (cm), ED: Evolutionary Distinctiveness, sesPD: Standardized effect size of Phylogenetic diversity, sesMPD: Standardized effect size of mean pairwise distance, sesMNTD: Standardized effect size of mean nearest neighbor distance,  $\Delta$ : delta - difference from first to second year.

Nota: CWM: Medios ponderados de la comunidad;  $\Delta$ : variación temporal; WD: Densidad de madera (g cm<sup>-3</sup>); Frecuencia Spr: Frecuencia de brotación (%); Spr Int: Intensidad de brote; DBH máx.: diámetro máximo a la altura del seno (cm); ED: distinción evolutiva; sesPD: tamaño del efecto estandarizado de la diversidad filogenética; sesMPD: tamaño del efecto estandarizado de la distancia media por pares; sesMNTD: tamaño del efecto estandarizado de la distancia media más cercana al vecino;  $\Delta$ : delta - diferencia de primer a segundo año.

data acquisition, monitoring efforts are still spatially and temporally fragmented, and taxonomically biased. Small changes or a decline in species abundances can lead to a disruption of a community structure and function (Del Vecchio *et al.* 2016). These processes should not be underestimated, as the disappearance of a community can not only occur by the direct elimination of vegetation. Rather, gradual changes in the functional characteristics and species composition of a community may lead to the emergence of a new community in terms of the combination of species and community function (Del Vecchio *et al.* 2016).

Some of the strongest and most significant catalysts of ecological processes are climatic variations (Fine 2015). Although we will not discuss whether and to what extent climate variations across the time span covered by our study were from anthropogenic origin, we raise the possibility of the recorded changes in community aspects (figures 2 and 4) being catalyzed by rainfall variation.

Concerning the changes in floristic composition (table 2), mortality was recorded for 60 species whereas recruitment was recorded for 39 species. Within these mortality- and recruitment-related groups of species, eight species disappeared from the community while three were included. Accordingly, even if local extinction is balanced by immigration, extinction is not random with regard to identity and functional performance, hence changing composition will have important consequences for ecosystem functioning (Hillebrand *et al.* 2017).

We also recorded structural changes, which could be verified through the significant relationship between CWM of maximum diameter and soil texture (PC2), in which the changes in the effect of soil over the vegetation between the inventory years are reaffirmed by variation in CWM of maximum diameter. Communities in sandy soils had a higher reduction in DBH - less water availability contributing to the death of large individuals. Soil texture is an important driver of community structure, influencing species tolerances to habitat conditions (Maia *et al.* 2020). The different responses displayed by the plants to the same environmental variables through the studied period indicate that precipitation fluctuations in the timeframe of this study likely affected the relationship between plants and soil resources by decreasing water availability (Maia *et al.* 2020), demonstrated mainly through the high mortality of large individuals (in terms of DBH).

Still concerning the structural changes, the sample units with highest recruitment rates displayed a decrease in CWM of maximum diameter. A few studies have shown that, when recruitment is high, competition for resources among the individuals cohabiting the community increases, due to less investment in radial growth (Ali and Yan 2017).

Our results emphasize that environmental variation in small spatial and temporal scales can potentially yield significant community changes. For instance, between the first and second inventory years, we found that the

effect of species composition over the CWM of evolutionary distinctiveness increased. Additionally, mortality had a positive effect over the  $\Delta$  CWM of evolutionary distinctiveness in the studied timeframe. This seems that the species in the second inventory (year 2017) are more evolutionarily distinct in the context of the entire community than they were in the first inventory, with more species with high ED in the second inventory (Morelli *et al.* 2018). Therefore, the community is in fact becoming more evolutionarily distant in terms of the species that compose it.

Traits that allow the persistence of species in a certain habitat may increase their fitness, enhancing survival capacity and competitive performance (Bond and Midgley 2001). Sprouting ability can be considered one of these fitness-enhancing traits under stressful conditions (*e.g.* flooding: Araújo *et al.* 2017). The number of sprouts, frequency of sprouting and number of sprouting species all decreased in our study area over time. We thus raise the possibility of precipitation oscillations having caused the death of stems, beyond the death of individuals. Furthermore, we found a negative relationship between sprouting variable and net relatedness (sesMPD), showing that the environment is selecting species with low sprouting ability. This is contradictory with other studies which have suggested that disturbance-adapted species should thrive under environmental oscillations (Solar *et al.* 2015).

An important result to be considered is that the AGWB variation in mortality ( $\Delta$  AGWB mortality) was higher than the variation in survivors ( $\Delta$  AGWB survivors). This shows that the forest community studied here is losing biomass, which can be partly attributed to the mortality of large trees. For instance, *Tachigali rugosa* had the highest biomass loss and did not recruit any individuals in the second inventory year. Other studies have found links between the mortality of large trees and extreme drought events in the Amazon region, being mainly attributed to the mechanisms of hydraulic failure from embolism (see Phillips *et al.* 2009).

In addition, other causes that may have contributed to the biomass decrease recorded here were changes in wood density. There was an increase in the number of species with low wood density in the sample units where sesMPD values also decreased. The increase in the number of lower wood density species recorded by us suggests that the opening of gaps by the death of large-stemmed individuals likely favored the colonization of fast-growth species (Plas *et al.* 2016). This could mean that: (i) the beginning of the community homogenization process has been recorded, derived from both the increase in the number of colonizing species and the simultaneous death of large trees, moreover (ii) high density wood species are more drought tolerant, therefore, given the predictions of the future scenario in which long periods of drought may occur (Gloor *et al.* 2015), species with low wood density will be the first to be eliminated.



## CONCLUSIONS

The search for protection and monitoring of biodiversity is a worldwide concern (including goals to be achieved this year) and studies like ours, about the short term changes of a forest community, not only contribute to a better current understanding of the functioning of forests, but also better capture the possible transformations that the forest community is going through. We verified this through the quantitative changes in the measured parameters (e.g. density wood, biomass), qualitative with regard to the taxonomic composition, consequently generating a change in the phylogenetic and functional structure of the community. We were also able to detect a substitution of species with lower wood density, a species disappearance (we highlight the species *Tachigali rugosa*, large-stemmed ones and canopy species). All these changes are seen as indications that the community is taking on a new form, which may cause changes in its functioning. What we want to highlight here is that a monitoring study in a short period may indicate the direction in which the community is moving.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors would like to thank CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), FAPEMIG (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais) and CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) for granting scholarships for authors and funding research. And the RPPN Altomontana for allowing access to data collection and sheltering the team during the collection period.

## REFERENCES

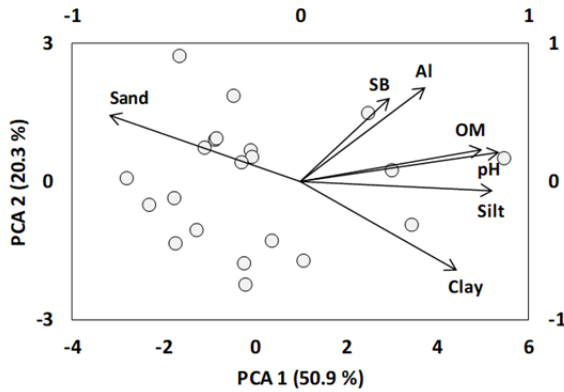
- Ali A, ER Yan. 2017. Functional identity of overstorey tree height and understory conservative traits drive aboveground biomass in a subtropical forest. *Ecological Indicators* 83: 158-168. DOI: [10.1016/j.ecolind.2017.07.054](https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.07.054)
- Araújo FC, CN Mendes, GG Pires, GCO Menino, MA Fontes, RM Santos. 2017. Adaptive strategy of tree communities on an environmental harshness hinterland inselberg in Minas Gerais, Brazil. *Australian Journal of Botany* 65: 463-470. DOI: [10.1071/BT16252](https://doi.org/10.1071/BT16252)
- Barton K. 2011. MuMIn: Multi-Model Inference. R Package Version 1.42.1. Available in <http://cran.r-project.org/package=MuMIn>
- Becker G, D Rodriguez, KR Zamudio. 2013. The Brazilian Adirondacks? *Science* 340: 428. DOI: [10.1126/science.340.6131.428-a](https://doi.org/10.1126/science.340.6131.428-a)
- Björnstad ON. 2018. ncf: Spatial Covariance Functions. R package version 1.2-6. Available in <https://cran.r-project.org/package=ncf>
- Bond WJ, J Midgley. 2001. Ecology of sprouting in woody plants: the persistence niche. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 45-51. DOI: [10.1016/S0169-5347\(00\)02033-4](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(00)02033-4)
- Chapin III FSI, ES Zavaleta, VT Eviner, RL Naylor, PM Vitousek, HL Reynolds, DU Hooper, S Lavorel, OE Sala, SE Hobbie, MC Mack, V Díaz. 2000. Consequences of changing biodiversity. *Nature* 405: 234-242. DOI: [10.1038/35012241](https://doi.org/10.1038/35012241)
- Chave J, D Coomes, S Jansen, SL Lewis, NG Swenson, AE Zanne. 2009. Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* 12: 351-366. DOI: [10.1111/j.1461-0248.2009.01285.x](https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2009.01285.x)
- Del Vecchio S, A Slaviero, E Fantinato, G Buffa. 2016. The use of plant community attributes to detect habitat quality in coastal environments. *AoB PLANTS* 8: plw040. DOI: <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw040>
- Edwards DP, RM Massam, T Haugaasen, J Gilroy. 2017. Tropical secondary forest regeneration conserves high levels of avian phylogenetic diversity. *Biological Conservation* 209: 432-439. DOI: [10.1016/j.biocon.2017.03.006](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.03.006)
- Esquivel-Muelbert A, D Galbraith, KG Dexter, TR Baker, SLLewis, P Meir, L Rowland, ACL Costa, D Nepstad, O Phillips. 2017. Biogeographic distributions of neotropical trees reflect their directly measured drought tolerances. *Scientific Reports* 7: 8334. DOI: [10.1038/s41598-017-08105-8](https://doi.org/10.1038/s41598-017-08105-8)
- Fine PVA. 2015. Ecological and Evolutionary Drivers of Geographic Variation in Species Diversity. *The Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 46: 369-392. DOI: [10.1146/annurev-ecolsys-112414-054102](https://doi.org/10.1146/annurev-ecolsys-112414-054102)
- Gloor M, J Barichivich, G Ziv, R Brienen, J Schöngart, P Peyllin, BBarcanteLadvoat Cintra, T Feldpausch, O Phillips, J Baker. 2015. Recent Amazon climate as background for possible ongoing and future changes of Amazon humid forests. *Global Biogeochemical Cycles* 29: 1384-1399. DOI: [10.1002/2014GB005080](https://doi.org/10.1002/2014GB005080)
- Hillebrand H, B Blasius, ET Borer, JM Chase, JA Downing, BK Eriksson, CT Filstrup, WS Harpole, D Hodapp, S Larsen, AM Lewandowska, EW Seabloom, DB Van de Waal, AB Ryabov. 2018. Biodiversity change is uncoupled from species richness trends: for conservation and monitoring. *Journal of Applied Ecology* 55: 169-184. DOI: [10.1111/1365-2664.12959](https://doi.org/10.1111/1365-2664.12959)
- Humphreys AM, R Govaerts, SZ Ficinsk, EN Lughadha, MS Vorontsova. 2019. Global dataset shows geography and life form predict modern plant extinction and rediscovery. *Nature Ecology & Evolution* 3: 1043-1047. DOI: [10.1038/s41559-019-0906-2](https://doi.org/10.1038/s41559-019-0906-2)
- Morelli F, AP MÖLLER. 2018. Pattern of evolutionarily distinct species among four classes of animals and their conservation status: a comparison using evolutionary distinctiveness scores. *Biodiversity and Conservation* 27: 381-394. DOI: [10.1007/s10531-017-1441-6](https://doi.org/10.1007/s10531-017-1441-6)
- Navarro LM, N Fernández, C Guerra, R Guralnick, WD Kissling, MC Londono, F Muller-Karger, E Turak, P Balnavera, M Costello, A Delavaud, G Serafý, S Ferrier, I Geijzen-dorffer, GN Geller, W Jetz, E-S Kim, H Kim, C Martin, M McGeoch, TH Mwampamba, JL Nel, E Nicholson, N Pettorelli, M Schaepman, A Skidmore, IS Pinto, S Vergara, P Vihervaara, H Xu, T Yahara, M Gill, H Pereira. 2017. Monitoring biodiversity change through effective global coordination. *Current Opinion in Environmental Sustainability* 29: 158-169. DOI: [10.1016/j.cosust.2018.02.005](https://doi.org/10.1016/j.cosust.2018.02.005)
- Oksanen JF, Blanchet G, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solyomos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H. 2017. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-0.

- Available in <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oliveira-Filho AT. 2009. Classificação das fitofisionomias da América do Sul cisandina tropical e subtropical: proposta de um novo sistema – prático e flexível – ou uma injeção a mais de caos? *Rodriguésia* 60: 237-258. DOI: [10.1590/2175-7860200960201](https://doi.org/10.1590/2175-7860200960201)
- Plas F, P Manning, S Soliveres, E Allan, M Scherer-Lorenzen, K Verheyen, C Wirth, MA Zavala, E Ampoorter, L Baeten, L Barbaro, J Bauhus, R Benavides, A Benneter, D Bonal, O Bouriaud, H Bruelheide, F Bussotti, M Carnol, B Castagnyrol, Y Charbonnier, Y David, A Coomes, A Coppi, CC Bastias, SM Dawud, H Wandeler, T Domisch, L Finér, A Gessler, A Granier, C Grossiord, V Guyot, S Hättenschwiler, H Jactel, B Jaroszewicz, FX Joly, T Jucker, J Koricheva, H Milligan, S Mueller, B Muys, D Nguyen, M Pollastrini, S Ratcliffé, K Raulund-Rasmussen, F Selvi, J Stenlid, F Valladares, L Vesterdal, D Zielinski, M Fischer. 2016. Biotic homogenization can decrease landscape-scale forest multifunctionality. *PNAS* 13: 3557-3562. DOI: [10.1073/pnas.1517903113](https://doi.org/10.1073/pnas.1517903113)
- Phillips OL, L Aragão, SL Lewis, JB Fisher, J Lloyd, G López-González, Y Malhi, A Monteagudo, J Peacock, CA Quesada, G van der Heijden, S Almeida, I Amaral, L Arroyo, G Aymard, TR Baker, O Bánki, L Blanc, D Bonal, P Brando, J Chave, ACA Oliveira, ND Cardozo, CI Czimczik, TR Feldpausch, MA Freitas, E Gloor, N Higuchi, E Jiménez, G Lloyd, P Meir, C Mendoza, A Morel, DA Neill, D Nepstad, S Patiño, MC Peñuela, A Prieto, F Ramirez, M Schwarz, J Silva, M Silveira, AS Thomas, H terSteege, J Stropp, R Vásquez, P Zelazowski, EA Dávila, S Andelman, A Andrade, KJ Chao, T Erwin, A Di Fiore, EC Honorio, H Keeling, TJ Killeen, WF Laurance, AP Cruz, NCA Pitman, PN Vargas, H Ramirez-Angulo, A Rudas, R Salamão, N Silva, J Terborgh, A Torres-Lezama. 2009. Drought sensitivity of the Amazon rainforest. *Science* 323: 1344-1347. DOI: [10.1126/science.1164033](https://doi.org/10.1126/science.1164033)
- Poorter L, MT Van Der Sande, J Thompson, EJMM Arets, A Alarcón, J Álvarez-Sánchez, N Ascarrunz, P Balvanera, B Barajas-Guzmán, A Boit, F Bongers, FA Carvalho, F Casanoves, Cornejo-G Tenorio, FRC Costa, CV de Castilho, JF Duivenvoorden, LP Dutrieux, BJ Enquist, F Fernández-Méndez, B Finegan, LHL Gormley, JR Healey, MR Hoosbeek, G Ibarra-Manríquez, AB Junqueira, C Levis, JC Licona, LS Lisboa, WE Magnusson, M Martínez-Ramos, A Martínez-Yrizar, LG Martorano, LC Maskell, L Mazzei, JA Meave, F Mora, R Muñoz, C Nytech, MP Pansonato, TW Parr, H Paz, EA Pérez-García, LY Rentería, J Rodríguez-Velazquez, DMA Rozendaal, AR Ruschel, B Sakschewski, B Salgado-Negret, J Schiatti, M Simões, FL Sinclair, PF Souza, FC Souza, J Stropp, H terSteege, NG Swenson, K Thonicke, M Toledo, M Uriarte, P van der Hout, P Walker, N Zamora, M Peña-Claros. 2015. Diversity enhances carbon storage in tropical forests. *Global Ecology Biogeography* 24: 1314-1328. DOI: [10.1111/geb.12364](https://doi.org/10.1111/geb.12364)
- Poorter L, Van Der Sande MT, Arets EJMM, Scarrunz NA, Enquist BJ, Finegan B, Licona JC, Martínez-Ramos M, Mazzei L, Meave JA, Muñoz R, Nytech CJ, Oliveira AA, Pérez-García EA, Prado-Junior P, Rodríguez-Velázquez J, Ruschel AR, Salgado-Negret B, Schiavini I, Swenson NG, Tenorio EA, Thompson J, Toledo M, Uriarte M, van der Hout P, Zimmerman JK, Peña-Claros M. 2017. Biodiversity and climate determine the functioning of Neotropical forests. *Global Ecology and Biogeography* 26: 1423-1434. DOI: [10.1111/geb.12668](https://doi.org/10.1111/geb.12668)
- Pulla S, J Riotte, HS Suresh, HS Dattaraja, R Sukumar. 2016. Controls of Soil Spatial Variability in a Dry Tropical Forest. *PLoS ONE* 11(4): e0153212. DOI: [10.1371/journal.pone.0153212](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0153212)
- R Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available in <https://www.R-project.org/>
- Rejou-Mechain M, Tanguy A, Piponiot C, Chave J, Herault B. 2017. BIOMASS: an R package for estimating above-ground biomass and its uncertainty in tropical forests. *Methods in Ecology and Evolution* 8(9). DOI: [10.1111/2041-210X.12753](https://doi.org/10.1111/2041-210X.12753)
- Ribeiro MC, JP Metzger, AC Martensen, F Ponzoni, M Hirota. 2009. Brazilian Atlantic forest: how much is left, and how is the remaining forest distributed? Implications for conservation. *Biological Conservation* 142: 1141-1153. DOI: [10.1016/j.biocon.2009.02.021](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2009.02.021)
- Sheil D, DFRP Burslem, D Alder. 1995. The Interpretation and misinterpretation of mortality rate measures. *Journal of Ecology* 83: 331-333. DOI: [10.2307/2261571](https://doi.org/10.2307/2261571)
- Solar RRC, J Barlow, J Ferreira, E Berenguer, AC Lees, JR Thomson, J Louzada, M Maués, NG Moura, VHF Oliveira, JCM Chaul, JH Schoereder, IGC Vieira, RM Nally, TA Gardner. 2015. How pervasive is biotic homogenization in human-modified tropical forest landscapes? *Ecology Letter* 18: 1108-1118. DOI: [10.1111/ele.12494](https://doi.org/10.1111/ele.12494)
- Tsirogiannis C, B Sandel. 2016. PhyloMeasures: a package for computing phylogenetic biodiversity measures and their statistical moments. *Ecography* 39: 709-714. DOI: [10.1111/ecog.01814](https://doi.org/10.1111/ecog.01814)

Recibido: 15/04/20

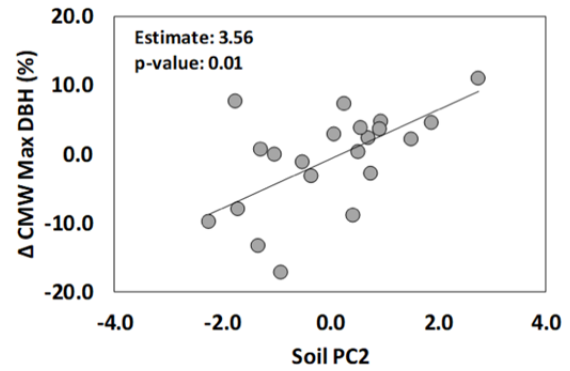
Aceptado: 23/06/20

SUPPLEMENTARY MATERIAL



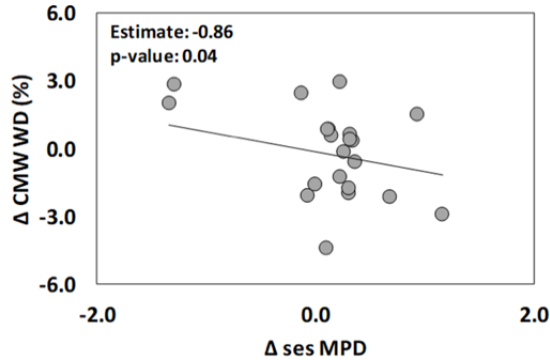
**Figure S1.** Principal Components Analysis (PCA) for edaphic variables of fertility and texture for the sample units of the Uppermontane Semideciduous Tropical Forest sampled. Note: Al: Aluminum; SB: Sum of Bases; OM: Organic Matter; pH: pH in water; Silt: proportion of Silt; Sand: proportion of Sand; Clay: proportion of Clay.

Análisis de Componentes Principales (PCA) para variables edáficas de fertilidad y textura para las unidades de muestra del Bosque Tropical Semidecíduo Uppermontane muestreado. Nota: Al: aluminio; SB: Suma de bases; OM: materia orgánica; pH: pH en agua; Limo: proporción de Limo; Arena: proporción de arena; Arcilla: proporción de arcilla.



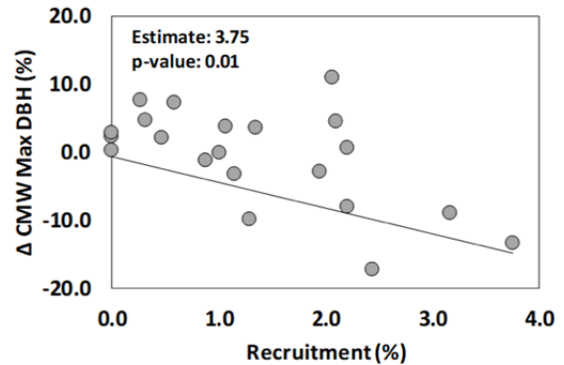
**Figure S3.** Relation between the Temporal Variation ( $\Delta$ ) of the Maximum Diameter at the Breast Height Community Weighted Means (%) and the Second axis of the Soil Principal Component Analysis (Soil PC2) for the sample units of the Upper montane Semi-deciduous Tropical Forest.

Relación entre la variación temporal ( $\Delta$ ) del diámetro máximo en la media ponderada de la comunidad de la altura del seno (%) y el segundo eje del análisis de componentes principales del suelo (PC2 del suelo) para las unidades de muestra del semi-caducifolio montano superior Bosque tropical.



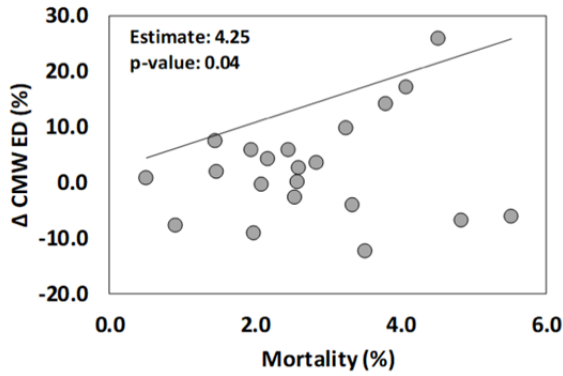
**Figure S2.** Relation between the Temporal Variation ( $\Delta$ ) of the Wood Density Community Weighted Means (%) and the Standardized effect size of mean pairwise distance (sesMPD) for the sample units of the Upper montane Semi-deciduous Tropical Forest.

Relación entre la variación temporal ( $\Delta$ ) de las medias ponderadas por la comunidad de densidad de madera (%) y el tamaño del efecto estandarizado de la distancia media por pares (sesMPD) para las unidades de muestra del bosque tropical semi-caducifolio montano superior.



**Figure S4.** Relation between the Temporal Variation ( $\Delta$ ) of the Maximum Diameter at the Breast Height Community Weighted Means (%) and the Recruitment Rate for the sample units of the Upper montane Semi-deciduous Tropical Forest.

Relación entre la variación temporal ( $\Delta$ ) del diámetro máximo en la media ponderada comunitaria de la altura del seno (%) y la tasa de reclutamiento para las unidades de muestra del bosque tropical semi-decíduo montano superior.



**Figure S5.** Relation between the Temporal Variation ( $\Delta$ ) of the Evolutionary Distinctiveness Community Weighted Means (%) and the Mortality Rate for the sample units of the Upper montane Semi-deciduous Tropical Forest.

Relación entre la variación temporal ( $\Delta$ ) de las medias ponderadas por la comunidad de distinción evolutiva (%) y la tasa de mortalidad para las unidades de muestra del bosque tropical semidecaducifolio montano superior.

**Table S1.** Balance of  $\Delta$ AGB for the two inventories of the seven species with the highest VI.

Balance de  $\Delta$ AGB para los dos inventarios de las siete especies con el VI más alto.

Species	Year 1		Species	Year 2	
	AGB	$\Delta$ AGBmort		AGB	$\Delta$ AGBmort
<i>Rudgeajasmínoides</i>	13.14458	0.3137912	<i>Rudgeajasmínoides</i>	11.22698	0.002443
<i>Tachigali rugosa</i>	46.84067	1.8886353	<i>Alchorneatriplinervia</i>	23.07527	0.005138
<i>Alchorneatriplinervia</i>	21.69688	0.372533	<i>Tachigali rugosa</i>	39.1154	0
<i>Solanum leucodendron</i>	4.15601	0.4826296	<i>Rudgeatriflora</i>	2.107696	0.000583
<i>Rudgeatriflora</i>	1.918495	0.0056534	<i>Amaioua intermedia</i>	5.053149	0.002291
<i>Guatteria villosissima</i>	6.484367	0.1229875	<i>Solanum leucodendron</i>	0.956283	0
<i>Siphoneugenadensiflora</i>	5.659164	0.0255838	<i>Siphoneugenadensiflora</i>	6.194287	0.001721



## Áreas potenciales para establecer Unidades Productoras de Germoplasma Forestal con dos variedades de *Pinus pseudostrabus* en México

Potential areas to establish Forest Germplasm Production Units with two varieties of *Pinus pseudostrabus* in Mexico

Rubén Barrera Ramírez <sup>a</sup>, Rigoberto González Cubas <sup>a</sup>, Eduardo Javier Treviño Garza <sup>a\*</sup>,  
Benedicto Vargas Larreta <sup>b</sup>, Ricardo López Aguillón <sup>a</sup>

\*Autor de correspondencia: <sup>a</sup>Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Forestales, Carretera Nacional km 145, s/n Linares, Nuevo León, México, C.P. 67700, tel.: (01) 8212140000 ext. 111, eduardo.trevinogr@uanl.edu.mx

<sup>b</sup>Instituto Tecnológico de El Salto, El Salto, Pueblo Nuevo, Durango, México.

### SUMMARY

Areas with potential to establish Forest Germplasm Production Units (UPGF) with two varieties of *P. pseudostrabus* were determined. The objectives were (1) to model the current potential distribution of *Pinus pseudostrabus* var. *pseudostrabus* and *P. pseudostrabus* var. *apulcensis* using MaxEnt algorithms, and (2) to propose areas to locate the best individuals and establish UPGF in Michoacán and Oaxaca, Mexico. For these purposes, 2,451 data of presence obtained from own field records, Forest Biometric System, Global Biodiversity Information Facility and MEXU National Herbarium were used, as well as 19 predictor variables. The 75 % of the records were used for training and 25 % in validation. The adjustment and predictive capacity of ten models was evaluated; eight with 1,000 interactions and two with 500 were evaluated through precision tests of AUC (Area Under the Curve), ROC-standard (Receiver Operating Characteristics) and partial ROC. The models indicated that the two varieties present similar zones of potential distribution in a portion of the Neovolcanic Axis and Sierra Madre del Sur. The environmental variables with the most important contribution to the model for the *pseudostrabus* variety were those related to temperature; and for the *apulcensis* variety, temperature and precipitation. The establishment of UPGF can be carried out in areas of optimal growth; in addition, the data generated allow reducing the time and cost for the selection of the best individuals to be included in genetic improvement programs.

*Key words:* Optimal areas, potential distribution, Michoacan and Oaxaca, UPGF, varieties of *Pinus pseudostrabus*.

### RESUMEN

Se determinaron áreas con potencial para establecer Unidades Productoras de Germoplasma Forestal (UPGF) con dos variedades de *P. pseudostrabus*. Los objetivos fueron (1) modelar la distribución potencial actual de *Pinus pseudostrabus* var. *pseudostrabus* y *P. pseudostrabus* var. *apulcensis* utilizando algoritmos de MaxEnt y (2) proponer áreas para localizar los mejores individuos y establecer UPGF en Michoacán y Oaxaca, México. Se utilizaron 2.451 datos de presencia obtenidos de registros propios en campo, Sistema Biométrico Forestal, Global Biodiversity Information Facility y del Herbario Nacional MEXU, así como 19 variables predictoras. El 75 % de los registros se utilizaron para el entrenamiento y 25 % en la validación. Se evaluó el ajuste y capacidad predictiva de diez modelos, ocho con 1.000 interacciones y dos con 500, a través de pruebas de precisión de AUC (Area Under the Curve), ROC-estándar (Receiver Operating Characteristics) y ROC-parcial. Los modelos indicaron que las dos variedades presentan zonas similares de distribución potencial en una porción del Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur, las variables ambientales con mayor contribución al modelo para la variedad *pseudostrabus* fueron las relacionadas con la temperatura, y para la variedad *apulcensis* temperatura y precipitación. El establecimiento de UPGF se puede realizar en zonas de crecimiento óptimo, además los datos generados permiten reducir el tiempo y costo para la selección de mejores individuos para ser incluidos en programas de mejoramiento genético.

*Palabras clave:* áreas óptimas, distribución potencial, Michoacán y Oaxaca, UPGF, variedades de *P. pseudostrabus*.

### INTRODUCCIÓN

Las plantaciones forestales permiten solucionar problemas de baja productividad forestal, también permiten restaurar suelos forestales degradados. Un factor clave del éxito de las plantaciones es la producción y manejo de se-

millas de calidad (Zobel y Talbert 1988). A nivel mundial, las especies del género *Pinus* son de las más utilizadas en el establecimiento de plantaciones forestales comerciales (PFC) debido a su alta rentabilidad económica y comercial, además de su capacidad de adaptación a distintas condiciones de sitio (FAO 2018). En México existen 49 de las

120 especies reportadas para este género (Farjon y Styles 1997). Debido a la gran diversidad climática, topográfica y biológica del país es importante la elección de la especie y la variedad correcta para establecer PFC (Viveros Viveros *et al.* 2006). La selección adecuada del material genético recolectado aumenta la supervivencia y producción de las plantaciones (Flores *et al.* 2019). Sin embargo, los programas de plantaciones forestales comerciales en México utilizan fuentes de semillas en las que no se considera la calidad genética o el origen de los individuos (Castellanos Acuña *et al.* 2018). Desde su publicación en 2016, la Norma Mexicana NMXAA-169-SCFI-2016 (Secretaría de Economía 2016) especifica los requerimientos para el establecimiento y manejo de Unidades Productoras de Germoplasma Forestal (UPGF).

La selección de los mejores árboles es una actividad costosa y difícil de realizar (Reynoso *et al.* 2017), ya que los mayores costos se presentan durante su localización. Una manera de abatirlos es focalizar UPGF más pequeñas a través de diferentes herramientas de apoyo y planificación como los modelos de distribución potencial de especies. Dichos modelos son capaces de predecir la presencia de una especie en función de variables ambientales (Soberón 2010, Aguirre Gutiérrez *et al.* 2015) y se basan principalmente en correlaciones entre registros de presencia conocidos y sus condiciones ambientales específicas (Osorio Olvera *et al.* 2016). Para modelar la distribución de especies se han desarrollado diferentes técnicas basadas en algoritmos (Singh *et al.* 2018), siendo el modelo de máxima entropía (MaxEnt) el más aceptado (Radosavljevic y Anderson 2014). Este algoritmo estima la distribución de probabilidad de menor sesgo que minimiza la información, sujeta a un conjunto de restricciones basadas en el conocimiento de las condiciones ambientales en los sitios de presencia de una especie (Radosavljevic y Anderson 2014). También hace referencia al diagrama BAM, el cual esquematiza el área de distribución de la especie en determinado tiempo como resultado de una combinación de variables bióticas (B), ambientales (A) y el área de distribución que la especie ha podido alcanzar durante un periodo de tiempo relevante (M) (Soberón 2010).

En este estudio se aplicaron modelos de distribución potencial de especies para *Pinus pseudostrabus* Lindl. var. *pseudostrabus* y *Pinus pseudostrabus* var. *apulcensis* Martínez (sinonimia de *P. pseudostrabus* var. *oaxacana* Martínez; *P. oaxacana* Mirov). Estas variedades son utilizadas para el establecimiento de plantaciones forestales comerciales debido a su rentabilidad, la calidad de sus productos y su demanda comercial e industrialización (Perry 1991, Farjon y Styles 1997) en los estados de Michoacán y Oaxaca. Sin embargo, existen pocos trabajos relativos a la conservación y regularización del uso de su germoplasma, por lo que los objetivos son (1) modelar la distribución potencial actual de *P. pseudostrabus* var. *pseudostrabus* y *P. pseudostrabus* var. *apulcensis* y (2) proponer áreas para localizar los mejores individuos y establecer UPGF en dos

de los estados de mayor producción forestal de la región centro-sur de México.

## MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en bosques templados de los estados de Michoacán y Oaxaca, México, dos de las entidades con mayor producción forestal en la región centro y sur del país (figura 1).

Estas entidades se encuentran en una porción del Eje Neovolcánico y Sierra Madre del Sur donde la variedad *pseudostrabus* y variedad *apulcensis* crecen naturalmente (Farjon y Styles 1997). Los requerimientos agroecológicos de las variedades seleccionadas se obtuvieron del análisis de la información que se presenta en el Inventario Nacional Forestal y de Suelos (CONAFOR 2019), y del mapa de climas del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI 2008) con el que se determinó la precipitación y temperatura promedio (cuadro 1).

*Obtención de los datos de presencia.* Los registros de presencia de cada una de las variedades fueron obtenidos en dos fases.

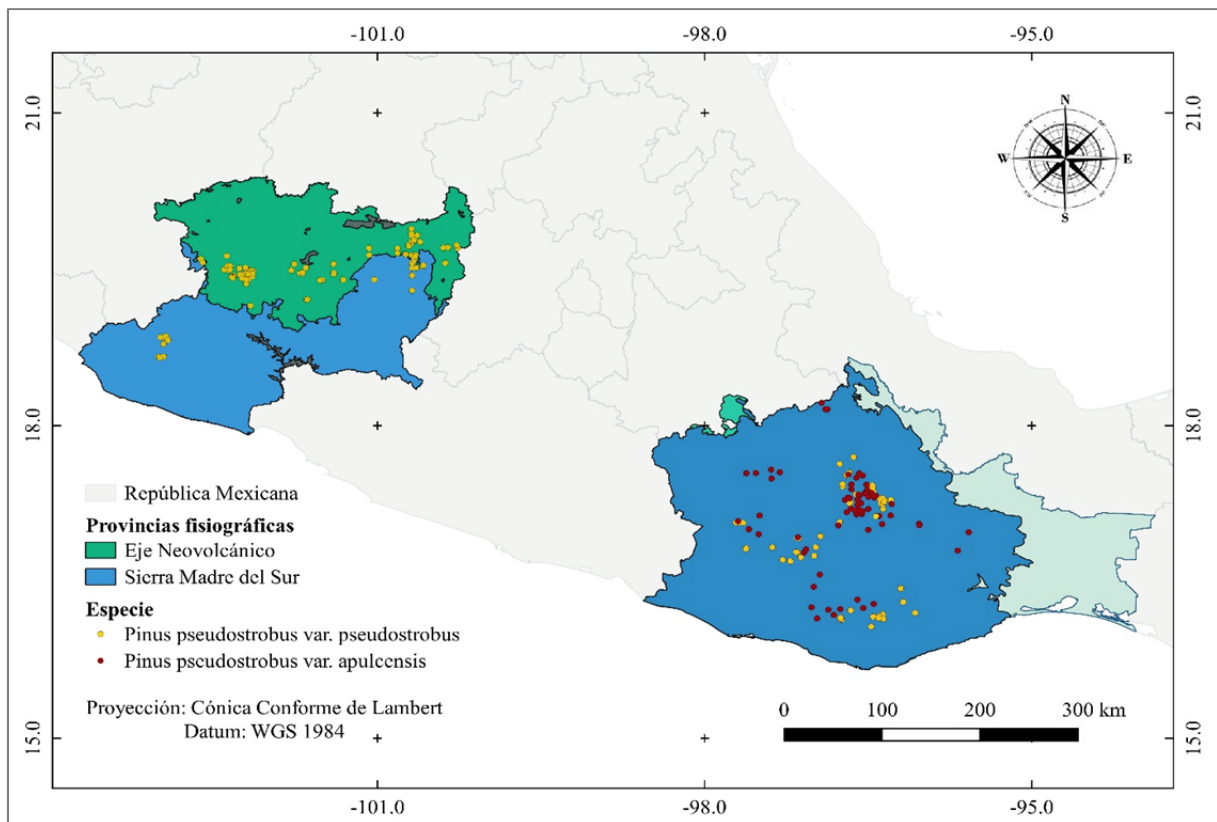
Fase 1: para obtener la distribución potencial actual de la especie, se incluyeron los registros de presencia en las Unidades de Manejo Forestal (UMAFOR) obtenidos del inventario del Sistema Biométrico Forestal para el manejo de bosques templados y selvas de México (SiBiFor) para los estados de Michoacán y Oaxaca. Para complementar la base de datos, también se obtuvieron registros del Herbario Nacional (MEXU) del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM 2019) y del portal *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF 2019) que incluye datos de herbarios de todo el mundo (periodo no mayor a 50 años).

Fase 2: para determinar las áreas con potencial óptimo de selección de los mejores individuos, y para establecer UPGF, se utilizaron datos de registros propios en campo obtenidos de 2014 a 2018 que corresponden a árboles superiores (árbol con características fenotípicas deseables) seleccionados a través del método de comparación entre vecinos, propuesto por Zobel y Talbert (1988). Este método consiste en elegir un árbol candidato a superior para compararlo cualitativa y cuantitativamente con árboles testigos (tres a cinco árboles de la misma especie que crecen en las mismas condiciones de sitio) y que finalmente son dictaminados como árboles superiores. Se obtuvieron 2.217 registros georreferenciados en campo (2.100 para *P. pseudostrabus* var. *pseudostrabus* y 117 de la var. *apulcensis*), y de las fuentes consultadas (MEXU y GBIF) 234 registros (154 para *P. pseudostrabus* var. *pseudostrabus* y 80 de *P. pseudostrabus* var. *apulcensis*); en total se incluyeron 2.451 registros.

Los registros se depuraron en varias fases antes de iniciar la modelación. Primero, se eliminaron datos repetidos,

mal georreferenciados y cuya identidad taxonómica hasta especie estaba en duda. Posteriormente, con el programa NicheToolBox de la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (Osorio Olvera *et al.* 2016), se excluyeron todos los valores atípicos geográficos y atípicos climáticos, es decir, donde se reportó la especie, pero se encontró fuera de su distribución natural. Finalmente, para evitar problemas de “sobremodelación” los puntos de presencia se depuraron y se dejó solo un registro por celda (1 km<sup>2</sup>).

*Variables predictoras.* La construcción del modelo se realizó con 19 variables bioclimáticas descargadas de la plataforma del Centro de Recursos Idrisi-México de la Universidad Autónoma del Estado de México (CRI-UAE-Méx) (Cuervo Robayo *et al.* 2014), las cuales representan el comportamiento climático promedio en México para los años 1910–2009, con resolución espacial de 30 segundos de arco (1 km<sup>2</sup>). Para evitar sobreajuste del modelo (Peterson *et al.* 2011), se realizó un análisis de correlación de Pearson entre cada uno de los valores puntuales de las 19



**Figura 1.** Distribución natural de *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis* en Michoacán y Oaxaca, México. Fuente: Elaboración propia con datos de INEGI, registros propios y del Sistema Biométrico Forestal.

Natural distribution of *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* and *P. pseudostrobus* var. *apulcensis* in Michoacan and Oaxaca, Mexico. Source: Own elaboration with data from INEGI, own records and from Forest Biometric System.

**Cuadro 1.** Requerimientos agroecológicos de *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*.

Agroecological requirements of *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* and *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*.

Especie	Altitud (m snm)	Precipitación anual total (mm)	Temperatura media anual (°C)	pH del suelo	Textura del suelo (Clase)	Profundidad del suelo (m)
<i>P. pseudostrobus</i> var. <i>pseudostrobus</i>	1.650 a 3.300	1.000 a 1.400	12-18	5 a 6,5	Gruesa / media	1 a 3
<i>P. pseudostrobus</i> var. <i>apulcensis</i>	1.400 a 3.200	800 a 1.400	12-20	4,5 a 7	Gruesa / media	0,5 a 3

capas bioclimáticas. Se eliminaron las variables que mostraron alta multicolinealidad (debido a que presentan relaciones aproximadamente lineales entre los regresores del modelo, cuando los estimadores obtenidos y la precisión de estos se ven seriamente afectados) y se conservaron solo aquellas variables que maximizan la contribución al modelo; el análisis se llevó a cabo mediante el programa Statistica ver. 13.0.

Además, se incluyeron variables del sitio como: pendiente (%), exposición (°) y altitud (m) obtenidas del Modelo Digital de Elevación del Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI 2019). Para que los mapas coincidieran con las fuentes de Worldclim (Worldclim 2019), en los complementos de GdalTools de la biblioteca de Qgis 3.2.3 (QGIS 2019) con la herramienta de “alineación de ráster” se estableció una sola resolución (1 km<sup>2</sup>). Para generar el modelo se utilizaron 16 variables bioclimáticas y tres variables de sitio (cuadro 2).

*Delimitación del área accesible* (símbolo M). El concepto de área accesible para una especie (M) hace referencia

al diagrama BAM (Soberón 2010). Para delimitar el área accesible (M), se utilizaron las Provincias Fisiográficas de México y se escogieron aquellas que coincidieron con los registros de presencia para cada variedad, evitando provincias que, aunque similares, no tuvieron registros. A partir de la delimitación del área M se recortaron las capas ambientales para cada variedad en formato ASCII con el uso del programa Qgis 3.2.3 (QGIS 2019).

*Generación del modelo.* El análisis del área potencial para el establecimiento de UPGF se realizó con el algoritmo de máxima entropía del programa MaxEnt ver. 3.4.1, el cual permite escoger los modelos más consistentes a partir de información disponible de datos de presencia; no requiere datos de ausencia y genera buenas predicciones, aún con muestras pequeñas (Radosavljevic y Anderson 2014).

Se utilizaron los parámetros de elaboración que vienen por defecto en el programa, a excepción de las opciones Extrapolate y Do clamping que se desactivaron para evitar extrapolaciones artificiales en los valores extremos de las variables bioclimáticas. Se obtuvo una salida tipo logística

**Cuadro 2.** Variables incorporadas en la modelación de la distribución potencial de *Pinus pseudostrubus* var. *pseudostrubus* y *P. pseudostrubus* var. *apulcensis* y para la selección de Unidades Productoras de Germoplasma Forestal en Oaxaca y Michoacán ( $r \geq 0,85$ ).

Variables incorporated in the modeling of the potential distribution of *Pinus pseudostrubus* var. *pseudostrubus* and *P. pseudostrubus* var. *apulcensis* and for the selection of Forest Germplasm Production Units in Oaxaca and Michoacán ( $r \geq 0.85$ ).

Código	Descripción de las variables bioclimáticas (unidad)
Bio1	Temperatura promedio anual (°C)
Bio2	Oscilación diurna de la temperatura (°C)
Bio3	Isotermalidad (°C)
Bio4	Estacionalidad de la temperatura (desviación estándar *100) (°C)
Bio5	Temperatura máxima promedio del periodo más cálido (°C)
Bio6	Temperatura mínima del mes más frío (°C)
Bio7	Oscilación anual de la temperatura (°C)
Bio8	Temperatura media del mes más húmedo (°C)
Bio9	Temperatura media del mes más seco (°C)
Bio10	Temperatura media del cuatrimestre más cálido (°C)
Bio14	Precipitación del periodo más seco (mm)
Bio15	Estacionalidad de la precipitación (Coeficiente de variación, CV)
Bio16	Precipitación del trimestre más húmedo (mm)
Bio17	Precipitación del trimestre más seco (mm)
Bio18	Precipitación del cuatrimestre más cálido (mm)
Bio19	Precipitación del cuatrimestre más frío (mm)
Variables del sitio	
Exp	Exposición (°)
Alt	Altitud (m)
Pdt	Pendiente (%)

Fuente: Worldclim ver 2.1, (2019) e INEGI (2019).



usando un umbral 0-1 (0 = ausencia y 1 = presencia), los valores cercanos a 0 ( $< 0,5$ ) indican que las condiciones no son idóneas y valores superiores a 0,5 que las condiciones son adecuadas (Cuervo Robayo *et al.* 2014).

El 75 % de los registros se utilizó para el entrenamiento y 25 % para la validación; se probaron diez modelos por variedad, ocho con 1.000 interacciones y dos con 500 (valor por defecto-Bootstrap) y límite de convergencia fijo de 0,00001 (valor por omisión), mediante dos procedimientos: (1) por su desempeño y ajuste estadístico en las pruebas de AUC (*Area Under the Curve*) y del análisis de precisión ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para determinar la validez de los modelos y una prueba Z que determina si dicha relación es menor o cercana a 1 (Radovavljevic y Anderson 2014); (2) mediante salidas a campo para realizar la evaluación de la distribución de ambas variedades de *P. pseudostrobis*, registrando la presencia o ausencia en el área del modelo.

*Validación del modelo.* Los modelos con valores de AUC entre 0,7-0,9 para los puntos de entrenamiento y de prueba se consideraron buenos y los modelos con valores  $\geq 0,9$  como excelentes (Peterson *et al.* 2011). El análisis de significancia estadística de la predicción se realizó a través de 10 pruebas binomiales de omisión al 99 % de confiabilidad. Sin embargo, dado que la utilidad de los análisis ROC ha sido cuestionada por especialistas debido a que los algoritmos solo utilizan datos de presencia y en teoría, también requiere datos de ausencia verdadera (Martínez Méndez *et al.* 2016), se realizó el análisis ROC-parcial con el programa Tool for Partial-ROC que permitió contrarrestar las diferencias de AUC. Las corridas se hicieron para cada modelo, utilizando 50 % de los puntos de evaluación independientes remuestreados en 1.000 réplicas bootstrap y un error fijo de omisión no mayor a 5 % (1-omission threshold  $> 0,95$ ). El mejor modelo se eligió de acuerdo con el valor más alto de AUC; valores  $> 1$  indican que las predicciones se deben a la modelación y no al azar (Soborón 2010, Peterson *et al.* 2011). Finalmente, de acuerdo con Martínez Méndez *et al.* (2016) se realizó una prueba Z para determinar si los valores de las proporciones AUC parciales de los modelos de idoneidad eran estadísticamente mejores que un modelo al azar (AUC = 1,0).

*Distribución potencial actual.* Se utilizó la prueba Jackknife para conocer el porcentaje de contribución de cada variable al modelo de distribución actual, con los resultados se identificaron áreas de distribución potencial para ambas variedades. Además, se realizaron recorridos de campo con el propósito de validar los resultados de la modelación, lo que permitió garantizar que efectivamente existen árboles con características fenotípicas deseables. Con la información obtenida del modelo se reclasificaron valores del archivo ráster en tres categorías de probabilidad de ocurrencia: baja (0,6-0,7), media (0,7-0,8) y alta (0,8-1,0) y se calculó la superficie potencial actual por decil.

*Áreas óptimas para el establecimiento de UPGF y selección de los mejores individuos.* Para identificar zonas con potencial óptimo para el establecimiento de UPGF, se calculó la superficie potencial a partir de la reclasificación en categorías binarias de 0 (área no apta) y 1 (área con potencial óptimo) del mejor modelo y se calculó la superficie por decil para conocer el área potencial óptima correspondiente a Oaxaca y Michoacán. Las proyecciones de los modelos y la creación de mapas se realizaron con el programa Qgis 3.2.3 (QGIS 2019).

## RESULTADOS

*Distribución potencial actual.* Después del proceso de depuración de la base de datos el número final de registros fue de 494 para *P. pseudostrobis* var. *pseudostrobis* y 143 para *P. pseudostrobis* var. *apulcensis*. La mayoría de los datos eliminados fueron de registros repetidos en un mismo píxel (1 km<sup>2</sup>) o mal georreferenciados. Para delimitar el área óptima de crecimiento y distribución de la especie (M) se utilizaron dos provincias fisiográficas. La variedad *pseudostrobis* se localizó en el Eje Neovolcánico en el estado de Michoacán y la Sierra Madre del Sur en el estado de Oaxaca. Por su parte, la variedad *apulcensis* solo se localizó en esta última. El área potencial fue similar en más del 50 % de los casos en ambas provincias fisiográficas; de hecho, en el estado de Oaxaca las dos variedades crecen juntas en la mayoría de los sitios.

De acuerdo con la prueba de ROC estándar, los 10 modelos de idoneidad probados para ambas variedades fueron estadísticamente mejores que el modelo al azar según la prueba binomial, que en todos los casos mostró valores significativos ( $P < 0,01$ ). Los resultados de las pruebas de ROC parcial arrojaron razones de AUC con valores significativos ( $P < 0,0001$ ) mayores a 1. Por lo tanto, los modelos se catalogaron como muy buenos. Los valores del AUC para los datos de entrenamiento de la variedad *pseudostrobis* fueron de 0,968 a 0,969 y de 0,963 a 0,970 para la validación. Para la variedad *apulcensis* los valores de AUC para el entrenamiento fueron de 0,959 a 0,969 y para la validación de 0,942 a 0,972 (cuadro 3).

Los resultados de la prueba Z indicaron que todos los modelos fueron estadísticamente significativos ( $P < 0,01$ ); sin embargo, para la variedad *pseudostrobis*, el modelo dos (M2) presentó el mejor ajuste, con un valor de AUC de 0,969 para el entrenamiento, de 0,964 para la validación y 1,385 para ROC parcial. Para la variedad *apulcensis* el modelo siete (M7) presentó los mejores valores de AUC, con 0,963 para el entrenamiento, 0,972 en la validación y 1,174 en la prueba ROC parcial (cuadro 3).

Ambas variedades presentan zonas similares de distribución potencial (potencial alto: color verde, figura 2), en rangos altitudinales óptimos de 2.200 a 3.200 m (2.700 m en promedio) característicos de bosques templados de coníferas. En el estado de Michoacán, la superficie con distribución potencial alta para la variedad *pseudostrobis* es de



**Cuadro 3.** Valores de las proporciones AUC del análisis de ROC parcial y de Z para los dos mejores modelos de idoneidad en *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*.

Values of the AUC proportions of the partial ROC and Z analysis for the two best suitability models in *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* and *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*.

Variedad	Modelo	Valor de AUC en la validación	Proporciones AUC del ROC parcial	DE	Prueba Z valor P
<i>P. pseudostrobus</i> var. <i>pseudostrobus</i>	M2	0,964*	1,385	0,003	$P < 0,01$
<i>P. pseudostrobus</i> var. <i>apulcensis</i>	M7	0,972*	1,174	0,007	$P < 0,01$

M2: Modelo dos, M7: Modelo siete, \* Significativos con  $P < 0,01$ , DE: Desviación estándar.

**Cuadro 4.** Contribución porcentual de las variables a los modelos generados para *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis* de Oaxaca y Michoacán.

Percentage contribution of the variables to the models generated for *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* and *P. pseudostrobus* var. *apulcensis* from Oaxaca and Michoacan.

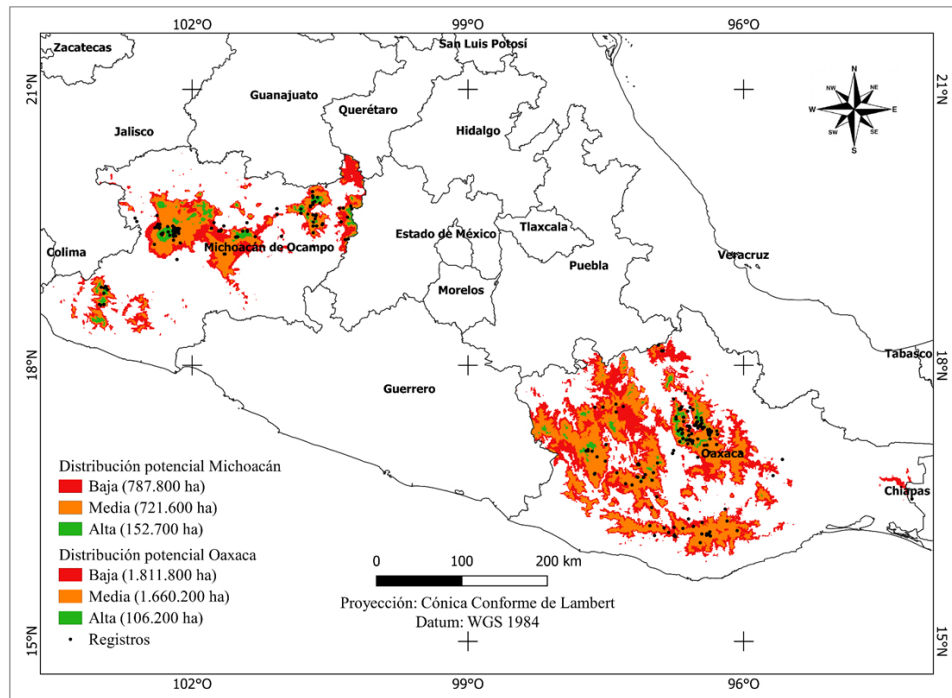
<i>P. pseudostrobus</i> var. <i>pseudostrobus</i>		<i>P. pseudostrobus</i> var. <i>apulcensis</i>	
Variable	Contribución porcentual	Variable	Contribución porcentual
Bio4	48,1	Bio8	46,0
Bio10	29,3	Bio19	23,9
Bio2	6,6	Bio14	4,2
Bio1	4,6	Bio9	3,9
Bio5	3,7	Bio18	3,7
Bio16	2,0	Bio6	3,5
Bio3	1,3	Bio3	2,9
Bio19	0,9	Bio1	2,6
Bio8	0,8	Bio10	2,3
Bio9	0,7	Bio15	2,0
Bio7	0,5	Bio07	1,2
Bio6	0,4	Bio16	1,1
Bio17	0,4	Bio04	0,9
Bio14	0,3	Bio05	0,9
Bio18	0,2	Bio02	0,8
Bio15	0,2	-	-

152.700 ha, media de 721.600 ha y baja de 787.800 ha. En Oaxaca existen 106.200 ha de distribución potencial alta, media de 1.660.200 ha y baja de 1.811.800 ha, el área de traslape de la distribución potencial equivale al 73,3 % del área total, por lo tanto, existen 2.620.316 ha donde potencialmente ambas variedades pueden encontrarse interactuando, esto indica que las dos variedades tienen un nicho similar (espacio ambiental), pero que no es equivalente o idéntico en su totalidad (figura 2).

Las variables de mayor contribución al modelo para la variedad *pseudostrobus* fueron: Bio4 (Estacionalidad de la temperatura que expresa la desviación estándar de la temperatura media mensual \* 100, en cada estación: 48,1 %), Bio10 (temperatura media del cuatrimestre más cálido: 29,3 %) y Bio2 (oscilación diurna de la temperatura: 6,6 %); en contraste, para la variedad *apulcensis*, fueron Bio8 (temperatura media del mes más húmedo: 46 %), Bio19 (precipitación del cuatrimestre más frío: 23,9 %) y Bio14 (precipitación del periodo más seco: 4,2 %). Ambas variedades presentaron en común algunas variables, pero con distinta proporción (cuadro 4).

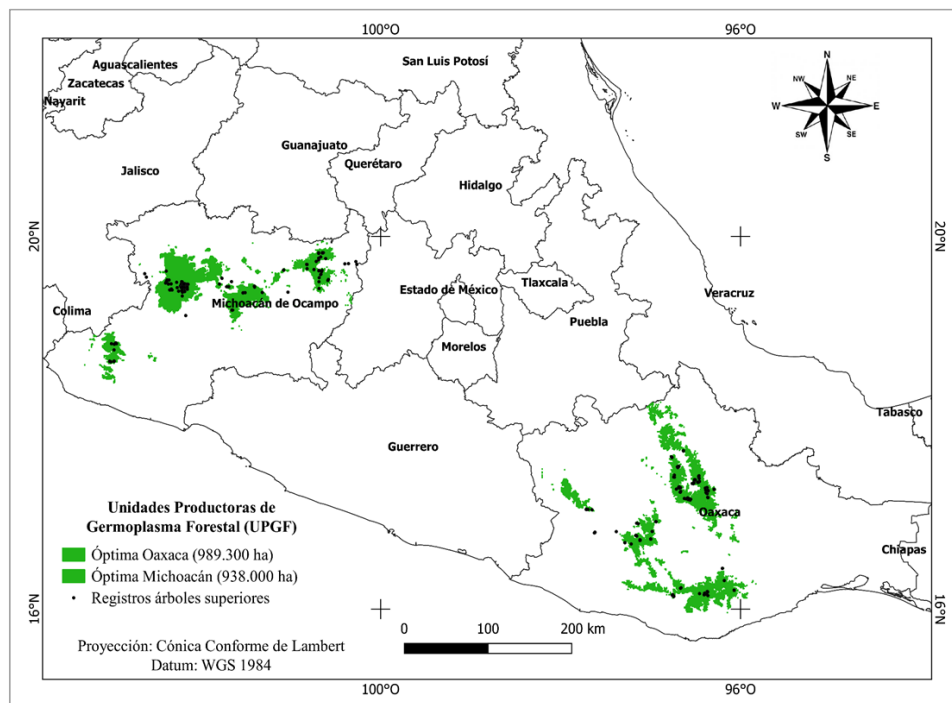
*Áreas óptimas para el establecimiento de UPGF y selección de los mejores individuos.* Ambas variedades tienen zonas de distribución potencial similares, por ejemplo, la variedad *pseudostrobus* se desarrolla principalmente de 2.200 a 2.800 m s.n.m., con excepciones desde 1.650 a 2.200 m s.n.m. y más de 2.800 a 3.400 m s.n.m. Por su parte, la variedad *apulcensis* se desarrolla óptimamente de 2.400 a 2.850 m s.n.m., con excepciones de 1.400 a 2.400 m s.n.m. y más 2.850 a 3.300 m s.n.m. La mejor condición con potencial óptimo = 1 para la variedad *pseudostrobus* y el establecimiento de UPGF en Michoacán se presentó en el Eje Neovolcánico donde más del 50 % del área se considera como óptima; mientras que en Oaxaca las mejores condiciones para ambas variedades ocurren en la Sierra Madre del Sur ya que más del 70 % del área es idónea para el establecimiento de UPGF.

De acuerdo con el modelo generado, al categorizar las áreas de idoneidad en óptima (1) y no óptima (0) para el establecimiento de UPGFs con la variedad *pseudostrobus* en el estado de Michoacán se obtuvo una superficie óptima de 938.000 ha que equivale al 42,6 % de su territorio forestal (2,2 millones de ha). En Oaxaca existen 989.300 ha con potencial óptimo para establecer UPGF con ambas variedades, que representan el 14 % del total de la superficie forestal del estado (7,06 millones de ha) (figura 3). Con los datos del modelo y los recorridos de campo permitieron registrar dos UPGF (que corresponden a árboles superiores ya seleccionados; figura 3), una para el estado de Michoacán con *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus* localizados dentro de la provincia Eje Neovolcánico, y la otra para Oa-



**Figura 2.** Distribución potencial de *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis* en una porción del Eje Neovolcánico y de la Sierra Madre del Sur en Michoacán y Oaxaca, respectivamente.

Potential distribution of *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* and *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*, in a portion of Neovolcanic Axis and Sierra Madre del Sur in Michoacan and Oaxaca, respectively.



**Figura 3.** Áreas con potencial óptimo para el establecimiento de UPGF con *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*.

Areas with optimal potential for the establishment of UPGF to *Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* and *P. pseudostrobus* var. *apulcensis*.

xaca con ambas variedades ubicadas en distintas comunidades de la Sierra Juárez de Oaxaca, dentro de la provincia Sierra Madre del Sur. En ambos casos, de acuerdo con los resultados del modelo, el área donde se ubicaron las UPGF fue catalogada como óptima y con potencial alto para seleccionar en el futuro otros individuos con características sobresalientes o para establecer otras UPGF.

## DISCUSIÓN

*Distribución potencial actual.* Los modelos obtenidos presentaron el mayor ajuste de acuerdo con los resultados de las pruebas de ROC estándar y ROC parcial, ya que estadísticamente fueron mejores que una modelación al azar (valores  $> 1$ ) (Soberón 2010, García Aranda *et al.* 2018, Singh *et al.* 2018). El hecho de catalogar a los modelos como buenos se debe a que se usaron todos los datos de presencia en toda el área que ocupan las dos variedades para Oaxaca y Michoacán, junto con los datos de inventarios y registros propios en campo (caso de árboles superiores), que fueron delimitados con las provincias fisiográficas de México (Eje Neovolcánico y Sierra Madre del Sur), para que con mayor precisión se estableciera la distribución potencial actual (Cuervo Robayo *et al.* 2014); es decir, el área M óptima de acuerdo al diagrama BAM (Soberón 2010). Con los resultados obtenidos se puede aseverar que ambas variedades en el estado de Oaxaca ocupan un área de idoneidad similar, ya que se encuentran coexistiendo en algunos sitios de bosques templados de la Sierra Madre del Sur. En Michoacán, la variedad *pseudostrobus* se localizó en bosques templados del Eje Neovolcánico; en ambos casos, estos resultados coinciden con los conocimientos básicos de la biología de ambas variedades (Farjon y Styles 1997).

Los estudios que existen sobre la modelación de idoneidad de hábitat para especies del mismo género se centran principalmente en la teoría de nicho ecológico (Reynoso *et al.* 2017, García Aranda *et al.* 2018, Manzanilla-Quiñones *et al.* 2019, Flores *et al.* 2019), utilizando en su mayoría datos de centros de recolección de muestras botánicas, por ejemplo del Herbario Nacional-MEXU (UNAM 2019), o de plataformas digitales como *Global Biodiversity Information Facility* (GBIF 2019) que solo consideran la presencia de la especie. Sin embargo, si no se realiza una correcta depuración de estos datos (registros mayores de 50 años) puede haber errores con datos repetidos y mal georreferenciados, debido a que el intervalo real de tolerancia climática (intervalo óptimo) es variable entre especies o entre variedades, y aunque convivan en la misma región es posible que haya sobreestimación de los modelos (Perret *et al.* 2019). Por lo que es conveniente reforzar los registros obtenidos de plataformas digitales o de herbarios con datos de inventarios propios que hayan sido corroborados (como se hizo en este caso), como medida preventiva y de poco riesgo para obtener modelos más confiables.

En trabajos similares como el realizado por Reynoso *et al.* (2017) en Chiapas, Méx., utilizaron registros de *P. pseudostrobus* Lindl. y *P. oocarpa* Schiede ex Schltdl. precedentes de plataformas digitales y para modelar la superficie con potencial y establecer UPGF, emplearon variables bioclimáticas y edafoclimáticas (como Bio2, Altitud, Edafología, pH y textura, caso *P. pseudostrobus* y Bio2, Bio14, Altitud, Índice de vegetación diferencial normalizado y precipitación media anual para *P. oocarpa*); y obtuvieron que la mayor superficie con idoneidad para establecer UPGF con ambas especies se encontró al igual que en este trabajo, en una porción de la Sierra Madre del Sur. De manera similar, Cruz Cárdenas *et al.* (2016) modelaron la distribución potencial de 12 especies (dos del género *Abies* y 10 de *Pinus*, incluida la variedad *pseudostrobus*) en el estado de Michoacán, empleando cuatro variables de clima (Bio5, Bio6, Bio7 y Bio17), dos de suelo (pH y potasio) y el modelo digital de elevación de INEGI; donde las provincias fisiográficas con la mayor distribución potencial fueron el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur, aunque, los autores no lograron separar las diferencias ambientales entre las especies, siendo las mismas condiciones ambientales idóneas para todas estas. Al igual que en este trabajo, se debe contemplar el área M de una especie y eliminar la autocorrelación de las variables del modelado, para evitar errores en la distribución potencial de la especie o variedad. En otro estudio más especializado realizado por Aguirre Gutiérrez *et al.* (2015) se comparó el nicho ecológico de cinco pinos del subgénero *strobus*, se emplearon variables bioclimáticas de Worldclim (resolución de 1 km<sup>2</sup>), edafoclimáticas, la radiación solar y el índice de vegetación de diferencia normalizada. Los autores señalaron que las áreas con mayor potencial y con alta idoneidad para estas especies se encontraron localizadas en el Eje Neovolcánico, la Sierra Madre del Sur y las Sierras de Chiapas y Guatemala, logrando encontrar diferencias ambientales entre las especies, donde las variables de mayor contribución al modelo fueron Bio3 (*P. ayacahuite* Ehrenb. ex Schltdl y *P. chiapensis* (Martínez) Andresen), Bio15 (*P. ayacahuite* var. *veitchii* Roehl (Shaw), elevación (*P. strobiformis* Engelman) y radiación solar (*P. lambertiana* D. Douglas). Los resultados de estos estudios refuerzan los obtenidos en el presente trabajo, ya que ambas variedades se localizan en dos centros de idoneidad ambiental en México (Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur) en convivencia con más especies del mismo género.

Las variables que mejor predicen la distribución potencial del género *Pinus*, sobre todo con especies de distribución amplia, se relacionan con la temperatura (García Aranda *et al.* 2018). Lo que coincide con los resultados obtenidos, ya que la variable con mayor contribución al modelo para la variedad *pseudostrobus* fue la estacionalidad de la temperatura (Bio4: 48,1 %) y para la variedad *apulcensis*, la temperatura media del mes más húmedo (Bio8: 40,0 %). Para especies de distribución restringida, la altitud influye más que la temperatura (Cruz Cárdenas

*et al.* 2016, García Aranda *et al.* 2018). En otros estudios para especies de pino en México los resultados coinciden, ya que los modelos que incluyen variables de temperatura han contribuido mayormente para determinar el área potencial de especies con distribución amplia. Además, dichas especies coinciden con lo reportado en este estudio, ya que su área de idoneidad se ha localizado principalmente en el Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur (Aguirre Gutiérrez *et al.* 2015, Cruz Cárdenas *et al.* 2016, Reynoso *et al.* 2017, Manzanilla-Quñones *et al.* 2019). En general, las variaciones en el ajuste del modelo y de la distribución potencial de la especie dependen del tipo de variable bioclimática, la escala y el número de registros de la especie modelada (García Aranda *et al.* 2018).

*Áreas óptimas para el establecimiento de UPGF y selección de los mejores individuos.* Un programa de mejora genética debe iniciar con la selección de los mejores individuos con base en su fenotipo (Zobel y Talbert 1988), y se debe enfocar en el aumento y calidad de los árboles y su adaptabilidad a cambios ambientales. Con los resultados obtenidos se puede realizar la planeación del establecimiento de huertos semilleros asexuales con árboles de las zonas de crecimiento óptimo para ambas variedades, como posible estrategia para generar UPGF, pero de mejor calidad genética, que a su vez permitan la conservación *in situ* de ambas variedades. El Eje Neovolcánico y la Sierra Madre del Sur han sido reportadas como zonas de idoneidad para la distribución de varias especies de *Pinus* y *Abies* (incluida la var. *pseudostrobus*) (Aguirre Gutiérrez *et al.* 2015, Cruz Cárdenas *et al.* 2016, Martínez Méndez *et al.* 2016). La conservación de pinos debe considerar la protección de los rodales forestales actuales, y desarrollar estrategias para el establecimiento de nuevas UPGF que permitan su reintroducción en áreas deforestadas y/o perturbadas. Además, es importante considerar los efectos de la fragmentación del hábitat y el cambio de uso del suelo (Mantyka-Pringle *et al.* 2012), ya que a menudo ocurre en especies o variedades con distribución amplia (como en este caso) y que se encuentra fuera de áreas sujetas a protección.

*Pinus pseudostrobus* var. *pseudostrobus* y *P. pseudostrobus* var. *apulcensis* no se encuentran en alguna categoría de riesgo. Sin embargo, el aprovechamiento excesivo y disgénico, el cambio de uso de suelo y el aislamiento de poblaciones locales dan lugar a la fragmentación de hábitats, y como consecuencia la pérdida probable de rodales y árboles superiores (Aguirre Gutiérrez *et al.* 2015). De acuerdo con la Norma Mexicana NMXAA-169-SCFI-2016 (Secretaría de Economía 2016), se requiere de acciones como el establecimiento de UPGF que tengan como objetivo la conservación de los mejores individuos, de importancia ecológica y económica.

Los datos generados en este trabajo son los primeros que describen áreas óptimas para incursionar en la selección de individuos sobresalientes con dos variedades de

*P. pseudostrobus* en el centro-sur de México donde ambas variedades tienen gran importancia económica y ecológica debido a su distribución, y también a que son utilizadas en la producción de madera aserrada de buena calidad, durmientes, tableros de partículas, madera de construcción, madera para chapa y triplay, celulosa y resina (Farjon y Styles 1997). Se han reportado diferencias de crecimiento en altura y diámetro entre variedades de este taxon (Viveros Viveros *et al.* 2006), por lo que debe cuidarse su correcto uso masivo, por ejemplo, en plantaciones forestales. Además, es conveniente explorar otras áreas de idoneidad y establecer UPGF con el objetivo de mejora genética para los estados de Michoacán y Oaxaca. Aunque los resultados obtenidos no se enfocan en el análisis del efecto del cambio climático sobre la subsistencia de estas variedades de pino, se puede emplear como base para compensar dichos cambios (Castellanos Acuña *et al.* 2018) y servir como fuentes de germoplasma en hábitats que en la actualidad son de mayor altitud (var. *pseudostrobus*) o de mayor humedad (var. *apulcensis*). Es decir, los resultados de este estudio pueden funcionar en escenarios climáticos futuros (probablemente más cálidos y secos) como base en actividades de migración asistida con fines de conservación o restauración de las áreas boscosas de estas variedades tal y como lo señalan Sáenz Romero *et al.* (2009) y Castellanos Acuña *et al.* (2018).

## CONCLUSIONES

Las variables bioclimáticas que mayor influencia ejercieron en la distribución potencial para el modelo de la variedad *pseudostrobus* son la estacionalidad de la temperatura (Bio4: 48,1 %) y la temperatura media del cuatrimestre más cálido (Bio10: 29,3 %), y para la variedad *apulcensis*, la temperatura media del mes más húmedo (Bio8: 46 %) y la precipitación del cuatrimestre más frío (Bio19: 23,9 %). Los modelos (M2 y M7) aportaron información valiosa sobre la distribución potencial y áreas óptimas para el desarrollo de ambas variedades, las cuales se encontraron en el Eje Neovolcánico y Sierra Madre del Sur, donde se pueden establecer UPGF para mejorar la calidad y producción de la semilla y la protección *in situ* de su acervo genético.

Los resultados generados permiten reducir los tiempos y costos para la selección de los mejores individuos para ser incluidos en programas de mejoramiento genético en Michoacán y Oaxaca. También se pueden diseñar planes integrales en los que se incluyan estrategias de manejo, conservación y restauración para garantizar la distribución continua y amplia del germoplasma de ambas variedades.

## AGRADECIMIENTOS

Al Programa de Doctorado en Ciencias con Orientación en Manejo de Recursos Naturales de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Foresta-



les. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo de beca de posgrado al primer autor. Al Sistema Biométrico Forestal por los datos proporcionados, y a los investigadores H. Jesús Muñoz Flores y Martín Gómez Cárdenas del Campo Experimental, Uruapan, Michoacán del INIFAP, por todas las facilidades brindadas durante la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS

- Aguirre Gutiérrez J, HM Serna Chávez, AR Villalobos Arámula, JA Pérez de la Rosa, N Raes. 2015. Similar but not equivalent: ecological niche comparison across closely-related Mexican white pines. *Diversity and Distributions* 21(3): 245-257. DOI: <https://doi.org/10.1111/ddi.12268>
- Castellanos Acuña D, KW Vance Borland, JB St. Clair, A Hamann, J López Upton, E Gómez Pineda, JM Ortega-Rodríguez, C Saenz Romero. 2018. Climate-based seed zones for Mexico: guiding reforestation under observed and projected climate change. *New forests* 49(3): 297-309. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-017-9620-6>
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal, MX). 2019. Memoria Documental. Inventario Nacional Forestal y de Suelos. Zapopan, Jalisco, México. Consultado 18 de sep. 2019. Disponible en [http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/8/4125CNF-24\\_Infys.pdf](http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/8/4125CNF-24_Infys.pdf)
- Cuervo Robayo AP, O Téllez Valdés, MA Gómez Albores, CS Venegas Barrera, J Manjarrez, E Martínez Meyer. 2014. An update of high-resolution monthly climate surfaces for Mexico. *International Journal of Climatology* 34(7): 2427-2437. DOI: <https://doi.org/10.1002/joc.3848>
- Cruz Cárdenas G, L López Mata, JT Silva, N Bernal Santana, F Estrada Godoy, JA López Sandoval. 2016. Potential distribution model of Pinaceae species under climate change scenarios in Michoacán. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 22(2): 135-148. DOI: <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2015.06.027>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, IT). 2018. El estado de los bosques del mundo-Las vías forestales hacia el desarrollo sostenible. Roma, Italia. FAO. Licencia: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. 153 p.
- Farjon A, BT Styles. 1997. *Pinus* (Pinaceae). Flora Neotropica. Monograph 75. New York, USA. The New York Botanical Garden. 291 p.
- Flores A, J López Upton, CD Rallan Silva, AE Olthoff, R Alía, C Sáenz Romero, JM García del Barrio. 2019. Priorities for conservation and sustainable use of forest genetic resources in four Mexican pines. *Forests* 10(8): 675. DOI: <https://doi.org/10.3390/f10080675>
- García Aranda MA, J Méndez González, JY Hernández Arizmendi. 2018. Distribución potencial de *Pinus cembroides*, *Pinus nelsonii* y *Pinus culminicola* en el Noreste de México. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios* 5(13): 3-13. DOI: <https://doi.org/10.19136/era.a5n13.1396>
- GBIF (Global Biodiversity Information Facility). 2019. Bases de datos geográficos disponibles para *Pinus pseudostrobus* Lindl. var. *pseudostrobus* y *Pinus pseudostrobus* var. *apulcensis* Martínez en México. Global Biodiversity Information Facility. Consultado 15 de ago. 2019. Disponible en <https://www.gbif.org/search?q=Pinus%20pseudostrobus%20var%20apulcensis>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, MX). 2019. Modelos Digitales de Elevación de Alta Resolución LiDAR. Edición 2012. México. Consultado 17 de ago. 2019. Disponible en <https://www.inegi.org.mx/app/busca-dor/default.html?q=modelo+digital+de+elevacion>
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía, MX). 2008. Conjunto de datos vectoriales unidades climáticas. Edición 2008. México. Consultado 19 de ago. 2019. Disponible en <https://www.inegi.org.mx/temas/climatologia/default.html#Descargas>
- Mantyka-Pringle CS, TG Martin, JR Rhodes. 2012. Interactions between climate and habitat loss effects on biodiversity: a systematic review and meta-analysis. *Global Change Biology* 18(4): 1239-1252. DOI: <https://doi.org/10.1111/gcb.12862>
- Manzanilla Quiñones U, P Delgado Valerio, J Hernández Ramos, A Molina Sánchez, JJ García Magaña, M del C Rocha Granados. 2019. Similaridad del nicho ecológico de *Pinus montezumae* y *P. pseudostrobus* (Pinaceae) en México: implicaciones para la selección de áreas productoras de semillas y de conservación. *Acta Botánica Mexicana* 126: e1398. DOI: <https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1398>
- Martínez Méndez N, E Aguirre Planter, LE Eguiarte, JP Jaramillo Correa. 2016. Modelado de nicho ecológico de las especies del género *Abies* (Pinaceae) en México: Algunas implicaciones taxonómicas y para la conservación. *Botanical Sciences* 94(1): 5-24. DOI: <https://doi.org/10.17129/botsci.508>
- Osorio Olvera L, B Vijay, B Narayani, J Soberón, M Falconi. 2016. NicheToolbox: a web tool for exploratory data analysis and niche modeling. version 0.2.5.4. Consultado 25 de ago. 2019. Disponible en <http://shiny.conabio.gob.mx:3838/nichetoolb2/>
- Perret DL, AB Leslie, DF Sax. 2019. Naturalized distributions show that climatic disequilibrium is structured by niche size in pines (*Pinus* L.). *Global Ecology and Biogeography* 28(4): 429-441. DOI: <https://doi.org/10.1111/geb.12862>
- Perry P J. 1991. The Pines of Mexico and Central America. Timber Press. Portland, Oregon. 231 p.
- Peterson AT, J Soberon, RG Pearson, RP Anderson, E Martínez-Meyer, M Nakamura, MB Araújo. 2011. Ecological niches and geographic distributions (MPB-49) (Vol. 56). Princeton University Press, Princeton, New Jersey 08540. 281 p.
- QGIS Development Team. 2019. QGIS Geographic Information System. Open Source Geospatial Foundation. Consultado 10 de ago. 2019. Disponible en <https://qgis.org/es/site/>
- Radosavljevic A, RP Anderson. 2014. Making better MaxEnt models of species distributions: complexity, overfitting and evaluation. *Journal of Biogeography* 41(4): 629-643. DOI: <https://doi.org/10.1111/jbi.12227>
- Reynoso Santos R, MJ Pérez Hernández, W López Báez, J Hernández Ramos, HJ Muñoz Flores, JV Cob Uicab, MD Reynoso Santos. 2018. El nicho ecológico como herramienta para predecir áreas potenciales de dos especies de pino. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 9(48): 47-68. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v8i48.114>
- Sáenz Romero C, GE Rehfeldt, NL Crookston, P Duval, J Beaulieu. 2009. Estimaciones de cambio climático para Michoacán: Implicaciones para el sector agropecuario y forestal y para la conservación de la Mariposa Monarca. Serie 3,



- Núm. 28. 21 p.
- Secretaría de Economía. 2016. Declaratoria de vigencia de la Norma Mexicana: Establecimiento de unidades productoras y manejo de germoplasma forestal especificaciones técnicas. NMX-AA-169-SCFI-2016. Diario Oficial de la Federación. Consultado 15 de ago. 2019. Disponible en <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-aa-169-scfi-2016.pdf>
- Singh H, RD Garg, HC Karnatak, A Roy. 2018. Spatial landscape model to characterize biological diversity using R statistical computing environment. *Journal of Environmental Management* 206, 1211-1223. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2017.09.055>
- Soberón JM. 2010. Niche and area of distribution modeling: a population ecology perspective. *Ecography* 33(1): 159-167. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2009.02074.x>
- UNAM (Universidad Nacional Autónoma de México, MX). 2019. Herbario Nacional MEXU del Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultado 10 de ago. 2019. Disponible en <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:104608>
- Viveros Viveros H, C Sáenz Romero, JJ Vargas Hernández, J López Upton. 2006. Variación entre procedencias de *Pinus pseudostrabus* establecidas en dos sitios en Michoacán, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29(2): 121-126.
- Worldclim. 2019. Worldclim versión 2.1. Datos climáticos históricos. Consultado 10 de sep. 2019. Disponible en <https://www.worldclim.org/data/worldclim21.html>
- Zobel BJ, JT Talbert. 1988. Técnicas de Mejoramiento Genético de Árboles Forestales. México D.F., México. Limusa. 545 p.

Recibido: 14/04/20  
Aceptado: 23/06/20



## Diversity and ecology of forest communities in Küre Mountains National Park of Turkey

Diversidad y ecología de las comunidades forestales  
en el Parque Nacional de las Montañas de Küre de Turquía

Bilge Tunçkol <sup>a\*</sup>, Necmi Aksoy <sup>b</sup>, Süleyman Çoban <sup>c</sup>, Hayati Zengin <sup>b</sup>

\*Corresponding author: <sup>a</sup>Bartın University, Ulus Vocational School Department of Forestry, 74600, Ulus, Bartın, Turkey, +90 0378 501 1000, btunckol@bartin.edu.tr

<sup>b</sup>Düzce University, Faculty of Forestry & DUOF Herbarium Konuralp, Düzce, Turkey.

<sup>c</sup>Istanbul University-Cerrahpasa, Faculty of Forestry, Department of Silviculture, Istanbul, Turkey.

### SUMMARY

This study aimed at analyzing the diversity and ecological characteristics of forest associations (121 relevés classified under eight associations) in Küre Mountains National Park. Ordination analyses (DCA and CCA) and response curves were used to reveal ecological characteristics of vegetation using soil parameters (pH, electrical conductivity, sand, clay and dust content, soil moisture) and topographical variables (altitude, slope, potential direct incident radiation and heat load). Ecological conditions of communities were also tested using average Ellenberg indicator values (EIVs). Among forest associations, the highest species diversity was found in *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* and the lowest diversity in *Hedero-Castanetum sativae*, which had a dense *Rhododendron ponticum* shrub layer. However, *Salicio-Platanetum orientale* and *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* had the highest beta diversity since they harbored unique species composition. Conditional effects of altitude, slope, pH and electrical conductivity, soil dust and sand content, sandy-loam and loam soil types presented significant contributions in species composition. While *Carpino-Quercetum petraeae* was found on soil with high dust content having high pH and electrical conductivity values, *Quercetum roburi-Aceretum campestri* and *Salicio-Platanetum orientale* were related to soil with loam. Species responses to soil and topographical variables varied for most tree species. Light EIVs, which has a high positive correlation with potential direct incident radiation and heat load, related to *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* and *Salicio-Platanetum orientale*. Riverside forest communities differed from other communities in nutrient and humidity EIVs. However, EIVs did not show a good correlation with associated soil parameters such as soil moisture-humidity EIVs and soil pH-acidity EIVs.

**Key words:** ecological differentiation, forest vegetation, Küre Mountains National Park, Turkey.

### RESUMEN

Este estudio tuvo como objetivo analizar la diversidad y características ecológicas de asociaciones forestales (121 registros clasificados en ocho asociaciones) en el Parque Nacional Montañas de Küre. Se utilizaron análisis de ordenación (DCA y CCA) y curvas de respuesta para revelar las características ecológicas de la vegetación, utilizando parámetros del suelo (pH, CE, arena, contenido de arcilla y limo, humedad del suelo) y variables topográficas (altitud, pendiente, radiación incidente directa potencial y carga de calor). Las condiciones ecológicas de las comunidades también se probaron utilizando indicadores de Ellenberg (EIV). Entre las asociaciones forestales, la mayor diversidad de especies se encontró en *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* y la menor en *Hedero-Castanetum sativae*, que presentó densa capa de arbustos de *Rhododendron ponticum*. *Salicio-Platanetum orientale* y *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* tuvieron la mayor diversidad beta ya que albergaron una composición de especies única. Los efectos de la altitud, pendiente, pH y CE, contenido de limo y arena del suelo y los tipos de suelo franco-arenoso y franco tuvieron contribuciones significativas en la composición de especies. *Carpino-Quercetum petraeae* se encontró en suelos con alto contenido de limo y valores altos de pH y CE; *Quercetum roburi-Aceretum campestri* y *Salicio-Platanetum orientale* se relacionaron con suelos francos. Las respuestas de las especies al suelo y las variables topográficas variaron para la mayoría de las especies de árboles. EIV pequeños, con alta correlación positiva con PDIR y carga térmica, se relacionaron con *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* y *Salicio-Platanetum orientale*. Las comunidades de bosques ribereños se diferenciaron de otras comunidades con EIV de nutrientes y humedad. Los EIV no mostraron buena correlación con parámetros del suelo, como EIV de humedad y humedad del suelo y EIV de pH y acidez del suelo.

**Palabras clave:** diferenciación ecológica, vegetación forestal, Parque Nacional Montañas de Küre, Turquía.

## INTRODUCTION

Since plant communities develop as a combination of all factors in environment, their classification will gather this ecological information (Mueller and Ellenberg 1974, Kent and Coker 1992). Therefore, plant communities are characterized by distinctive features such as species composition, species richness, the types of different growth forms, and plant biomass structure as a response to strong environmental gradients (Dwire *et al.* 2004). Such features of plant communities enable ecologists to make statements about prevailing environmental conditions since the overlap of ecological tolerances of many species is smaller than the ecological amplitude of a single species (Çoban 2016). This theory provides the basis for the use of bioindication, where species composition of a given community allows conclusions to be made about environment as surrogates for measured environmental variables (Jean-Claude and Eva 2003, Wamelink *et al.* 2005). One of the most widely used bioindication systems of primary environmental parameters in Central Europe is proposed by Ellenberg *et al.* (1992) who assigned 2726 Central European vascular plant species, with respect to moisture, soil nitrogen status, soil reaction, light regime, temperature and continentality (Schaffers and Sýkora 2000).

Sustainable management of specific forest types requires comprehensive knowledge about mixture combinations, growth relations among species, site conditions, climate factors, biological characteristics and competitive ability of species (Çoban and Özalp 2012). Measured environmental variables can explain only main ecological conditions along with altitudinal zones. However, detailed information about local climate and soil condition within each altitudinal zones would explain most part of compositional variation (Aksoy and Çoban 2017). Especially, forest regions that harbor many forest types with various tree species mixtures require specific forest management plans. Ecological differentiations of forest communities and dominant tree species of the regions with diverse forest structure can provide valuable information for further studies in nature conservation and management. At this point, Küre Mountains, which are among the richest mountains in the western Black Sea Region of Turkey in terms of flora and vegetation diversity, can provide data for revealing ecological characteristics and competition abilities of tree species. The main reasons for this richness are as follows: a variety of climates, topographical diversity with marked changes in ecological and geomorphological characteristics. Küre Mountains is the meeting place of Euro-Siberian, Mediterranean and Irano-Turanian phytogeographical regions. In the field, these can usually be easily recognized by their different vegetational aspects which reflect differences in climate. However, fundamental differences are based on floristic differences, including endemism. There are a number of major vegetation types in these phytogeographical regions as forest, maquis and steppe vegetation.

The main objective of this study is to analyze the ecological characteristics of forest communities and main tree species of Küre Mountains by using measured environmental variables and Ellenberg indicator values (EIVs). Thus, it was hypothesized that 1) diverse ecological characteristics will be reflected in high alpha and beta diversity, 2) topographical (altitude and slope) and derived variables (heat load and direct incident radiation) will significantly affect the variation in species composition, 3) soil characteristics and associated species indicator values (EIVs) will show correlation.

## METHODS

*Study area.* The study area covered the Bartın section (19,000 ha) of Küre Mountains (37,753 ha). Küre Mountains are situated between Bartın River on the west and Kızılırmak River in the east. The altitude of the region varies between 50 m - 1200 m. Euro-Siberian, Mediterranean and Irano-Turanian influences are seen in the region (figure 1). Küre National Park was identified as one of the 100 Forest Hot Spots of Europe which should be protected (Blumer 2010). Küre Mountains had a diverse forest vegetation, which consisted of pure and/or mixed stands of *Quercus robur* L., *Carpinus betulus* L., *Quercus petraea* (Matt.) Liebl., *Pinus nigra* J.F. Arnold, *Fagus orientalis* Lipsky, *Pinus sylvestris* L. and *Abies nordmanniana* (Steven) Spach subsp. *bornmuelleriana* (Matff.) Coode *et Cullen*.

Soil types of the region are grey-brown podzolic soil and red-yellow podzolic soil. Bedrock is mostly limestone. The annual precipitation is about 1040.2 mm and mean annual temperature is 12.9 °C. The climate type of the region is classified as B2B1'rb4 by the Thornthwaite climate classification system, which translates as characterized by humid, mesothermal, no or a little water deficiency in summer, and under the effect of oceanic climate (Uz *et al.* 2001, Şengönül *et al.* 2009, Ekici 2012, Göncüoğlu *et al.* 2015).

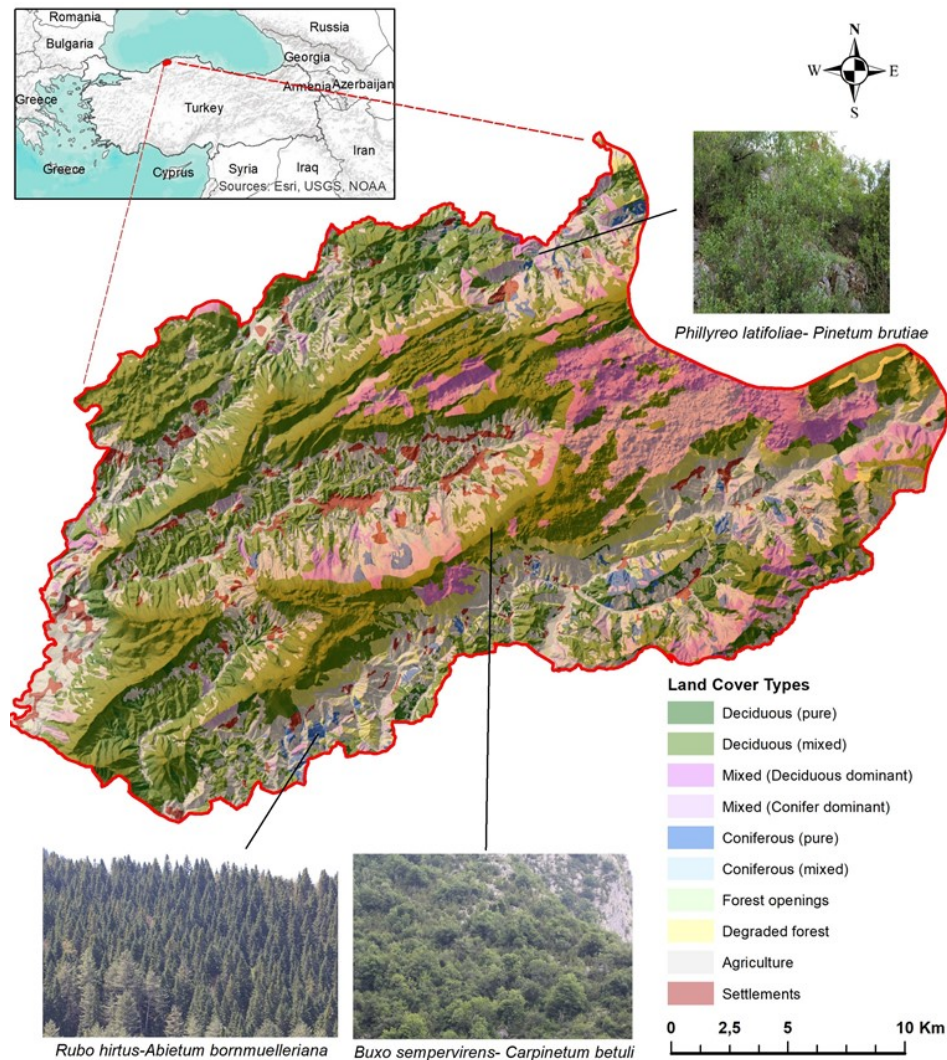
*Methods.* The vegetation was collected between 2014-2017 and classified according to Braun-Blanquet method (Braun-Blanquet 1932). Sizes of the relevés varied between 100-400 m<sup>2</sup>. Eight associations belonging to forest vegetation (a total of 121 relevés and 245 plant taxa) were determined (Tunçkol 2017). A total of six soil samples were taken from the sites representing each association. Two sets of soil samples were taken from the depths of 0-10 and 10-20 cm using 114 cm<sup>3</sup> core sampler (AMS Soil Core Sampler). Soil samples (weighing about 2 kg) were air dried and sieved (< 2 mm) for analyses. Soil particle-size distribution was analyzed with a Bouyoucos hydrometer method, thus enabling soil texture determination (Gee and Bauder 1986). Soil pH and electrical conductivity (EC) were measured using a digital pH meter (Thomas 1996) and an electrical conductivity meter (Rhoades 1996) in a soil and water suspension (Hanna instruments HI 255 pH/EC Meter).

Ellenberg Indicator Values (EIVs) (Ellenberg *et al.* 1992, Pignatti *et al.* 2001) were assigned to species data and an average EIVs weighted by species cover was calculated for each relevé under JUICE (Tichy and Holt 2006). Shannon alpha diversity index and average Whittaker beta diversity ( $\beta_w = S/\alpha - 1$ ,  $S$ : total number of species,  $\alpha$ : average number of species in each unit) were calculated for each relevé under JUICE. Soil parameters (pH, soil electrical conductivity, sand, clay and dust content, soil moisture) and topographical variables (altitude, slope, potential direct incident radiation and heat load) were used in the analysis as measured variables. The potential direct incident radiation and heat load were calculated with the equations of McCune and Keon (2002).

For performing the multivariate analysis, Braun-Blanquet cover values were transformed into percentage values (r: 1 %, +: 2 %, 1: 3 %, 2: 13 %, 3: 38 %, 4: 68 %, 5: 88 %).

The Detrended correspondence analysis (DCA) was used to summarize the variation in species composition using the species data and interpret this summary with the help of measured and derived environmental variables (EIVs) under CANOCO 5.04 (Šmilauer and Lepš 2014). Canonical Correspondence Analyses (CCA) were run to determine the relationships between species and environmental variables.

Environmental variables significantly affecting the variation in species composition were determined using interactive forward selection with unrestricted permutations as simple (marginal) and conditional effects ( $P$  values adjusted using False discovery rate). The response curves of tree species on the best subset of environmental variables were calculated based on the Generalized Linear Model (GLM). The selection of the best model was performed with the stepwise selection using F-statistic (the lowest deviance value).



**Figure 1.** Location of Küre Mountains National Parks (Bartın Section).

Ubicación del Parque Nacional Montañas de Küre (sección Bartın).



## RESULTS

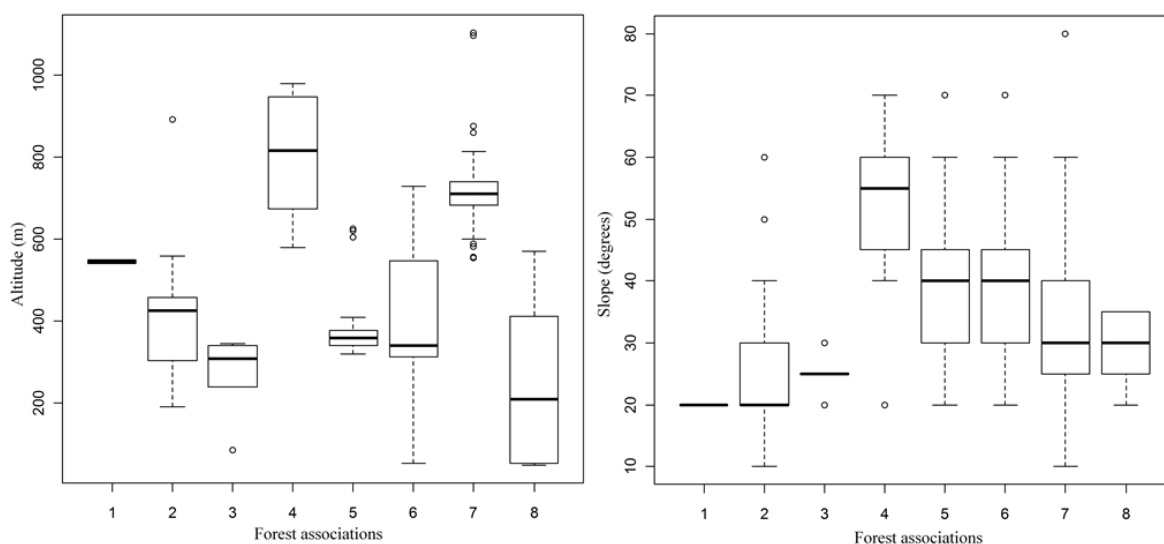
Forest communities were described under eight associations as *Quercetum roburi-Aceretum campestri* (Tunçkol 2017), *Salicio-Platanetum orientale* (Tunçkol 2017), *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* (Schwarz 1936), *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* (Aksoy 2006), *Carpino-Quercetum petraeae* (Yurdakulol et al. 2002), *Ilici colchicae-Fagetum orientalis* (Quezel et al. 1992), *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana* (Aksoy 2006), *Hedero-Castanetum sativae* (Yurdakulol et al. 2002) (table 1).

*Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* and *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana* occurred at a higher altitudinal zone (over 600 m) and others at a lower zone (below 600 m). Only *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* occurred on steep slopes (figure 2).

Among forest associations, the highest species diversity was found in *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* (average 17 species, 2.70 H'), followed by *Carpino-Quercetum petraeae* (average 18 species, 2.33 H') and *Salicio-Platanetum orientale* (average 16 species, 2.33 H'). The lowest diversity was found in *Hedero-Castanetum sativae* (average eight species, 1.33 H'), which had a dense *Rhododendron ponticum* L. shrub layer and *Quercetum roburi-Aceretum campestri* (average 8 species, 1.72 H') (figure 3) located on riverbanks. However, *Salicio-Platanetum orientale* and *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* had the highest beta diversity among other associations since they harbored unique species composition compared to other forest associations.

The Detrended Correspondence Analysis (DCA) revealed a strong floristic differentiation among relevés except *Quercetum roburi-Aceretum campestri* and *Salicio-Platanetum orientale* which had overlapping ordination. Vegetation data had heterogeneous composition with the length of the first axis being 4.83 SD and that of the second axis 4.64 SD. The first two axes explained 8.85 % of the variation in species composition. Environmental variables accounted for 21.3 % of the total variation in DCA. While the first axis was associated with altitudinal gradient, the second axis was associated with a moisture gradient. Humidity and nutrient EIVs were associated with *Quercetum roburi-Aceretum campestri* and *Salicio-Platanetum orientale*. *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* and *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* associations were associated with temperature and light EIVs, which also showed correlation with the potential direct incident radiation and heat load. However, soil moisture content did not show correlation with humidity EIVs, although it related to soil pH and electrical conductivity towards *Carpino-Quercetum petraeae* (figure 4).

Since the response data were compositional and had a gradient of 5.68 SD units long, the linear method was not appropriate. For this reason, CCA, which is a unimodal constrained method, was used. All variables explained 21.9 % of the total variation and most of the factors significantly affected variation in species composition except sand content, heat load and clay content at  $P$  (adj) < 0.05 level ( $P$  values adjusted using False discovery rate). Where conditional effects of the factors considered: soil electri-



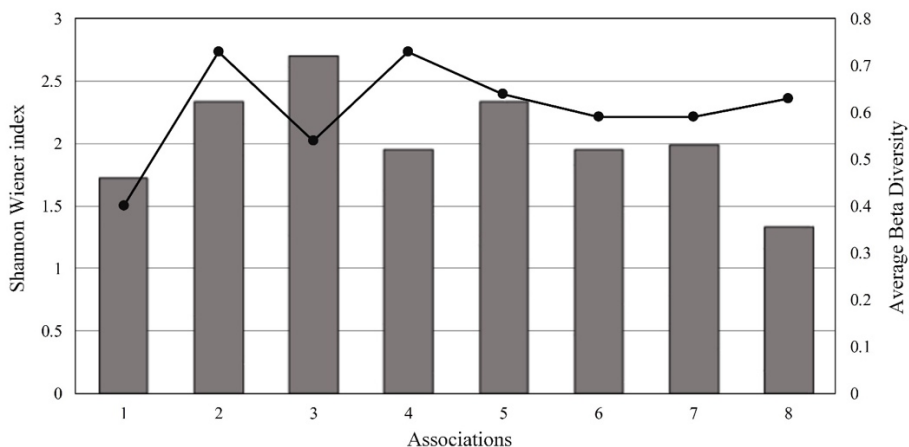
**Figure 2.** Altitude and slope of forest associations (1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

Altitud y pendiente de asociaciones forestales (1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

**Table 1.** Percentage synoptic table of forest associations (only species on tree layer were given; 1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens- Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

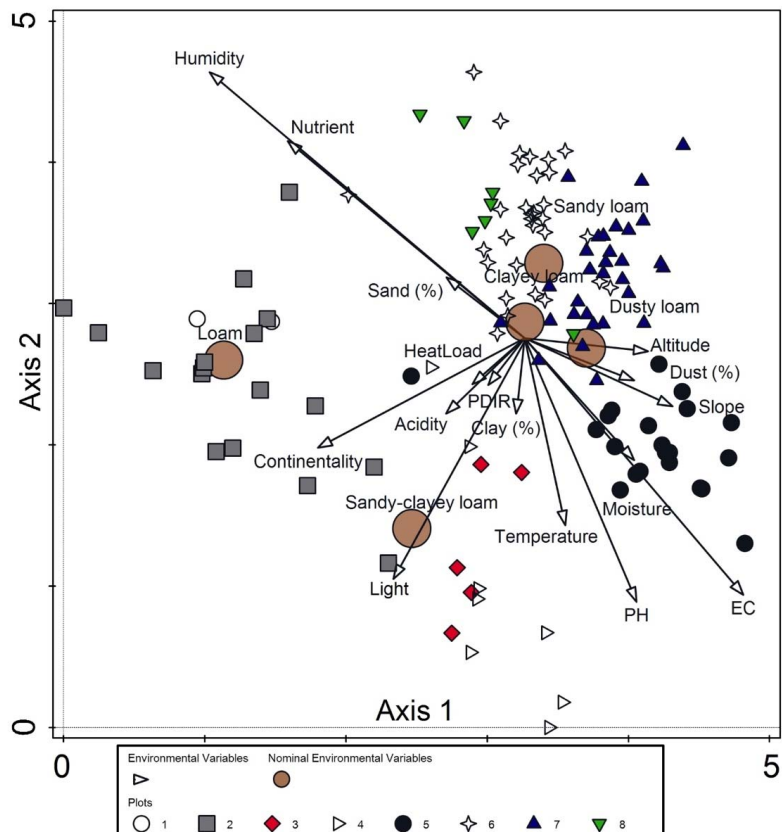
Cuadro sinóptico porcentual de asociaciones forestales (solo se proporcionaron especies en el estrato arbóreo; 1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens- Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

Variable / Species	Abbreviation	Association N°							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Number of relevés		2	17	5	8	21	31	30	7
Total number of species		12	89	39	74	101	90	94	30
Species in tree layer									
<i>Ulmus glabra</i> Huds.	<i>UlmGlab</i>	100					3	3	
<i>Quercus robur</i> L.	<i>QuerRobu</i>	100	12						
<i>Acer campestre</i> L.	<i>AcerCamp</i>	100			13			13	
<i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn.	<i>AlnuGlut</i>	50	18				3		
<i>Salix caprea</i> L.	<i>SaliCapr</i>	50	12						
<i>Populus tremula</i> L.	<i>PopuTrem</i>		47			5	13		
<i>Salix alba</i> L.	<i>SaliAlba</i>		29						
<i>Pinus brutia</i> Ten.	<i>PinuBrut</i>			100			3		14
<i>Ostrya carpinifolia</i> Scop.	<i>OstrCarp</i>				50				14
<i>Fraxinus angustifolia</i> Vahl	<i>FraxAngu</i>				38		3	3	14
<i>Pinus nigra</i> J.F.Arnold	<i>PinuNigr</i>					71	3	3	14
<i>Abies bornmuelleriana</i> Mattf.	<i>AbieBorn</i>						3	63	
<i>Acer platanoides</i> L.	<i>AcerPlat</i>					5	10	20	
<i>Carpinus orientalis</i> Mill.	<i>CarpOrie</i>		29		25				
<i>Castanea sativa</i> Mill.	<i>CastSati</i>						52		100
<i>Fagus orientalis</i> Lipsky	<i>FaguOrie</i>					10	84	90	43
<i>Quercus petraea</i> (Matt.) Liebl.	<i>QuerPetr</i>			40	25	95	23	13	14
<i>Carpinus betulus</i> L.	<i>CarpBetu</i>		29		38	19	81	57	43
<i>Tilia platyphyllos</i> Scop.	<i>TiliPlat</i>						3	3	14
<i>Platanus orientalis</i> L.	<i>PlatOrie</i>		12						
<i>Acer trautvetteri</i> Medw.	<i>AcerTrau</i>				13				
<i>Malus sylvestris</i> (L.) Mill.	<i>MaluSylv</i>		12						
<i>Populus alba</i> L.	<i>PopuAlba</i>		6				6		
<i>Ulmus minor</i> Mill.	<i>UlmuMino</i>		6						
<i>Tilia tomentosa</i> Moench	<i>TiliTomn</i>						13		
<i>Pinus pinaster</i> Aiton	<i>PinuPina</i>						3		
<i>Fraxinus excelsior</i> L.	<i>FraxExce</i>						6	10	
<i>Cerasus avium</i> L.	<i>CeraAviu</i>		6				6	10	
<i>Buxus sempervirens</i> L.	<i>BuxuSemp</i>							10	
<i>Sorbus aucuparia</i> L.	<i>SorbAucu</i>		6					7	
<i>Pinus sylvestris</i> L.	<i>PinuSylv</i>		6					3	
<i>Sorbus torminalis</i> (L.) Crantz	<i>SorbTorm</i>					5	3	10	
<i>Corylus avellana</i> L.	<i>CoryAvel</i>							3	



**Figure 3.** Shannon-Wiener species diversity (column chart) and average beta diversity (black line) of forest communities (1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

Diversidad de especies de Shannon-Wiener (gráfico de columnas) y diversidad beta promedio (línea negra) de las comunidades forestales (1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).



**Figure 4.** Detrended Correspondence Analysis (DCA) of forest vegetation (1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

Análisis de correspondencia sin tendencia (DCA) de la vegetación forestal (1: *Quercetum roburi-Aceretum campestri*, 2: *Salicio-Platanetum orientale*, 3: *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, 4: *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli*, 5: *Carpino-Quercetum petraeae*, 6: *Ilici colchicae-Fagetum orientalis*, 7: *Rubo hirtus-Abietum bornmuelleriana*, 8: *Hedero-Castanetum sativae*).

cal conductivity, altitude, sandy-loam soil type, loam soil type, slope, dust content, sand content and pH had a significant contribution in species composition at  $P$  (adj) < 0.05 (table 2).

Mesic *Ilici colchicae-Fagetum orientalis* and *Rubus hirtus-Abietum bornmuelleriana* with their associated species were correlated with altitude, nevertheless soil type

did not make a significant contribution. On the other hand, soil characteristics made a significant effect on the variation of species composition at lower altitudes. *Carpino-Quercetum petraeae* was found on soil with high dust content with a high pH and also electrical conductivity values. On the other hand, *Quercetum roburi-Aceretum campestri* and *Salicio-Platanetum orientale* were related to soil with loam (figure 5).

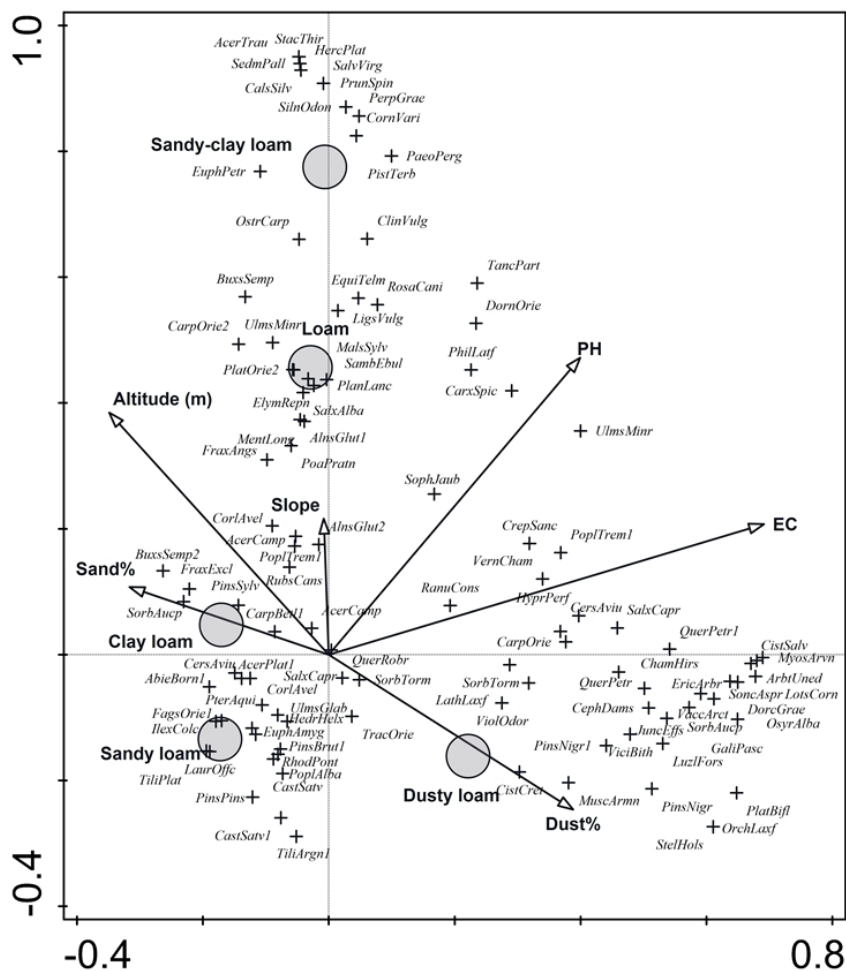
Response models of trees over altitudinal gradient showed increasing linear response for *Acer platanoides*, *Fraxinus excelsior*, *Fraxinus angustifolia* and *Ostrya carpinifolia*. Other trees showed a quadratic distribution over altitude (table S1 in Supplementary material). While the optimum distribution of *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* and *Fagus orientalis* was found between 800-900 m, it was found under 600 m for *Pinus brutia*, *Pinus nigra*, *Quercus petraea*, *Tilia tomentosa*, *Castanea sativa* and *Salix alba* in the study area (figure 6). While *Buxus sempervirens* and *Ostrya carpinifolia* showed an increasing linear distribution, *Carpinus betulus* had a decreasing response on the slope. Other trees had quadratic distribution on the slope (table S1 in Supplementary material). *Castanea sativa*, *Fagus orientalis*, *Fraxinus excelsior*, *Pinus nigra*, *Quercus petraea* and *Ostrya carpinifolia* had their optimum on steep slopes (over 30 degrees) and *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana*, *Pinus brutia*, *Alnus glutinosa*, *Salix caprea*, *Quercus robur* and *Platanus orientalis* had optimum on moderately steep slopes (under 30 degrees) (figure 6).

Species responses to soil content varied for most species. Most species showed quadratic distribution on soil parameters. However, *Carpinus betulus* had a clear decreasing linear response on dust content and *Quercus robur* an increasing linear response on sand content (table S2 in Supplementary material). While *Pinus nigra* and *Castanea sativa* showed a good development on the soil with a higher dust content (over 50 %), *Fagus orientalis*, *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana*, *Carpinus betulus* and *Acer campestre* did it on soil with higher sand content (over 70 %). On the other hand, species such as *Carpinus orientalis*, *Salix alba* and *Populus tremula* had optimum soil dust content around 30-45 %. In terms of soil pH and electrical conductivity, some species such as *Castanea sativa*, *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana*, *Fagus orientalis*, *Populus tremula*, *Quercus robur* showed similar responses. *Pinus nigra* and *Quercus petraea*, which were found on alkaline soils presenting high electrical conductivity. *Pinus brutia*, *Pinus nigra* and *Quercus petraea* had an increasing response on moderately alkaline soils (pH 7-8). *Castanea sativa*, *Tilia tomentosa*, *Pinus pinaster* and *Fagus orientalis* had their optimum on moderately acidic soils (pH 5.6-6) and *Populus tremula*, *Ulmus minor* and *Alnus glutinosa* on slightly acidic soils (pH 6.1-6.5). On the other hand, *Salix caprea*, *Quercus robur*, *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* and *Carpinus orientalis* were found on neutral soils (figure 7).

**Table 2.** Effects of environmental variable on species composition.

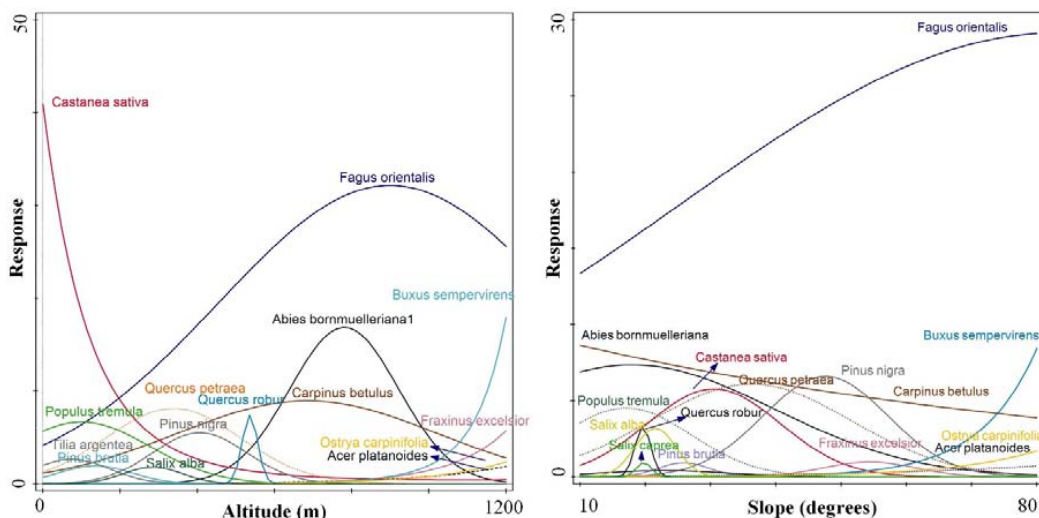
Efectos de la variable ambiental sobre la composición de especies.

Name	Simple term effects			
	Explains %	pseudo-F	P	P(adj)
Electrical conductivity	3.5	4.3	0.002	0.03
Altitude (m)	3.1	3.8	0.002	0.03
Sandy-clay loam	2.9	3.5	0.002	0.03
pH	2.8	3.5	0.002	0.03
Dusty loam	2.8	3.4	0.002	0.03
Loam	2.4	2.9	0.002	0.03
Moisture%	2.3	2.8	0.002	0.03
Slope (degrees)	2.1	2.5	0.002	0.03
Dust%	1.6	1.9	0.002	0.03
Sandy loam	1.5	1.9	0.002	0.03
Clay loam	1.4	1.7	0.002	0.03
Potential direct incident radiation	1.2	1.5	0.010	0.04
Sand%	1.2	1.4	0.020	0.06
Heat load	1.1	1.3	0.096	0.19
Clay%	0.8	1.0	0.510	0.51
Conditional term effects				
Electrical conductivity	3.5	4.3	0.002	0.005
Altitude (m)	3.3	4.2	0.002	0.005
Sandy-clay loam	2.6	3.4	0.002	0.005
Loam	2.3	3.0	0.002	0.005
Dusty loam	1.6	2.1	0.002	0.005
Slope (degrees)	1.3	1.7	0.026	0.043
Dust%	1.5	2.0	0.002	0.005
pH	1.2	1.7	0.022	0.041
Sand%	1.3	1.8	0.004	0.008
Clay loam	1.0	1.3	0.056	0.084
Sandy loam	1.0	1.3	-	-
Potential direct incident radiation	0.9	1.2	0.102	0.139
Moisture%	0.7	0.9	0.532	0.665
Heat load	0.7	0.9	0.630	0.726
Clay%	0.2	0.3	0.888	0.951



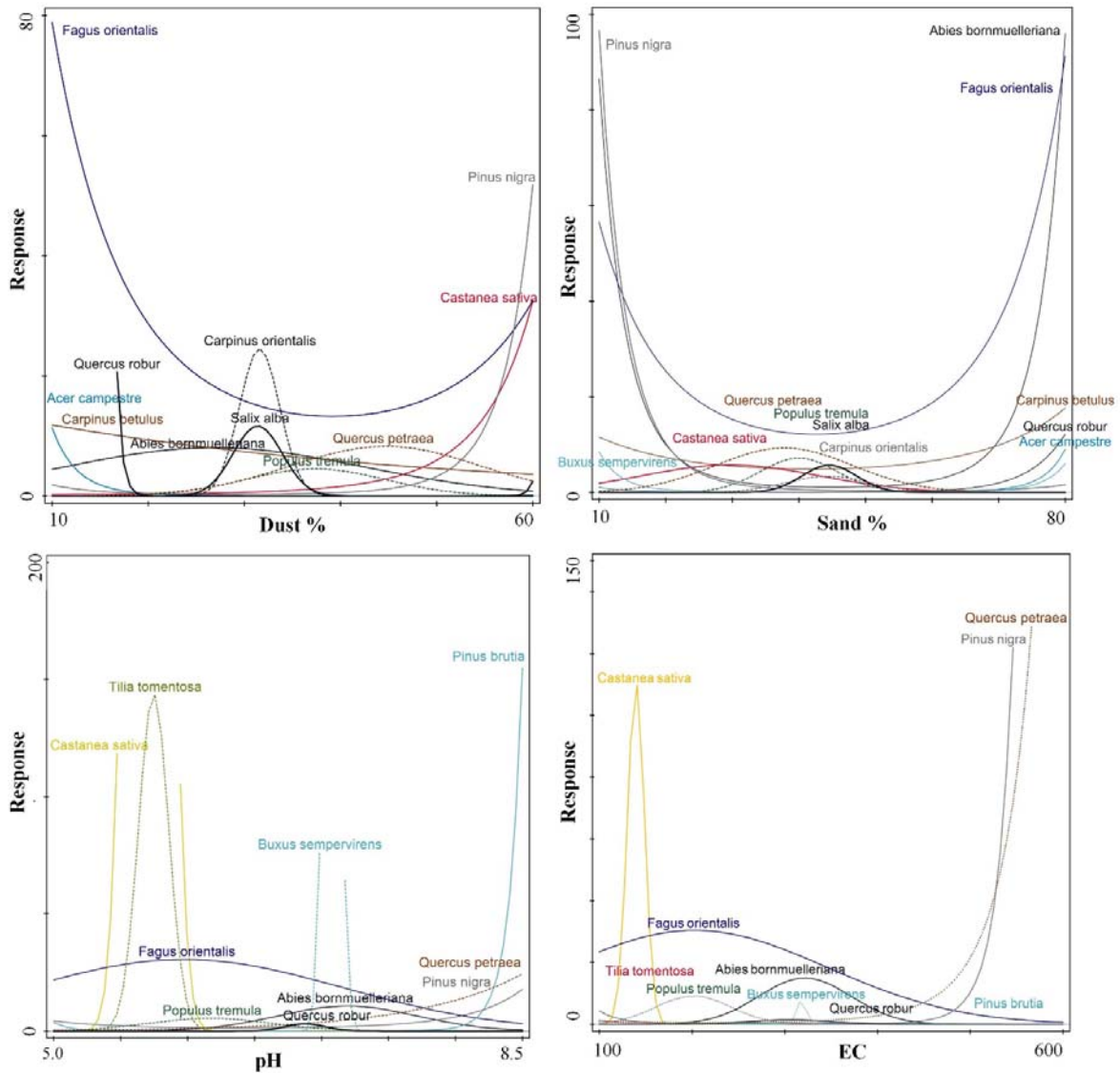
**Figure 5.** Canonical Correspondence Analysis (CCA) graph of forest vegetation (see table 1 for abbreviations of the species, number at the end of the abbreviations 1: tree layer, 2: second tree layer, others are in shrub or herb layers).

Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) de la vegetación forestal (ver cuadro 1 para las abreviaturas de las especies, número al final de las abreviaturas = 1: capa de árboles, 2: segunda capa de árboles, otras están en capas de arbustos o hierbas).



**Figure 6.** Species response curves against topographical variables.  
 Curvas de respuesta de las especies frente a variables topográficas.





**Figure 7.** Species response curves against soil parameters (EC: electrical conductivity).  
 Curvas de respuesta de especies frente a parámetros del suelo.

**DISCUSSION**

According to Bartels and Chen (2010), understory plants are limited by light availability under closed and stratified canopies in young/mature stages of stand development. However, resource quantity and heterogeneity may be key factors in structuring understory species diversity in stands that experience intermediate disturbances. In the study area, the highest species diversity is found in *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae*, which has a low canopy cover and single-layered stand structure. In addition, *Carpino-Quercetum petraeae* and *Salicio-Platanetum orientale* had also higher species diversity compared to other deciduous forest communities owing to leaf structure enabling transmission of more light in the understory

and low canopy cover. The species diversity of the above-mentioned communities is also confirmed by the study of Messier *et al.* (1998) who reported shade-intolerant species (deciduous or coniferous) transmit more light than do shade tolerant tree species. This situation is also revealed with the higher light EIVs of these units (figure 4). Light EIVs, which has a high positive correlation with the potential direct incident radiation and heat load, related to *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* and *Salicio-Platanetum orientale*. Even though intermediate scale disturbance may increase light conditions in the understory, severe disturbances contribute to the spread of *Rhododendron* spp. in the temperate forest systems, which decrease species diversity (Royo and Carson 2006) as shown with *Hedero-Castanetum sativae* association, which has a dense *Rhodo-*

*dendron ponticum* layer. However, forests with azonal character and extreme site conditions (steep slopes) have higher beta diversity such as *Salicio-Platanetum orientale* and *Buxo sempervirens- Carpinetum betuli*. Thus, the first hypothesis was approved since different forest types (coniferous, deciduous-mixed and riparian forests) occurring on heterogeneous ecological conditions exhibit high alpha and/or beta diversity in the region. This was shown both with the alpha and beta diversity of the communities and the gradient length in the DCA ordination indicating a large beta diversity.

Assessment of many species occurring together allows a more reliable estimation of site conditions than does assessment of a single species, as the overlap of ecological tolerances of many species is smaller than the ecological amplitude of a single species. For this reason, mean indicator values of species in a sample plot or community may provide more reliable information (Çoban 2016). For instance, *Quercetum roburi-Aceretum campestri* and *Salicio-Platanetum orientale*, which occur on riversides, differed from other communities with nutrient and humidity EIVs. The high nutrient cycling capacity of riparian forests compared to upland ecosystems is probably the consequence of their open structure to fluvial sources via flood deposits and to lateral fluxes of nutrients from the drainage basin (Pinay *et al.* 1995).

Changes in plant community composition are usually well correlated with changes in soil conditions such as pH, organic matter, weathering processes and nutrient availability (Wardle *et al.* 2004). On the other hand, climate is primarily effective on the variation of forest community composition over altitudinal gradient. Soil characteristics also change depending on the climate. The effects of elevation on growth are due to multiple interacting factors, including temperature, soil depth, precipitation and exposure. In addition to altitude, topographical variables such as slope and aspect influence the forest composition. While aspect can affect species composition and soil properties --including soil moisture, pH, organic matter content and nutrient cycling-- slope gradient can affect soil thickness, water and nutrient retention, among other factors (Gilliam *et al.* 2014, Robin-Abbott and Pardo 2017). At this point, the effects of site condition parameters may vary in combination with other variables. For instance, *Rubus hirtus-Abietum bornmuelleriana*, which prefer higher altitudes, cannot compete with *Buxo sempervirens- Carpinetum betuli* on steep slopes (figures 2 and 4). However, the effect of the potential direct incident radiation and heat load calculated from slope gradient and aspect is not significant in combination of variables. These indexes may give better results for wide areas (*e.g.* at continental scale). Nonetheless, the slope gradient made alone a significant contribution, especially for *Buxus sempervirens*, *Pinus nigra*, *Ostrya carpinifolia* since it affected soil thickness. Therefore, the second hypothesis is true only for measured topographical variables though not for potential direct

incident radiation and heat load which may give better results for larger areas.

Soil types of the forests are important for water and nutrient availability. In general, soils with sufficient water, nutrients and adequate drainage (*e.g.*, sandy loams to clay loams) can be accepted as favorable site conditions for most trees. Clay soils are often fertile, although heavy and poorly drained. Sandy soils are lighter, though they lack water and nutrients (Robin-Abbott and Pardo 2017). For this reason, sandy loam soil type provided favorable conditions for *Abies nordmanniana* subsp. *bornmuelleriana* and *Fagus orientalis*. On the other hand, more tolerant species such as *Pinus nigra* and *Quercus petraea* are associated with dusty soils (figures 4, 5 and 7). MacDonald (2003) defined this phenomenon as “Competitive Exclusion Principle”, which means fully competitive species cannot co-occur. Therefore, small scale variations in site conditions (*i.e.* altitudinal zones, steep slopes, soil type etc.) within an environment enable an array of species with similar site requirements as shown in figures 6 and 7, where species showed varied responses to environmental parameters.

In conclusion, although only 21.9 % of the total variation could be explained with the measured environmental variables, an ecological differentiation among forest communities could be made using topographical (altitude and slope) and some of the soil variables (soil type, EC, pH, dust and sand content) as also shown with different response curves of main tree species. In general, distribution of *Buxo sempervirens-Carpinetum betuli* and *Rubus hirtus-Abietum bornmuelleriana* within higher altitudinal zone (over 600 m) differed with the steepness of the site. On the other hand, soil characteristics affected distribution of other forest communities at lower altitudes where *Phillyreo latifoliae-Pinetum brutiae* occurred on alkaline soils, *Hedero-Castanetum sativae* on soil with high dust content, *Carpino-Quercetum petraeae* on high soil electrical conductivity and *Ilici colchicae-Fagetum orientalis* with low dust content though high sand content providing weathering processes.

The main differences were also reflected using EIVs for humidity, nutrient, light and temperature EIVs using limited numbers of species having indicator values. However, EIVs did not show a good correlation with associated soil parameters such as soil moisture-humidity EIVs and soil pH-acidity EIVs. According to Londo *et al.* (2006), nutrients can become either toxic or unavailable at extremes pH, while soils with a pH of 6.0-7.0 often have the highest concentration of available nutrients (Williston and Lafayette 1978). The extreme pH and electrical conductivity values are found for *Pinus brutia*, *Pinus nigra* and *Quercus petraea*, which negatively correlated with nutrient and humidity EIVs. Therefore, only nutrient and humidity EIVs seem to be associated with soil pH and electrical conductivity values in the study area. However, calibration and assignment EIVs for the flora of Turkey may give better results.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This study was supported by TÜBİTAK, Project number: 114O660. Authors would like to thank Prof. Dr. Süleyman Akbulut and Prof. Dr. Doğanay Tolunay for their valuable comments which helped to improve the manuscript.

## REFERENCES

- Aksoy N. 2006. Vegetation of Düzce-Elmacik Mountain. Doctoral Thesis. İstanbul, Turkey. İstanbul University. 415 p.
- Aksoy N, S Çoban. 2017. Forest communities and ecological differentiation of the Mt. Elmacik (Düzce, Turkey). *Journal of Environmental Biology* 38(5): 923-929. DOI: [10.22438/jeb/38\\_5\(SI\)/GM-08](https://doi.org/10.22438/jeb/38_5(SI)/GM-08)
- Aksoy N, H Zengin, S Çoban, B Tunçkol. 2017. Küre Dağları Milli Parkı'nın Bitki Toplulukları ve Florası (Bartın Bölümü). Düzce, Turkey. TÜBİTAK TOVAG Proje Sonuç Raporu. 364 p.
- Bartels SF, HY Chen. 2010. Is understory plant species diversity driven by resource quantity or resource heterogeneity? *Ecology* 91: 1931-1938. DOI: [10.1890/09-1376.1](https://doi.org/10.1890/09-1376.1)
- Blanquet BJ. 1932. Plant Sociology: The Study of Plant Communities. New York, USA. McGraw-Hill Book. 439 p.
- Blumer A. 2010. Sürdürülebilir Turizm Gelişim Stratejisi (KDMP). İstanbul, Turkey. WWF.153 p.
- Çoban S. 2016. Ecological indicator values of forest communities in Çitdere Region (Yenice-Karabük). *Journal of the Faculty of Forestry İstanbul University* 66(1): 278-287. DOI: [10.17099/jffiu.60821](https://doi.org/10.17099/jffiu.60821)
- Çoban S, G Özalp. 2012. The vegetation analysis of mixed Ulu-dag Fir (*Abies bornmulleriana* Mattf.) forests in Bolu Ayıkaya Region/Turkey. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi* 14: 62-73.
- Dwire KA, JB Kauffman, EJ Brookshire, JE Baham. 2004. Plant biomass and species composition along an environmental gradient in montane riparian meadows. *Oecologia* 139(2): 309-317.
- Ekici B. 2012. Mapping of the biotopes in the Kurucasile (Bartın) coastline and its surrounding areas. Bartın, Turkey. Doctoral Thesis, Bartın Üniversitesi. 376 p.
- Ellenberg H. 1979. Zeigerwerte der Gefäßpflanzen Mitteleuropas. In Indicator values of Central European vascular plants. *Scripta Geobotanica* 9: 1-121.
- Ellenberg H, HE Weber, R Düll, V Wirth, W Werner, D Paulsen. 1992. Zeigerwerte von Pflanzen. In Mitteleuropa. 2nd ed. *Scripta Geobotanica* 18: 1-248.
- Gilliam FS, R Hédl, M Chudomelová, RL McCulley, JA Nelson. 2014. Variation in vegetation and microbial linkages with slope aspect in a montane temperate hardwood forest. *Ecosphere* 5: 1-17. DOI: [10.1890/ES13-00379.1](https://doi.org/10.1890/ES13-00379.1)
- Göncüoğlu CM, Ö Bozkaya, A Türkmenoğlu, Ö Ünlüce, C Okuyucu. 2015. Geochemical Characteristics and Origin of Late Devonian K-Bentonites from Bartın-Zonguldak-Karabük area. In Proceedings of "16. Nat. Clay Symposium" 02-05 Sep. 2015. Çanakkale, Turkey. p. 26-27.
- Jean-Claude G, K Eva. 2003. Comparison of indicator values of forest understory plant species in Western Carpathians (Slovakia) and Vosges Mountains (France). *Forest Ecology and Management* 182: 1-11. DOI: [10.1016/S0378-1127\(03\)00068-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1127(03)00068-9)
- Kent M, P Coker. 1992. Vegetation description and analysis: a practical approach. Chichester, England. John Wiley. 384 p.
- Londo AJ, JD Kushla, RC Carter. 2006. Soil pH and tree species suitability in the south. Athens, Greece. Southern Regional Extension Forestry. GA, SREF-FM-002. p. 1-4.
- Macdonald GM. 2003. Biogeography: Introduction to space, time, and life. London, UK. John Wiley. 528 p.
- McCune B, D Keon. 2002. Equations for potential annual direct incident radiation and heat load. *Journal of Vegetation Science* 13(4): 603-606. DOI: [10.1111/j.1654-1103.2002.tb02087.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2002.tb02087.x)
- Messier C, S Parent, Y Bergeron. 1998. Effects of overstory and understory vegetation on the understory light environment in mixed boreal forests. *Journal of Vegetation Science* 9: 511-520. DOI: [10.2307/3237266](https://doi.org/10.2307/3237266)
- Mueller D, HD Ellenberg. 1974. Aims and methods of vegetation ecology. New York, USA. John Wiley. 547 p
- Pignatti S, P Bianco, G Fanelli, R Guarino, J Petersen, P Tescarollo. 2001. Reliability and effectiveness of Ellenberg's indices in checking flora and vegetation changes induced by climatic variations. In Körner C, GR Walther, CA Burga, PJ Edwards eds. Fingerprints of climate change, adapted behaviour and shifting species ranges. New York, USA. Kluwer Academic/Plenum Publishers. p. 281-300.
- Pinay G, C Ruffinoni, A Fabre. 1995. Nitrogen cycling in two riparian forest soils under different geomorphic conditions. *Biogeochemistry* 30(1): 9-29. <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02181038>
- Quézel P, M Barbéro, Y Akman. 1992. Typification de Syntaxa Décrites en Région Méditerranéenne Orientale. *Ecologia Mediterranea* 18: 61-87. DOI: [10.3406/ECMED.1992.1708](https://doi.org/10.3406/ECMED.1992.1708)
- Robin-Abbott MJ, LH Pardo. 2017. How climatic conditions, site, and soil characteristics affect tree growth and critical loads of nitrogen for northeastern tree species. Gen. Tech. Rep. NRS-172. Newtown Square, USA. US Department of Agriculture, Forest Service, Northern Research Station. 143 p. DOI: [10.2737/NRS-GTR-172](https://doi.org/10.2737/NRS-GTR-172).
- Royo AA, WP Carson. 2006. On the formation of dense understory layers in forests worldwide: consequences and implications for forest dynamics, biodiversity, and succession. *Canadian Journal of Forest Research* 36(6): 1345-1362. DOI: [10.1139/x06-025](https://doi.org/10.1139/x06-025)
- Schaffers AP, KV Sýkora. 2000. Reliability of Ellenberg indicator values for moisture, nitrogen and soil reaction: a comparison with field measurements. *Journal of Vegetation Science* 11(2): 225-244. DOI: [10.2307/3236802](https://doi.org/10.2307/3236802)
- Şengönül K, Ö Kara, Ş Palta, H Şensoy. 2009. Bartın Uluyayla Yöresindeki Mera ve Vegetasyonun Bazı Kantitatif Özelliklerinin Saptanması ve Ekolojik Yapılarının Belirlenmesi. *Bartın Orman Fakültesi Dergisi* 11(16): 81-94. <https://pdfs.semanticscholar.org/b855/d609e972affac5221ea8ba-a6630c5dda9e33.pdf>
- Šmilauer P, J Lepš. 2014. Multivariate analysis of ecological data using CANOCO 5. Cambridge, UK. Cambridge University Press. 376 p. DOI: [10.1017/CBO9781139627061](https://doi.org/10.1017/CBO9781139627061)
- Schwarz O. 1936. Die Vegetations Verhältnisse West Anatoliens. *Englers Botanische Jahrbücher für Systematik* 67: 297-436.
- Tichý L, J Holt. 2006. Juice program for management, analysis and classification of ecological data. Brno, Czech Republic. Masaryk University. 103 p.
- Tunçkol B. 2017. Plant communities and flora of Küre Mountains National Park (Bartın Section). Düzce, Turkey. Doctoral

- rate thesis. Düzce University. 355 p.
- Uz B, T Öztaş, F Esenli, Ş Özdamar. 2001. Geological and Petrographical Characteristic of Düzköy-Düzağaç (Ulus-Bartın) Travertine Occurances and Their Utilization as Marble. *In* Proceedings of Türkiye III. Mermer Sempozyumu Bildiriler Kitabı, 3-5 May. Afyon, Turkey. p. 33-40.
- Wamelink G, PW Goedhart, HF Van Dobben, F Berendse. 2005. Plant species as predictors of soil pH: Replacing expert judgement with measurements. *Journal of Vegetation Science* 16: 461-470. DOI: [10.1111/j.1654-1103.2005.tb02386.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2005.tb02386.x)
- Wardle DA, LR Walker, RD Bardgett. 2004. Ecosystem properties and forest decline in contrasting long-term chronosequences. *Science* 305: 509–513. DOI: [10.1126/science.1098778](https://doi.org/10.1126/science.1098778)
- Williston HL, R LaFayette. 1978. Species suitability and pH of soils in southern forests. *Forestry Management Bulletin*. Atlanta, USA. U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southeastern Area, State and Private Forestry. 5 p.
- Yurdakulol E, M Demirörs, A Yıldız. 2002. A phytosociological study of the vegetation of the Devrekani-İnebolu-Abana area (Kastamonu, Turkey). *Israel Journal of Plant Sciences* 50(4): 293-311. DOI: [10.1560/NQUF-CB48-BYA7-NGVD](https://doi.org/10.1560/NQUF-CB48-BYA7-NGVD).

Recibido: 08/06/20  
Aceptado: 17/07/20

SUPPLEMENTARY MATERIAL

**Table S1.** Results of species response curves of trees for topographical parameters.

Resultados de las curvas de respuesta de especies de árboles para parámetros topográficos.

Predictors	Altitude (m)					
Distribution	Poisson					
Link function	log					
GLM fitted for 31 response variables:						
Response	Type	R <sup>2</sup> [%]	F	P	Optimum	Tolerance
<i>Abies bornmuelleriana</i>	quadratic	36.3	468.4	<0.00001	NA	NA
<i>Acer campestre</i>	quadratic	15.1	11.7	0.00002	NA	NA
<i>Acer platanoides</i>	linear	19.3	18.8	0.00003	NA	NA
<i>Carpinus betulus</i>	quadratic	3.8	44.7	<0.00001	NA	NA
<i>Castanea sativa</i>	quadratic	26.0	252.9	<0.00001	NA	NA
<i>Fagus orientalis</i>	quadratic	7.5	189.0	<0.00001	NA	NA
<i>Fraxinus angustifolia</i>	linear	14.3	11.2	0.00107	NA	NA
<i>Fraxinus excelsior</i>	linear	37.6	48.7	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus brutia</i>	quadratic	38.6	34.1	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus nigra</i>	quadratic	16.8	121.1	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus pinaster</i>	quadratic	69.1	9.9	0.00072	305.04	4.47
<i>Pinus sylvestris</i>	quadratic	42.1	5.2	0.00676	506.77	38.51
<i>Populus alba</i>	quadratic	25.3	18.3	<0.00001	242.13	66.64
<i>Populus tremula</i>	quadratic	22.5	138.3	<0.00001	NA	NA
<i>Quercus petraea</i>	quadratic	15.6	161.6	<0.00001	NA	NA
<i>Tilia tomentosa</i>	quadratic	48.1	43.4	<0.00001	NA	NA
<i>Tilia platyphyllos</i>	quadratic	34.4	6.4	0.00226	597.78	51.34
<i>Acer trautvetteri</i>	quadratic	96.7	9.3	0.09732	1035.88	7.48
<i>Alnus glutinosa</i>	quadratic	9.7	11.6	0.00003	NA	NA
<i>Buxus sempervirens</i>	quadratic	34.9	38.9	<0.00001	NA	NA
<i>Carpinus orientalis</i>	quadratic	5.8	14.5	<0.00001	NA	NA
<i>Corylus avellana</i>	quadratic	73.8	3.5	0.05191	737.27	5.08
<i>Malus sylvestris</i>	quadratic	88.2	7.2	0.01338	460.75	6.46
<i>Ostrya carpinifolia</i>	linear	25.4	22.7	<0.00001	NA	NA
<i>Platanus orientalis</i>	quadratic	84.2	20.7	0.0038	442.49	4.61
<i>Quercus robur</i>	quadratic	57.4	123.6	<0.00001	536.15	20.03
<i>Salix alba</i>	quadratic	23.1	57.4	<0.00001	NA	NA
<i>Salix caprea</i>	quadratic	17.6	11.8	0.00002	NA	NA
<i>Sorbus aucuparia</i>	quadratic	37.0	5.6	0.00503	814.38	75
<i>Ulmus glabra</i>	quadratic	41.0	11.2	0.00004	573.65	50.19
<i>Ulmus minor</i>	quadratic	97.9	14.1	0.00239	562.61	2.53

Continue



Table S1 Continued

Predictors	Slope (degrees)					
Distribution	Poisson					
Link function	log					
GLM fitted for 27 response variables:						
Response	Type	R2[%]	F	P	Optimum	Tolerance
<i>Abies bornmuelleriana</i>	quadratic	4.6	59.9	<0.00001	17.93	21.79
<i>Acer campestre</i>	linear	7.3	11.3	0.00106	NA	NA
<i>Acer platanoides</i>	linear	6.7	6.5	0.01178	NA	NA
<i>Carpinus betulus</i>	linear	0.8	19.2	0.00003	NA	NA
<i>Castanea sativa</i>	quadratic	8.7	85.2	<0.00001	30.49	10.21
<i>Fagus orientalis</i>	quadratic	1.6	40.7	<0.00001	83.31	58.68
<i>Fraxinus excelsior</i>	quadratic	35.0	22.7	<0.00001	54.35	7.06
<i>Pinus brutia</i>	quadratic	27.1	23.9	<0.00001	25.85	3.87
<i>Pinus nigra</i>	quadratic	18.9	136.8	<0.00001	47.61	9.61
<i>Pinus pinaster</i>	quadratic	33.7	4.9	0.0127	30.02	1.11
<i>Populus alba</i>	quadratic	8.2	6.0	0.0034	37.6	8.16
<i>Populus tremula</i>	quadratic	16.7	103.1	<0.00001	16.98	10.09
<i>Quercus petraea</i>	quadratic	4.2	43.1	<0.00001	36.18	15.34
<i>Tilia tomentosa</i>	quadratic	9.7	8.8	0.00028	22.92	9.55
<i>Tilia platyphyllos</i>	quadratic	23.2	4.3	0.01515	35.74	3.23
<i>Acer trautvetteri</i>	quadratic	77.1	7.4	0.0126	70.28	2.25
<i>Alnus glutinosa</i>	quadratic	25.6	30.7	<0.00001	18.97	6.04
<i>Buxus sempervirens</i>	linear	45.5	101.5	<0.00001	NA	NA
<i>Carpinus orientalis</i>	quadratic	8.5	21.3	<0.00001	55.47	15.52
<i>Corylus avellana</i>	linear	62.6	6.0	0.01971	NA	NA
<i>Malus sylvestris</i>	quadratic	47.8	3.9	0.0254	19.79	1.23
<i>Ostrya carpinifolia</i>	linear	23.5	21.0	0.00001	NA	NA
<i>Platanus orientalis</i>	quadratic	47.8	11.8	0.00015	19.81	1.16
<i>Quercus robur</i>	quadratic	48.3	104.0	<0.00001	19.6	1.22
<i>Salix alba</i>	quadratic	37.6	93.4	<0.00001	21.52	3.17
<i>Salix caprea</i>	quadratic	46.8	31.4	<0.00001	19.74	1.14
<i>Ulmus minor</i>	quadratic	33.7	4.9	0.0127	30.02	1.11

**Table S2.** Results of species response curves of trees for soil parameters.

Resultados de las curvas de respuesta de especies de árboles para parámetros de suelo.

Predictors		Sand%					
Distribution		Poisson					
Link function		log					
GLM fitted for 25 response variables:							
Response	Type	R2[%]	F	P	Optimum	Tolerance	
<i>Abies bornmuelleriana</i>	quadratic	20.3	262.6	<0.00001	NA	NA	
<i>Acer campestre</i>	quadratic	25.9	20.0	<0.00001	NA	NA	
<i>Acer platanoides</i>	linear	7.8	7.6	0.00671	NA	NA	
<i>Carpinus betulus</i>	quadratic	2.5	29.4	<0.00001	NA	NA	
<i>Castanea sativa</i>	quadratic	13.4	130.6	<0.00001	29.72	13.3	
<i>Fagus orientalis</i>	quadratic	8.9	226.0	<0.00001	NA	NA	
<i>Fraxinus angustifolia</i>	linear	8.9	7.0	0.00948	NA	NA	
<i>Fraxinus excelsior</i>	linear	13.6	17.7	0.00005	NA	NA	
<i>Pinus brutia</i>	quadratic	21.7	19.2	<0.00001	31.84	4.93	
<i>Pinus nigra</i>	quadratic	32.1	231.4	<0.00001	NA	NA	
<i>Pinus pinaster</i>	quadratic	76.6	11.0	0.00159	63.89	0.426	
<i>Populus tremula</i>	quadratic	25.6	157.7	<0.00001	39.96	5.8	
<i>Quercus petraea</i>	quadratic	17.8	184.0	<0.00001	37.75	10.32	
<i>Acer trautvetteri</i>	quadratic	66.4	6.4	0.01889	50.46	0.628	
<i>Alnus glutinosa</i>	quadratic	6.0	7.1	0.00118	56.95	16.65	
<i>Buxus sempervirens</i>	quadratic	15.0	16.7	<0.00001	NA	NA	
<i>Carpinus orientalis</i>	quadratic	28.5	71.9	<0.00001	44.36	6.22	
<i>Malus sylvestris</i>	quadratic	47.5	3.9	0.02351	44.6	3.13	
<i>Ostrya carpinifolia</i>	quadratic	27.3	12.2	0.00001	48.94	7.59	
<i>Platanus orientalis</i>	quadratic	47.5	11.7	0.00003	44.6	3.13	
<i>Quercus robur</i>	linear	36.7	158.0	<0.00001	NA	NA	
<i>Salix alba</i>	quadratic	44.9	111.6	<0.00001	44.55	4.07	
<i>Salix caprea</i>	linear	21.1	28.4	<0.00001	NA	NA	
<i>Sorbus aucuparia</i>	linear	24.3	7.3	0.0079	NA	NA	
<i>Ulmus glabra</i>	quadratic	23.9	6.5	0.00207	NA	NA	
Predictors		Dust%					
Distribution		Poisson					
Link function		log					
GLM fitted for 25 response variables:							
Response	Type	R2[%]	F	P	Optimum	Tolerance	
<i>Abies bornmuelleriana</i>	quadratic	5.0	64.0	<0.00001	26.87	15.53	
<i>Acer campestre</i>	quadratic	22.3	17.2	<0.00001	??	??	
<i>Acer platanoides</i>	linear	5.1	5.0	0.02784	NA	NA	

Continue

Table S2 Continued

<i>Carpinus betulus</i>	linear	3.3	78.8	<0.00001	NA	NA
<i>Castanea sativa</i>	quadratic	27.6	269.1	<0.00001	NA	NA
<i>Fagus orientalis</i>	quadratic	6.0	152.5	<0.00001	NA	NA
<i>Fraxinus angustifolia</i>	linear	8.4	6.6	0.01165	NA	NA
<i>Fraxinus excelsior</i>	quadratic	8.7	5.6	0.00468	41.59	9.46
<i>Pinus brutia</i>	quadratic	19.6	17.3	<0.00001	40.01	6.02
<i>Pinus nigra</i>	quadratic	36.8	265.7	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus pinaster</i>	quadratic	63.1	9.1	0.00087	18.31	0.213
<i>Populus alba</i>	linear	5.5	8.0	0.00551	NA	NA
<i>Populus tremula</i>	quadratic	15	92.6	<0.00001	37.36	7.29
<i>Quercus petraea</i>	quadratic	16.5	170.6	<0.00001	44.68	9.91
<i>Tilia tomentosa</i>	quadratic	10.3	9.3	0.00018	NA	NA
<i>Acer trautvetteri</i>	quadratic	66.3	6.4	0.01463	31.2	0.271
<i>Alnus glutinosa</i>	linear	3.2	7.8	0.00611	NA	NA
<i>Carpinus orientalis</i>	quadratic	52.1	131.4	<0.00001	31.59	2.1
<i>Ostrya carpinifolia</i>	quadratic	6.9	3.1	0.04873	30.96	9.76
<i>Platanus orientalis</i>	quadratic	30.7	7.6	0.00082	31.68	4.03
<i>Quercus robur</i>	quadratic	60.9	131.0	<0.00001	NA	NA
<i>Salix alba</i>	quadratic	44.9	111.6	<0.00001	31.39	2.56
<i>Salix caprea</i>	linear	23.3	31.2	<0.00001	NA	NA
<i>Sorbus aucuparia</i>	quadratic	34.6	5.2	0.00861	23.08	1.79
<i>Ulmus glabra</i>	quadratic	28.3	7.7	0.00071	NA	NA
Predictors	pH					
Distribution	Poisson					
Link function	log					
GLM fitted for 23 response variables:						
Response	Type	R2[%]	F	P	Optimum	Tolerance
<i>Abies bornmuelleriana</i>	quadratic	17.4	224.6	<0.00001	7.19	0.519
<i>Acer campestre</i>	quadratic	29.3	22.6	<0.00001	6.99	0.255
<i>Castanea sativa</i>	quadratic	63.3	616.4	<0.00001	5.71	0.116
<i>Fagus orientalis</i>	quadratic	7.8	197.4	<0.00001	5.97	1.19
<i>Pinus brutia</i>	quadratic	43.4	38.3	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus nigra</i>	quadratic	4.8	34.6	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus pinaster</i>	quadratic	42.2	6.1	0.00442	5.92	0.097
<i>Pinus sylvestris</i>	linear	29.3	7.3	0.00788	NA	NA
<i>Populus alba</i>	linear	23.2	33.6	<0.00001	NA	NA
<i>Populus tremula</i>	quadratic	21.5	132.1	<0.00001	6.16	0.462
<i>Quercus petraea</i>	linear	18.9	392.4	<0.00001	NA	NA
<i>Sorbus torminalis</i>	quadratic	0.1	0.02464	0.97567	NA	NA

Continue

Table S2 Continued

<i>Tilia tomentosa</i>	quadratic	31.6	28.4	<0.00001	5.75	0.112
<i>Acer trautvetteri</i>	quadratic	56.6	5.4	0.00855	7.82	0.052
<i>Alnus glutinosa</i>	quadratic	19.8	23.8	<0.00001	6.46	0.416
<i>Buxus sempervirens</i>	quadratic	37.7	42.0	<0.00001	7.08	0.055
<i>Carpinus orientalis</i>	quadratic	9.2	23.1	<0.00001	6.87	0.534
<i>Ostrya carpinifolia</i>	quadratic	13.4	6.0	0.00332	NA	NA
<i>Quercus robur</i>	quadratic	43.4	93.5	<0.00001	6.87	0.152
<i>Salix alba</i>	quadratic	11.7	29.1	<0.00001	6.88	0.451
<i>Salix caprea</i>	quadratic	34.5	23.2	<0.00001	6.85	0.196
<i>Sorbus aucuparia</i>	quadratic	32.5	4.9	0.00921	7	0.206
<i>Ulmus minor</i>	quadratic	56.6	8.1	0.00179	6.35	0.047
Predictors	EC					
Distribution	Poisson					
Link function	log					
GLM fitted for 10 response variables:						
Response	Type	R2[%]	F	P	Optimum	Tolerance
<i>Abies bornmuelleriana</i>	quadratic	44.8	578.3	<0.00001	NA	NA
<i>Carpinus betulus</i>	quadratic	5.1	60.2	<0.00001	NA	NA
<i>Castanea sativa</i>	quadratic	63.3	616.4	<0.00001	139.36	9.17
<i>Fagus orientalis</i>	quadratic	11.2	283.8	<0.00001	NA	NA
<i>Pinus brutia</i>	quadratic	8.7	7.7	0.00075	NA	NA
<i>Pinus nigra</i>	quadratic	38.6	278.8	<0.00001	NA	NA
<i>Quercus petraea</i>	quadratic	53.0	549.1	<0.00001	NA	NA
<i>Platanus orientalis</i>	quadratic	57.4	14.1	0.00001	167.06	6.74
<i>Quercus robur</i>	quadratic	23.2	50.1	<0.00001	305.03	45.23
<i>Salix alba</i>	quadratic	56.8	141.0	<0.00001	171.34	11.28





## Estimadores para atributos forestales en una población simulada de selva mediana del sur de México

Estimators for forest attributes on a simulated population of medium-sized tropical forest in southern Mexico

Efraín Velasco-Bautista <sup>a</sup>, Héctor de los Santos-Posadas <sup>b\*</sup>, Hugo Ramírez-Maldonado <sup>c</sup>,  
Gilberto Rendón-Sánchez <sup>d</sup>, José René Valdez-Lazalde <sup>b</sup>, Miguel Acosta-Mireles <sup>e</sup>

<sup>a</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Conservación y Mejoramiento de Ecosistemas Forestales, Ciudad de México, México.

\*Autor de correspondencia: <sup>b</sup>Colegio de Postgraduados, Postgrado en Ciencias Forestales, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, Estado de México, México, CP. 56230, tel.: 52-595-9520246, hmsantos@colpos.mx

<sup>c</sup>Universidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales. Chapingo, Estado de México.

<sup>d</sup>Colegio de Postgraduados, Postgrado en Socioeconomía, Estadística e Informática-Estadística, Montecillo, Estado de México.

<sup>e</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Texcoco, Estado de México, México.

### SUMMARY

Throughout the data of the National Forest and Soil Inventory (INFyS) of Mexico, it is not uncommon to find clusters with less than four subplots (incomplete). The consequences of this condition on the forest parameters estimates are yet to be completely analyzed. The main objective of this work was to compare the behavior of different sampling estimators under such conditions of cluster completeness. Using an artificial population of 9,370,000 trees, created on a 10,000 ha surface, a total of 88 systematic sampling grids using four-plot circular clusters were set. Each grid had 81 clusters, separated by 1 km. On each sampling grid, three different completeness conditions were tested: a) full completeness (all clusters with four subplots) b) 88 % completeness and c) 63 % completeness. On each condition, timber volume ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ ) and tree density ( $\text{tree ha}^{-1}$ ) were estimated using the following estimators: 1) Forest Inventory and Analysis (FIA) 2) Van Deusen Estimators 3) Means of ratio and 4) Ratio of means. The estimators were evaluated using relative bias on the mean and the variance. For volume, on each of the three completeness conditions, the mean estimates were similar and unbiased using the proposed four estimators. Nevertheless, the FIA estimator produced biased variance estimates ranging from two to five times larger for 88% and 63% completeness respectively. Similar behavior was observed on tree density. The FIA estimators will produce biased results on the variance estimator when a high percentage of clusters is incomplete.

*Key words:* forest inventory, ratio of means, means of ratio, Van Deusen estimator, lognormal distribution.

### RESUMEN

En el Inventario Nacional Forestal y de Suelos (INFyS) de México es frecuente obtener información en conglomerados menores a cuatro subparcelas. Las consecuencias de esto en las estimaciones de parámetros forestales no se han abordado lo suficiente. El objetivo del trabajo fue comparar cuatro estimadores para el volumen maderable y la densidad arbórea en tres condiciones de completitud de conglomerados. En una población artificial de 9.370.000 árboles en 10.000 ha se diseñaron 88 redes sistemáticas de muestreo con conglomerados de subparcelas circulares; cada red estuvo conformada por 81 unidades de muestreo, equidistantes a 1 km. En función del número de conglomerados completos se consideraron las siguientes condiciones de completitud: (a) al 100 %, (b) al 88 % y (c) al 63 %. En cada condición se estimó el volumen maderable ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ ) y la densidad arbórea ( $\text{árboles ha}^{-1}$ ) mediante los estimadores: (1) *Forest Inventory and Analysis* (FIA), (2) Van Deusen (VAN), (3) Media de Razones (MR) y (4) Razón de Medias (RM). Para su comparación se usó el sesgo relativo, cuyos valores cercanos a cero son deseables. En cada condición analizada, las estimaciones de volumen por hectárea, para los cuatro estimadores, fueron similares e insesgadas. La varianza estimada mediante FIA fue sesgada en conglomerados incompletos, con valores superiores a dos y cinco veces la varianza verdadera para la segunda y tercera condición, respectivamente. Un comportamiento similar se observó para la densidad. Los estimadores FIA no son adecuados para estimar la varianza cuando se tiene un alto porcentaje de conglomerados incompletos.

*Palabras clave:* inventario forestal, razón de medias, media de razones, estimador Van Deusen, distribución log-normal.

## INTRODUCCIÓN

El diseño de muestreo del Inventario Nacional Forestal y de Suelos (INFyS) de México tiene como unidad de muestreo un conglomerado (parcela) integrado por cuatro subparcelas, las cuales están dispuestas geométricamente en forma de una “Y” invertida con respecto al norte (CONAFOR 2012, CONAFOR 2018). Por razones diversas, existe la posibilidad que al utilizar el muestreo en campo algunos conglomerados tengan menos de cuatro subparcelas, lo cual conduce a conglomerados de tamaños distintos. Algunas de estas razones son: inaccesibilidad física a una parte del conglomerado, conglomerados físicamente truncados por orografía, cambios en el uso del suelo, estratificación o tipos de vegetación, entre otras. Dado que el porcentaje de conglomerados incompletos del INFyS de México, en algunos casos, es superior al 10 % a nivel estatal, poco se ha explorado sobre cuáles son las consecuencias que el uso de conglomerados de distinto tamaño tiene en la precisión de las estimaciones (Van Deusen 2004, Velasco *et al.* 2005). Si existe variación notable entre los tamaños de los conglomerados y si estos están altamente correlacionados con los totales de los conglomerados, la varianza del total basada en la media muestral es generalmente mayor que la varianza basada en un estimador que considere el tamaño de los conglomerados como variable auxiliar (Lohr 2010, Scheaffer *et al.* 2012). Un ejemplo de esto es el estimador Razón de Medias (RM), que se recomienda cuando la varianza de la variable de interés es proporcional a la variable auxiliar.

Zarnoch y Bechtold (2000) señalan tres casos generales en los que el estimador de razón puede aplicarse para estimar parámetros forestales cuando se usan parcelas mapeadas, como unidades de muestreo, en el contexto del *Forest Inventory Analysis Program* (FIA) y el *National Forest Health Monitoring Program* (NFHM) de los Estados Unidos. Estos autores mencionan que los estimadores de razón pueden ser convenientemente aplicados en la estimación de: (a) atributos por hectárea, (b) atributos a nivel de árbol y (c) atributos a nivel de rodal. El estimador de razón, con el área efectivamente muestreada en el conglomerado como variable auxiliar, fue recomendado para la estimación de atributos forestales del Inventario Nacional Forestal de México (Velasco *et al.* 2005), el cual es un referente para la obtención de indicadores dasométricos a nivel nacional (CONAFOR 2018). Asimismo, los estimadores de razón de medias son recomendables incluso para la estimación de densidad arbolada en áreas urbanas (Álvarez *et al.* 2005) y para la estimación de atributos de salud a nivel de árbol, por ejemplo, la densidad de copa (Woodall *et al.* 2011, Bechtold y Randolph 2018). De manera alternativa el estimador de Media de Razones (MR) se recomienda cuando la varianza de la variable de interés es proporcional al cuadrado de la variable auxiliar (Scott *et al.* 2005).

De esta manera, Smelko y Merganic (2008) analizan los estimadores MR y RM en el contexto del Inventario y Monitoreo Forestal Nacional de Slovakia. Van Deusen (2004, 2005a) utiliza un estimador tipo RM, denominado estimador Van Deusen (VAN), pero expresan la varianza en términos del área de la parcela medida en campo. En estos casos, la variable de interés se correlaciona con el área de la parcela efectivamente muestreada en campo. En el contexto del FIA, Scott *et al.* (2005) y Van Deusen (2005a), estudian un estimador, llamado estimador *Forest Inventory and Analysis* (FIA), que toma en cuenta la proporción promedio de una parcela que está en la población de interés.

Al considerar que la cantidad del atributo de interés en el conglomerado es alguna función del área efectivamente muestreada del mismo y al tomar en cuenta los diferentes supuestos de la varianza del modelo lineal general que propone Van Deusen (2007), los estimadores FIA, VAN, MR y RM pueden derivarse empleando el método de mínimos cuadrados generalizados (Rencher y Bruce 2008). Dados los diferentes supuestos en los modelos, se espera que dichos estimadores y sus respectivas varianzas se desempeñen de manera distinta cuando se usen para estimar parámetros forestales agregados al emplear conglomerados incompletos.

Aun cuando un conglomerado del INFyS comprende dos o más subparcelas disjuntas, los datos que genera son analizados como una sola parcela debido a que el conglomerado es atado a un solo punto muestral. Así, en el análisis final, el conglomerado de subparcelas simplemente sirve para identificar aquellos elementos cuyas zonas de inclusión espacialmente disjuntas incluyen al punto muestral (Gregoire y Valentine 2008).

En este trabajo, los cuatro estimadores se analizan desde el contexto de conglomerados integrados por subparcelas disjuntas, no obstante, también pueden aplicarse cuando se tienen parcelas de área fija convencionales, siempre y cuando se cuantifique el área de la unidad de muestreo que corresponde a la población o estrato de interés.

En el presente estudio se utiliza una población artificial de 9.370.000 árboles, construida con base en los parámetros de escala y de forma de una distribución log-normal ajustada con datos reales de la selva mediana subperennifolia de Quintana Roo, México, obtenidos del INFyS en 2010.

El objetivo del presente trabajo es comparar los estimadores FIA, VAN, MR y RM, al considerar el volumen maderable ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ ) y la densidad arbórea ( $\text{árboles ha}^{-1}$ ), en tres condiciones de completitud de los conglomerados. Para este fin, se utilizan como criterios el sesgo de la estimación relativo y el sesgo de la varianza relativo. La hipótesis de la investigación es que los cuatro estimadores puntuales y los estimadores de sus respectivas varianzas son insesgados independientemente del grado de completitud del conglomerado.

## MÉTODOS

*Notación para derivar los estimadores estadísticos.* Dado que en el presente estudio se evaluó el sesgo de la estimación puntual y el sesgo de la varianza de los estimadores FIA, VAN, MR y RM cuando se tienen parcelas de inventario en diferente grado de completitud es necesario presentar en detalle las respectivas estructuras matemáticas, las cuales pueden obtenerse mediante el modelo lineal general propuesto por Van Deusen (2007) empleando el método de mínimos cuadrados generalizados (Rencher y Bruce 2008). Para tal efecto, considérese la notación siguiente:  $\mu$ : media de la variable  $y$  por unidad de área (volumen,  $m^3 ha^{-1}$  y densidad, árboles  $ha^{-1}$ );  $y_s$ : medición de la variable  $y$  en la parcela  $s$ ;  $a_0$ : área de la parcela  $s$  ideal para medir la variable  $y$ , es decir, 0,16 ha (CONAFOR 2012, 2018);  $a_s$ : área de la parcela  $s$  (ha) efectivamente muestreada en campo;  $m$ : número de parcelas que pertenecen a la población de interés.

*Estimador FIA* (Scott *et al.* 2005, Van Deusen 2005a). Al considerar una estimación de la varianza en forma convencional, la media y la varianza de FIA son, respectivamente, las siguientes:

$$\bar{y}_{ha}^{-FIA} = \sum_{s=1}^m y_{ha}(s) / m \quad [1]$$

$$v(\bar{y}_{ha}^{-FIA}) = \sum_{s=1}^m (y_{ha}(s) - \bar{y}_{ha}^{-FIA})^2 / m(m-1) \quad [2]$$

donde,  $y_{ha}(s) = y_s / a_0 (\sum_{s=1}^m a_s / a_0 m)$

En la media de FIA  $a_0 m = \sum_{s=1}^m a_0$  es el área total deseable a muestrear asumiendo conglomerados completos y  $\sum_{s=1}^m a_s$  es el área total efectivamente muestreada. Entonces,  $\sum_{s=1}^m a_s / a_0 m \leq 1$ . Así, la media de FIA considera el área del conglomerado completo ajustada por la proporción de las parcelas que pertenecen a la población de interés. Las expresiones de la media y varianza de FIA son los estimadores estándar de la media y la varianza que podrían aplicarse al muestreo aleatorio simple sin un factor de corrección por finitud (Cochran 1993 y Thompson 2002).

*Estimador VAN* (Van Deusen 2004, 2005a). Al usar en la estimación de la varianza el área de la parcela efectivamente muestreada en campo, se tienen para la media y la varianza de VAN los estimadores siguientes:

$$y_{ha}^{VAN} = \sum_{s=1}^m y_s / \sum_{s=1}^m a_s \quad [3]$$

$$v(y_{ha}^{VAN}) = [\sum_{s=1}^m (y_s - a_s y_{ha})^2] / [\sum_{s=1}^m a_s (\sum_{s=1}^m a_s - a_0)] \quad [4]$$

*Estimador MR* (Van Deusen 2005a). Al considerar una estimación de varianza convencional se obtienen los siguientes estimadores para la media y la varianza de MR:

$$\bar{y}_{ha}^{MR} = (1/m) \sum_{s=1}^m (y_s / a_s) \quad [5]$$

$$v(\bar{y}_{ha}^{MR}) = \sum_{s=1}^m (y_{ha} - \bar{y}_{ha}^{MR})^2 / m(m-1) \quad [6]$$

donde,  $y_{ha} = y_s / a_s$

*Estimador RM* (Cochran 1993, Scheaffer *et al.* 2012). El estimador de razón tiene la misma estructura que el estimador VAN, el cual también puede ser usado cuando se presentan conglomerados incompletos, a saber:

$$y_{ha}^{RM} = \sum_{s=1}^m y_s / \sum_{s=1}^m a_s \quad [7]$$

La varianza estimada de este estimador es la siguiente:

$$v(y_{ha}^{RM}) = \sum_{s=1}^m (y_s - y_{ha} a_s)^2 / \bar{a}^2 m(m-1) \quad [8]$$

donde,  $\bar{a} = \sum_{s=1}^m a_s / m$

Al considerar que  $\bar{a} = \sum_{s=1}^m a_s / m \Rightarrow m = \sum_{s=1}^m a_s / \bar{a}$ , el denominador de la varianza del estimador de razón puede expresarse en términos de las áreas efectivamente muestreadas, lo que conduce a la siguiente expresión:

$$v(y_{ha}^{RM}) = \sum_{s=1}^m (y_s - y_{ha} a_s)^2 / (\sum_{s=1}^m a_s (\sum_{s=1}^m a_s - \bar{a})) \quad [9]$$

*Consideraciones generales sobre los estimadores.* Una inspección detallada de la expresión (4) y (9) permite apreciar que ambas solo difieren en el denominador por el término que se sustrae del total de área efectivamente muestreada, mientras que la varianza del estimador de razón considera un promedio, en VAN se resta el área de un conglomerado completo, es decir, 0,16 ha. Si todos los conglomerados de la muestra son completos, se tiene que  $\bar{a} = \sum_{s=1}^m a_0 / m = a_0 m / m = a_0$ , y, en consecuencia, la varianza del estimador de razón y Van Deusen conducen prácticamente a los mismos resultados. De hecho,  $a_0 = 0,16$  es el máximo valor que se puede considerar, luego entonces,  $\bar{a} \leq a_0$ . En estas condiciones la varianza estimada del estimador de razón siempre será ligeramente más pequeña que Van Deusen.

La varianza del estimador de razón puede obtenerse multiplicando la varianza del estimador VAN por un factor que involucra  $\bar{a}$ , es decir,  $v(y_{ha}^{RM}) = ((\bar{m}a - a_0) / (\bar{a}(m-1)))v(y_{ha}^{VAN})$ . En esta expresión nuevamente se observa que cuando  $\bar{a} = a_0$ ,  $v(y_{ha}^{RM}) = v(y_{ha}^{VAN})$ . Una situación extrema ocurre cuando  $\bar{a} = (1/2)a_0$  y  $m = 20$ , resultando que el cociente de la varianza del estimador de razón respecto a la varianza del estimador de Van Deusen es de 0,9473 (Van Deusen 2005b).

Cuando los conglomerados están completos, es decir,  $a_s = a_0$ , los cuatro estimadores coinciden, y

$$y_{ha} = \sum_{s=1}^m y_s / a_0 m \quad [10]$$

además, los cuatro estimadores presentan las mismas varianzas estimadas, y conduce a la expresión siguiente:

$$v(y_{ha}) = \left( \sum_{s=1}^m (y_s - \sum_{s=1}^m y_s / m)^2 \right) / (a_0^2 m(m-1)) \quad [11]$$

Con base en estas afirmaciones queda de manifiesto que la estimación por hectárea cuando los conglomerados son completos se obtiene promediando valores por conglomerado y el resultado se expande por hectárea mediante  $1/a_0$ . Este factor de expansión, al ser una constante, también aparece en la varianza. Esta situación es de particular importancia porque las fórmulas se reducen a los estimadores del muestreo aleatorio simple.

*Base de datos artificial considerando información del INFyS.* La metodología utilizada en esta investigación fue similar a la empleada por Condes y Martínez-Millán (1998), quienes simularon parcelas al considerar como base los sitios del segundo inventario forestal nacional de España en lo que se refiere al número de árboles por hectárea y a la distribución diamétrica de los árboles; y Stamatellos y Panourgias (2005), quienes utilizaron una muestra aleatoria de 229 parcelas de 0,05 hectárea (20 × 25 m) para simular la distribución espacial de *Abies borisii regis* en la Universidad Forestal de Pertouli, Trikala, Grecia.

Al asumir que los árboles en una selva mediana subperennifolia presentan un patrón espacial aleatorio y, por lo tanto, la misma probabilidad de encontrarse en cualquier lugar del terreno, en el sistema de análisis estadístico SAS® v9.2 (SAS Institute Inc. 2009) se generó una población aleatoria de 9.370.000 puntos en la parte central de Quintana Roo, México. Cada uno de estos puntos representó un árbol. Los números en el eje x se obtuvieron mediante el código  $Int((MaxValue - MinValue + 1) * ranuni) + MinValue$ , en donde, *MaxValue* y *MinValue* correspondieron a los valores extremos en x (m) de la región de estudio, y *ranuni*, sirvió para generar datos con distribución

uniforme. Un código similar se aplicó para generar los valores en el eje y. La posición geográfica de los puntos se definió mediante las coordenadas (x, y). Los valores extremos de x fueron 3.894.331,69 m y 3.904.331,69 m y de y fueron 889.927,12 m y 899.927,12 m (proyección conforme cónica de Lambert, Datum ITRF92, elipsoide GRS80), los cuales se definieron de manera que el área de estudio representara 10.000 ha y la densidad promedio fuera 937 árboles ha<sup>-1</sup>.

El volumen de cada árbol se generó a través de una distribución probabilística log-normal ajustada con datos reales en la región de estudio mediante la expresión siguiente:

$$VOLUMEN = EXP(-2,67507 + 0,906635 * RANNOR(100)) \quad [12]$$

donde,

2,67507= parámetro de escala de la distribución log-normal.

0,906635= parámetro de forma de la distribución log-normal.

EXP= función exponencial.

RANNOR (100) = función generadora de números aleatorios normales con semilla de 100.

El cálculo del número de árboles por hectárea y el ajuste de la distribución log-normal se realizó con datos del INFyS obtenidos en 2010 en selva mediana subperennifolia de Quintana Roo, México. Para esto se utilizó un tamaño de muestra de 206 conglomerados, de los cuales 25 estuvieron incompletos: cinco presentaron un sitio, siete tenían dos sitios y 13 contaron con tres sitios; lo que representa un 12 % de conglomerados incompletos.

*Muestreo en redes sistemáticas.* En SAS® v9.2 se diseñaron 88 redes sistemáticas diferentes (repeticiones), cada una de 81 puntos de muestreo, los cuales estuvieron a equidistancias de 1 km; cada punto representó el centro (subparcela número 1) de un conglomerado de subparcelas (figura 1). Este tamaño de muestra justifica el uso de la distribución normal en los intervalos de confianza para la media y es similar al usado por Van Deusen (2004, 2005a). Mediante las funciones trigonométricas seno y coseno se generaron los centros de las unidades de muestreo periféricas del conglomerado (subparcelas 2, 3 y 4). En cada malla de muestreo se generaron conglomerados con subparcelas circulares.

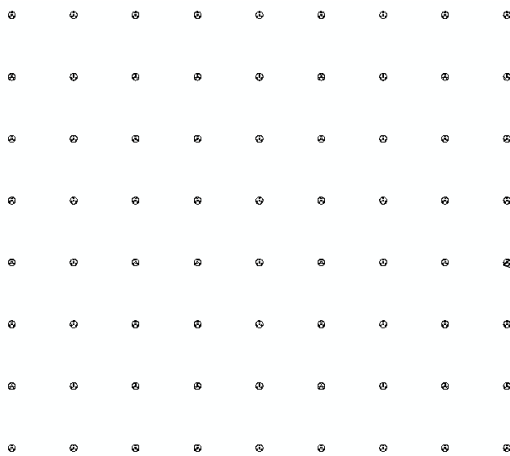
Las coordenadas de puntos aleatorios (árboles) y de centros correspondientes a las cuatro subparcelas de conglomerados se capturaron en el sistema de información geográfica ArcGis® v9.3 (ESRI, 2008). Las subparcelas circulares se generaron a través de la herramienta “buffer” de ArcToolbox-ArcMap considerando una distancia de 11,28 m. Los conglomerados trazados fueron similares al diseño de la unidad de muestreo del INFyS de México (figura 1). El muestreo de los puntos (árboles) utilizando

conglomerados de subparcelas circulares dispuestas espacialmente en forma de una “Y” invertida, se realizó mediante la herramienta “Intersect” de ArcToolbox-ArcMap.

De los 81 conglomerados completos se modificaron diez de ellos con el fin de simular conglomerados incompletos; esto se realizó de manera proporcional al número de conglomerados con menos de cuatro sitios que presentó la muestra de 206 conglomerados, misma que sirvió de base para simular la población de 9.370.000 puntos distribuidos aleatoriamente en el terreno. Los diez conglomerados incompletos se integraron de la manera siguiente: dos con una subparcela, tres con dos sub-parcelas y cinco con tres sub-parcelas. Tomando como base esta condición y triplicando el número de conglomerados con una, dos y tres subparcelas, adicionalmente se generaron 30 conglomerados incompletos. Entonces, el estudio se llevó a cabo en las condiciones siguientes: completitud total (c0) incluye 81 conglomerados completos, completitud al 88 % (c1) comprende 71 conglomerados completos y diez incompletos (dos con una subparcela, tres con dos sub-parcelas y cinco con tres sub-parcelas) y completitud al 63 % (c2) considera 51 conglomerados completos y 30 incompletos (seis con una sub-parcela, nueve con dos sub-parcelas y 15 con tres sub-parcelas).

*Comparación de estimadores.* Los cuatro estimadores estudiados en cada condición se compararon mediante el sesgo de estimación relativo (SER) y el sesgo de varianza relativo (SVR), cuyas expresiones genéricas, de acuerdo con Van Deusen (2005a), son las siguientes:

$$SER = (\hat{\theta} - \theta) / \theta \quad [13]$$



donde,

$$\hat{\theta} = \sum_{b=1}^{88} \hat{\theta}_b / 88, \text{ en cada caso } \hat{\theta}_b \text{ se obtiene de acuerdo}$$

con las expresiones [1], [3], [5] y [7].

$\theta = 937$  es el parámetro de densidad (árboles ha<sup>-1</sup>)

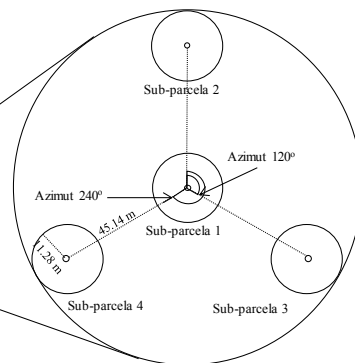
$\theta = 97,37$  es el parámetro de volumen (m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>)

$$V = \sum_{b=1}^{88} (\hat{\theta}_b - \hat{\theta})^2 / 88 \text{ es la varianza verdadera}$$

$$\hat{V} = \sum_{b=1}^{88} \hat{V}_b / 88, \text{ en cada caso } \hat{V}_b \text{ se obtiene de acuerdo}$$

con las expresiones [2], [4], [6] y [9].

De acuerdo con Van Deusen (2005a), en las expresiones del sesgo relativo, un valor cercano a 0 significa que el estimador es insesgado, un valor de 1 muestra que la fórmula predice dos veces al parámetro y un valor de 2 indica que la fórmula sobrestima por factor de 3. En el presente estudio, la condición de insesgaredad implica sesgos relativos cercanos cero; de esta manera, un estimador se consideró insesgado si su sesgo relativo fue menor al 0,10. En este sentido, el sesgo relativo carece de unidades y se interpreta como un indicador del número de veces que el estimador rebasa o contiene al parámetro o valor verdadero.



**Figura 1.** Distribución sistemática de los conglomerados y disposición geométrica de las subparcelas (círculos pequeños de 11,84 m de radio) dentro del conglomerado (círculo grande de 56,42 m de radio).

Systematic grid of clusters and geometric array of the sub-plots (small circles of 11.84 m radius) within each cluster (larger circle of 56.42 m radius).



## RESULTADOS

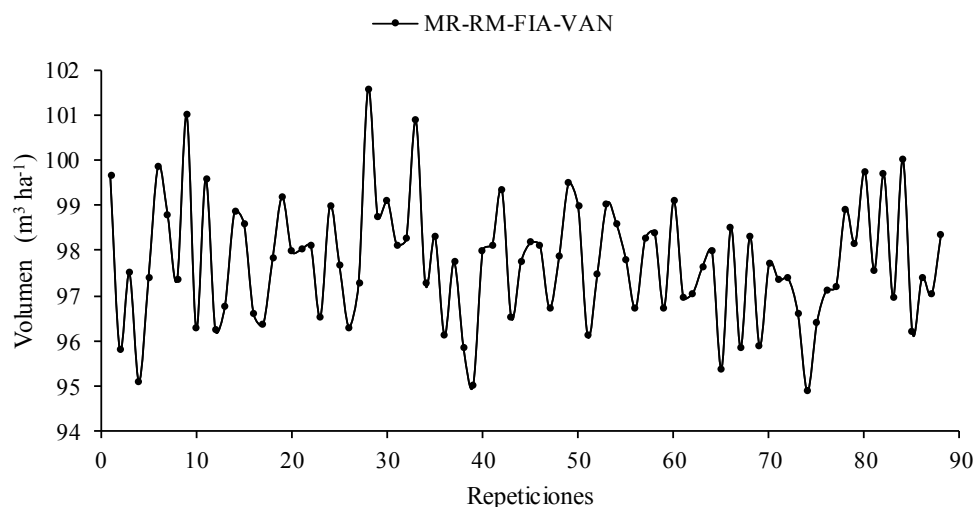
**Volumen maderable.** En la población simulada de árboles, el parámetro correspondiente al volumen fue de  $97,37 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ . En c0 (nivel de completitud total), como era de esperarse, los cuatro estimadores presentaron el mismo valor puntual: para las 88 repeticiones estimaron en promedio un volumen de  $97,76 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  (figura 2) y, en consecuencia, el sesgo de la estimación relativo fue prácticamente cero, es decir, 0,004. Así, en c0 y para el volumen, los cuatro estimadores se consideran insesgados. En los cuatro casos, la varianza promedio estimada, a partir de las 88 repeticiones, fue de  $1,79 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  (figura 3) y la varianza verdadera de  $1,82 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$ , lo cual condujo a un sesgo de la varianza relativo muy cercano a cero, o sea,  $-0,0165$ . De esta manera, en c0 y para el volumen maderable, los cuatro estimadores de la varianza también resultan insesgados.

Estos resultados son optimistas en el sentido de que cuando en los conglomerados se toma la información en las cuatro subparcelas, cualquiera de los estimadores evaluados en este trabajo pueden ser de utilidad.

En c1 (nivel de completitud al 88 %), los estimadores RM, FIA y VAN coincidieron y estimaron en promedio, a partir de las 88 repeticiones, un volumen de  $97,69 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ , el cual resultó ser ligeramente diferente de la estimación de MR, cuyo valor fue de  $97,60 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  (figura 4). En el primer caso, el sesgo de la estimación relativo fue de 0,0033, y en el segundo, de 0,0024. Entonces, en la condición c1, al presentar sesgos próximos a cero, los cuatro estimadores del volumen se consideran prácticamente insesgados. Por otra parte, mientras que la varianza verdadera de RM, FIA

y VAN fue de  $2,04 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  y la de MR de  $2,22 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$ , la varianza estimada de FIA ascendió hasta un promedio de  $5,18 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$ , en tanto que la varianza promedio estimada de RM y VAN fue de  $1,88 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  y la de MR de  $2,03 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  (figura 5). De esta forma, el sesgo de la varianza relativo para RM y VAN fue de  $-0,0784$ , para MR de  $-0,0856$  y para FIA ascendió hasta 1,5392. En consecuencia, en c1 la varianza estimada para MR, RM y VAN también se considera insesgada cuando se estima el volumen maderable. Sin embargo, la varianza estimada de FIA, al ser más de dos veces la varianza verdadera, se considera sesgada.

En c2 (nivel de completitud al 63 %), los estimadores RM, FIA y VAN coincidieron y en promedio estimaron  $97,61 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ; variaron poco con MR, el cual estimó  $97,65 \text{ m}^3 \text{ ha}^{-1}$  (figura 6). De esta manera, el sesgo de la estimación relativo correspondiente a RM, FIA y VAN fue de 0,0025, mientras que para MR fue de 0,0029. Entonces, aún en el nivel de completitud al 63 %, los cuatro estimadores resultaron con sesgos relativos pequeños y, por consiguiente, se consideran insesgados. En tanto que la varianza verdadera de RM, FIA y VAN fue de  $2,19 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  y la de MR de  $2,69 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$ , la varianza estimada de FIA alcanzó en promedio  $11,51 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$ , superando por mucho la varianza promedio estimada de RM y VAN que fue de  $2,12 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  y la de MR que fue de  $2,50 (\text{m}^3 \text{ ha}^{-1})^2$  (figura 7). Entonces, el sesgo de la varianza relativo correspondiente a RM y VAN fue de  $-0,0320$ , para MR de  $-0,0706$  y para FIA alcanzó un valor de 4,2557. De manera que en c2, los estimadores de la varianza para MR, RM y VAN también son insesgados, porque en ningún caso el sesgo de la varianza relativo superó el 0,10. No obstante,



**Figura 2.** Volumen maderable estimado ( $\text{m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ) mediante cuatro estimadores estudiados en la condición c0. FIA: Forest Inventory and Analysis, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

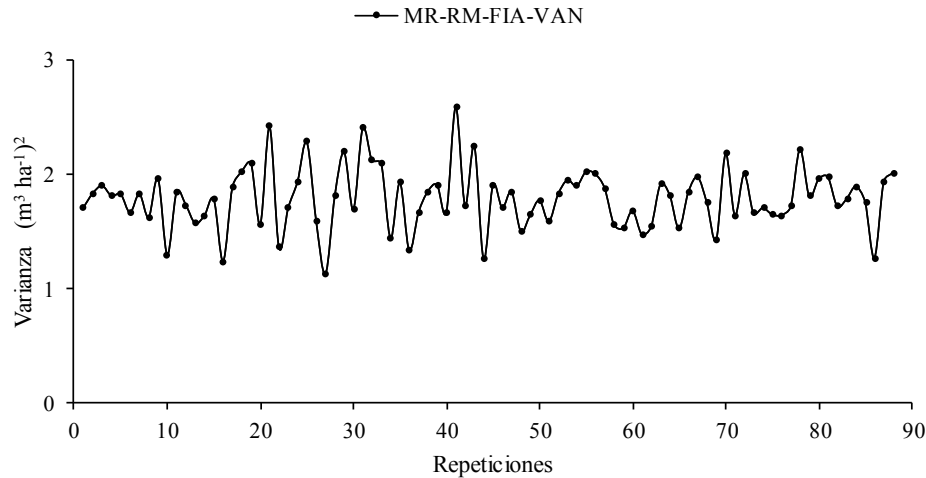
Estimated timber volume ( $\text{m}^3 \text{ ha}^{-1}$ ) of the four studied estimators on the c0 condition. FIA: Forest Inventory and Analysis, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.

la varianza estimada de FIA en la condición c2, al superar por más de cinco veces la varianza verdadera, puede considerarse altamente sesgada.

De acuerdo con los resultados obtenidos, los cuatro estimadores estudiados para la media del volumen maderable por hectárea presentaron un comportamiento insesgado independientemente del grado de completitud del conglomerado. No obstante, el sesgo de la varianza rela-

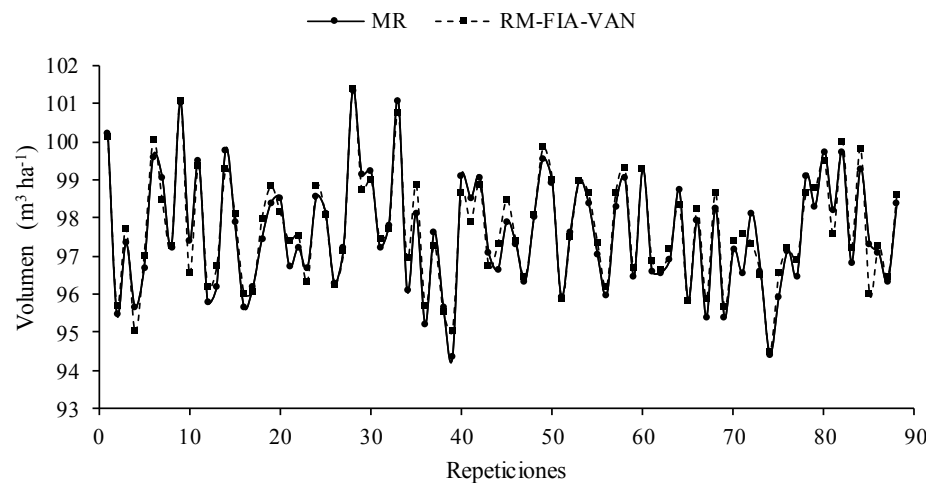
vo del FIA se incrementó considerablemente conforme el grado de completitud disminuyó.

*Densidad arbórea.* En la población, la densidad promedio fue de 937 árboles ha<sup>-1</sup>. Resulta interesante observar nuevamente que en la condición c0 los cuatro estimadores condujeron a los mismos resultados: 939,94 árboles ha<sup>-1</sup> promedio de las 88 repeticiones (figura 8), lo que resul-



**Figura 3.** Varianza estimada ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1})^2$  de cuatro estimadores para volumen maderable estudiados en la condición c0. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated timber volume variance ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1})^2$  of the four studied estimators on the c0 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.



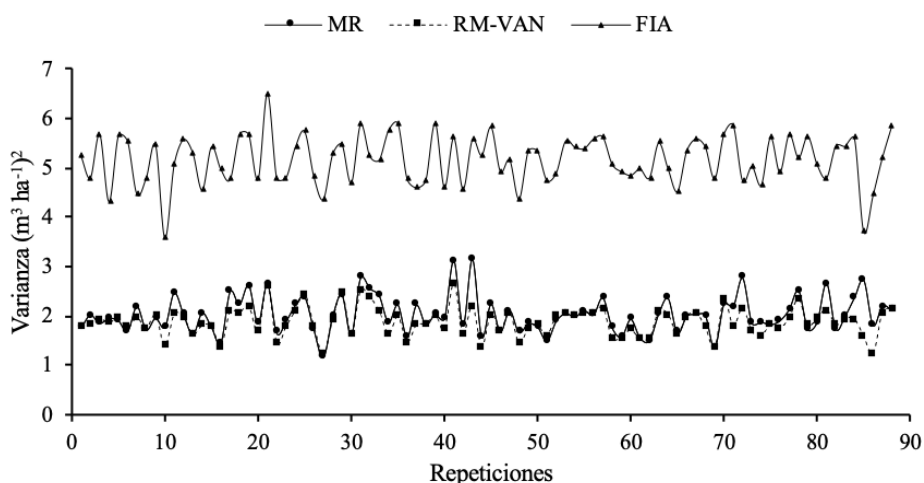
**Figura 4.** Volumen maderable estimado ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ ) mediante cuatro estimadores estudiados en la condición c1. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated timber volume ( $\text{m}^3 \text{ha}^{-1}$ ) of the four studied estimators on the c1 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.

tó en un sesgo de la estimación relativo de 0,0031. Para los cuatro estimadores se obtuvo una varianza promedio estimada de 72,99 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> (figura 9), la cual prácticamente fue la misma que la varianza verdadera, 72,92 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup>, lo que derivó en un sesgo de la varianza relativo de 0,0010. Dada la magnitud de los sesgos relativos, en c0 y para la variable densidad, se deduce que tanto

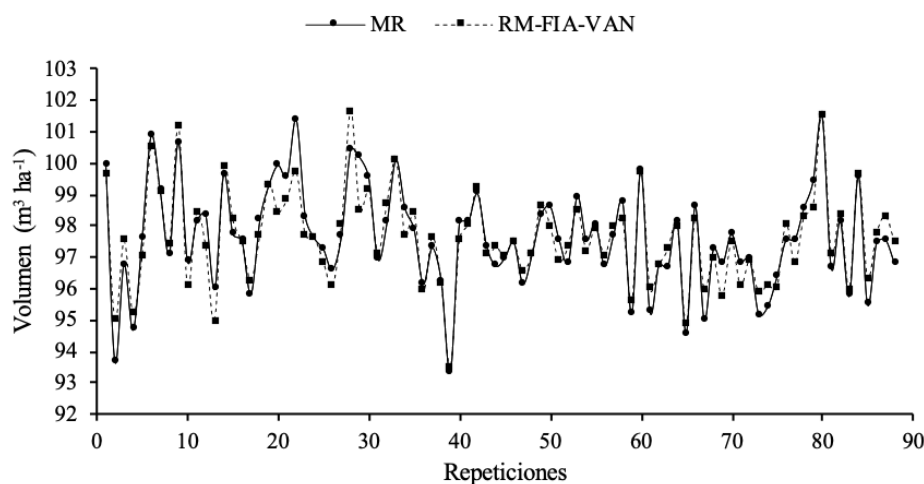
los estimadores como sus respectivas varianzas estimadas son in sesgados.

En c1, mediante RM, FIA y VAN se obtuvo una densidad promedio de 939,48 árboles ha<sup>-1</sup>, mismo que superó ligeramente a la estimación de MR, cuyo valor fue de 939,26 árboles ha<sup>-1</sup> (figura 10); así, al considerar el parámetro, los sesgos de la estimación relativos fueron de 0,0026 y



**Figura 5.** Varianza estimada (m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> de cuatro estimadores para volumen maderable estudiados en la condición c1. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated timber volume variance (m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> of the four studied estimators on the c1 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.



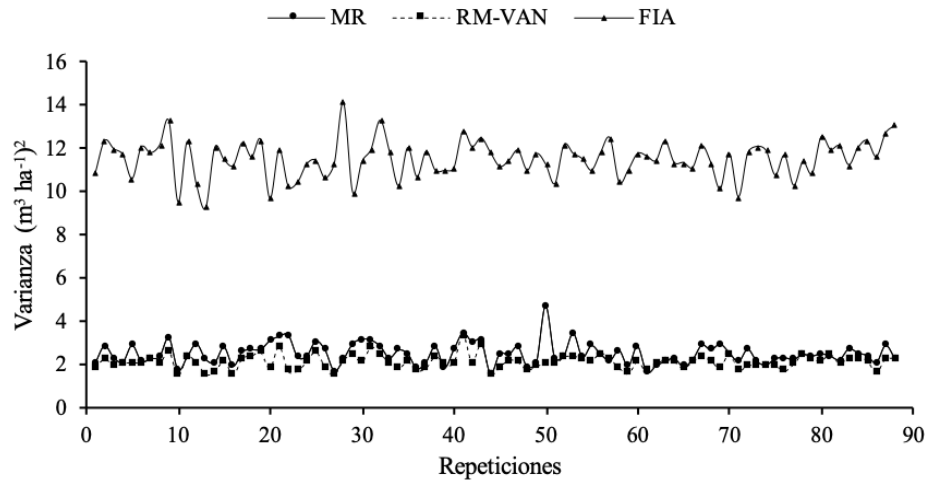
**Figura 6.** Volumen maderable estimado (m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) mediante cuatro estimadores estudiados en la condición c2. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated timber volume (m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) of the four studied estimators on the c2 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.

0,0024, respectivamente. De esta manera, los cuatro estimadores resultan ser insesgados. Por otro lado, en tanto la varianza verdadera correspondiente a RM, FIA y VAN fue de 80,44 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> y MR de 83,62 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup>, la varianza estimada promedio de FIA ascendió hasta 375,50 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup>, la de RM y VAN fue 76,08 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> y la de MR de 82,39 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> (figura 11). Si bien, las

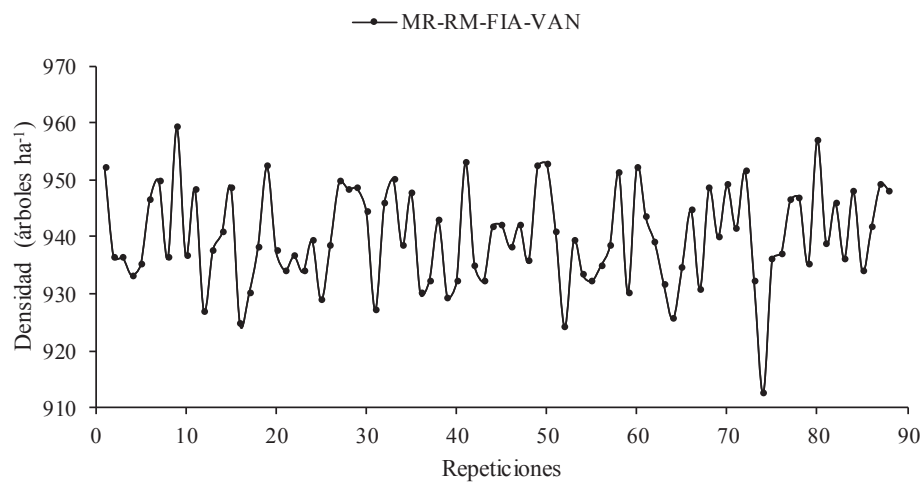
varianzas estimadas de RM, VAN y MR son insesgadas, la varianza estimada de FIA se considera sesgada, al superar la varianza verdadera por más de cuatro veces.

En c2, RM, FIA y VAN estimaron una densidad promedio de 938,99 árboles ha<sup>-1</sup>, la cual fue un poco mayor a la estimación de MR, cuyo promedio fue de 938,59 árboles ha<sup>-1</sup> (figura 12); de este modo, los sesgos de la estimación



**Figura 7.** Varianza estimada (m³ ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> de cuatro estimadores para volumen maderable estudiados en la condición c2. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated timber volume variance (m³ ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> of the four studied estimators on the c2 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.



**Figura 8.** Densidad estimada (árboles ha<sup>-1</sup>) mediante cuatro estimadores estudiados en la condición c0. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

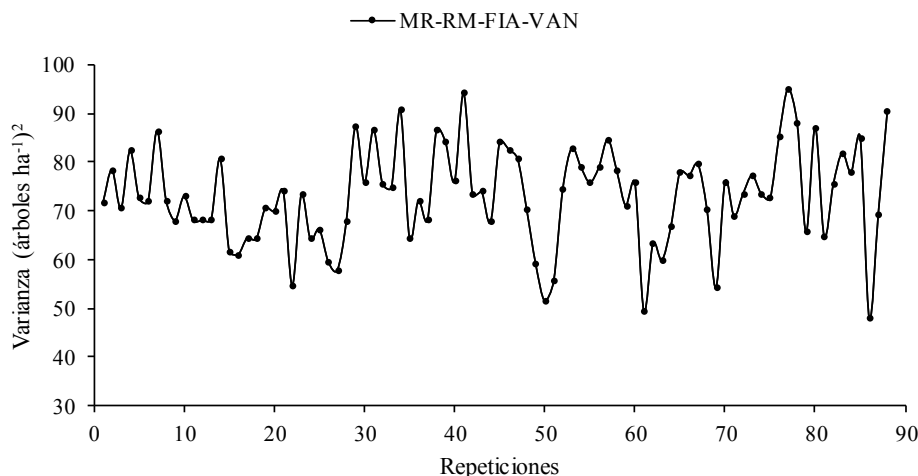
Estimated tree density (trees ha<sup>-1</sup>) using the four studied estimators on the c0 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.

relativos fueron respectivamente de 0,0021 y 0,0017. De esta manera, en c2 los cuatro estimadores pueden considerarse insesgados. Por otra parte, mientras la varianza verdadera correspondiente a RM, FIA y VAN fue de 84,80 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> y MR de 96,51 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup>, la varianza estimada promedio de FIA logró la cantidad de 965,45 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup>, la de RM y VAN fue 87,30 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> y la de MR de 102,24 (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> (figura 13). En tanto que las varianzas estimadas de RM, VAN y MR presentaron

sesgos relativos cercanos a cero y se consideran insesgadas, la varianza estimada de FIA resulta altamente sesgada, al superar la varianza verdadera por más de once veces.

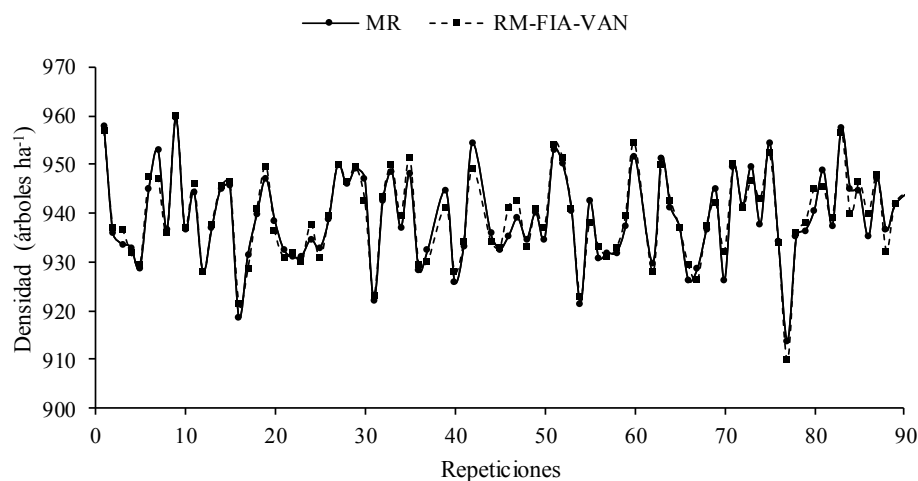
## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en la condición c0, sobre estimaciones y varianzas estimadas de volumen maderable y densidad considerando los cuatro estimadores, son idénticos.



**Figura 9.** Varianza estimada (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> de cuatro estimadores estudiados en la condición c0. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated variance (trees ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> on the four studied estimators on the c0 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.



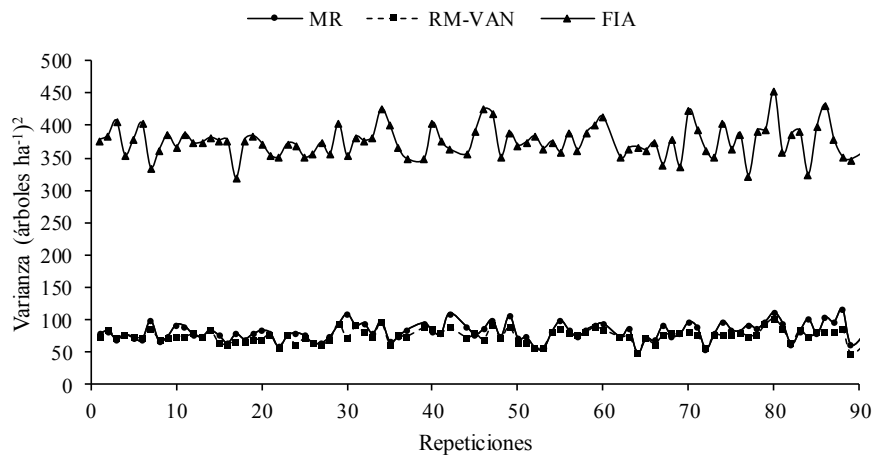
**Figura 10.** Densidad estimada (árboles ha<sup>-1</sup>) mediante cuatro estimadores estudiados en la condición c1. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated tree density (trees ha<sup>-1</sup>) using the four studied estimators on the c1 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.



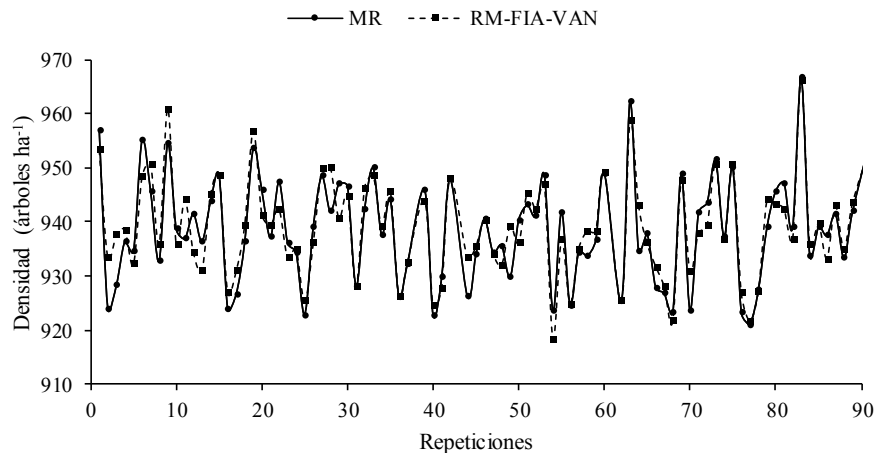
ticos; lo cual era de esperarse, debido a que cuando los conglomerados son del mismo tamaño se tiene un estimador común. Así, bajo  $c_0$  (nivel de completitud total) puede aplicarse cualquiera de los cuatro estimadores ensayados en este trabajo, inclusive el estimador FIA, cuya expresión matemática considera una proporción promedio de la parcela que pertenece a la población de interés. Esta situación es de particular importancia porque las fórmulas se reducen a los estimadores convencionales del muestreo aleatorio simple. Por otra parte, el hecho de que las estimaciones

puntuales de FIA, VAN y RM resultaran iguales, tanto en la densidad como en el volumen, incluso cuando los conglomerados son incompletos — $c_1$  y  $c_2$ — no es sorprendente, ya que al considerar que  $\bar{a} = \sum_{s=1}^m a_s / m \Rightarrow \bar{a}m = \sum_{s=1}^m a_s$  se puede demostrar que los estimadores RM, FIA y VAN son iguales a  $y_{ha} = \sum_{s=1}^m y_s / \bar{a}m$ , incluso si los conglomerados son de tamaños diferentes.



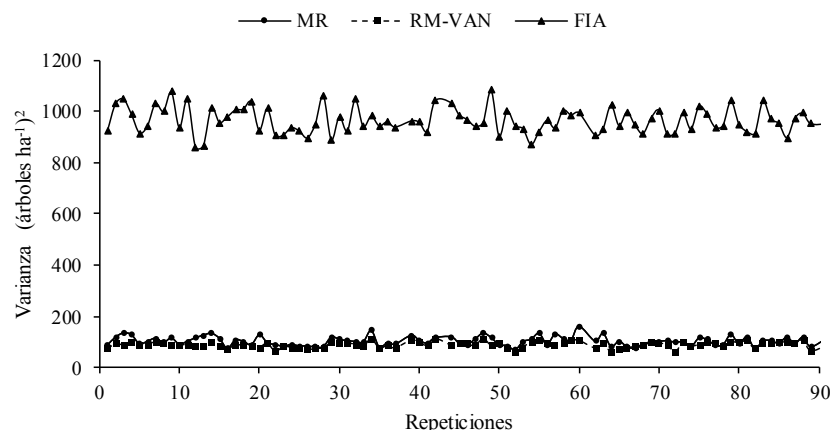
**Figura 11.** Varianza estimada (árboles ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> de cuatro estimadores estudiados en la condición  $c_1$ . FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated variance (trees ha<sup>-1</sup>)<sup>2</sup> of four estimators studied in condition  $c_1$ . FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Mean of ratio, RM: Ratio of means.



**Figura 12.** Densidad estimada (árboles ha<sup>-1</sup>) mediante cuatro estimadores estudiados en la condición  $c_2$ . FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated tree density (trees ha<sup>-1</sup>) using the four studied estimators on the  $c_2$  condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.



**Figura 13.** Varianza estimada (árboles  $\text{ha}^{-1}$ )<sup>2</sup> de cuatro estimadores estudiados en la condición c2. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Media de Razones, RM: Razón de Medias.

Estimated variance (trees  $\text{ha}^{-1}$ )<sup>2</sup> on the four studied estimators on the c2 condition. FIA: *Forest Inventory and Analysis*, VAN: Van Deusen, MR: Means of ratio, RM: Ratio of means.

Los sesgos de las varianzas relativos en c0 y c1 son congruentes con los reportados por Van Deusen (2004, 2005a). Este autor, al comparar FIA y VAN obtuvo un sesgo relativo de la varianza de FIA de casi 2 cuando analiza una proporción promedio de parcela de 0,75, mientras que el estimador VAN siempre se comporta insesgado. Estos resultados se deben a que la varianza estimada de FIA se basa en la noción de que cada medición de la parcela se divide por la proporción promedio de la parcela que pertenece a la población forestal de interés. Por lo tanto, el hecho de que esta varianza trabaje pobremente cuando las parcelas tienen proporciones que difieren ampliamente entre conglomerados no es sorprendente.

Los resultados obtenidos por Van Deusen (2005a) indican que las varianzas relativas del estimador MR y VAN también resultaron similares (menores del 0,11), es decir, no hay ganancia significativa en precisión al considerar que la varianza del error es una función de la proporción al cuadrado, por esta razón, el autor no recomienda el uso del estimador media de razones; aunque este tiene la ventaja de proporcionar de manera directa un valor por unidad de muestreo, la cual es información de gran valía cuando es deseable representar espacialmente la variable de interés.

Entonces, resulta evidente que los estimadores MR, RM y VAN pueden tener aplicación general; se desempeñan bien —estimación puntual y por intervalo— cuando en los conglomerados se evalúan las cuatro subparcelas o solo algunas de ellas, por el contrario, la estimación por intervalo del estimador FIA en conglomerados incompletos no es recomendable.

Las varianzas de los estimadores RM y VAN conducen a los mismos resultados porque el factor que relaciona ambas fue de 0,999 y de 0,998 en la c1 y c2, respectivamente. Estos resultados son lógicos al considerar que

cuando  $\bar{a} = (1/2)a_0$  y el factor es de 0,9473 (Van Deusen 2005b).

El estimador VAN, además de poder ser aplicado en trabajos de gran escala (INFyS y FIA) también puede usarse en estudios forestales de nivel local, donde las parcelas de muestreo de área fija traslapan el límite de la propiedad. El requerimiento en este caso es el área de las parcelas que pertenece a la propiedad que se requiere evaluar. El supuesto más importante del estimador VAN es que la cantidad esperada del atributo de interés en una parcela parcial sea proporcional al área que pertenece a la población forestal o propiedad objeto de estudio. Van Deusen y Roesch (2009) muestran que el error estándar del estimador VAN se reduce hasta en un 15 % cuando se incluyen parcelas mapeadas que traslapan el límite en comparación que si fueran excluidas. Además de ser un estimador atractivo desde el punto de vista teórico-práctico, el estimador VAN puede aplicarse fácilmente en muestreo aleatorio estratificado (Van Deusen 2005b). En este caso, la media por hectárea de cada estrato se obtiene mediante la expresión del estimador VAN y la varianza estimada de la media por hectárea de cada estrato se obtiene mediante la expresión de la varianza del estimador VAN.

Los estimadores RM y VAN conducen a los mismos resultados, aun en niveles de completitud parcial del conglomerado. De hecho, el estimador VAN es el estimador de razón convencional, con la ventaja de que la varianza estimada considera el área de la parcela efectivamente muestreada en campo. Por este motivo, además de aplicarse para la estimación de atributos agregados tales como el volumen, densidad, biomasa o área basal por hectárea, pueden también emplearse para la estimación de proporciones de alguna característica del arbolado o para la estimación de atributos a nivel de árbol (Smelko y Merganic 2008, Bechtold y Randolph 2018) o incluso a nivel de rodal (Zarnoch y Bechtold 2000).

A pesar de que el tamaño de muestra utilizado en el presente estudio puede considerarse pequeño —81 conglomerados—, se observa que los estimadores evaluados son insesgados independientemente del grado de completitud simulado. Estos resultados son congruentes con los reportados por Van Deusen y Roesch (2009) quienes, mediante simulaciones repetidas 10.000 veces y 1.000 muestras seleccionadas de cada repetición, para un escenario del 80 % de parcelas completas, concluyen que el estimador VAN es insesgado sin importar la exactitud con la que se mapea la parcela.

Takahashi y Tsubaki (2017) consideran que para estimar la media de una variable heterocedástica distribuida log normal no es conveniente aplicar transformaciones logarítmicas, entonces analizan el estimador de mínimos cuadrados generalizados, en cuya expresión la variable auxiliar presenta como exponente un parámetro teta. Al considerar como valores de este a 0,5 y 1, derivaron respectivamente, el estimador de razón de medias y media de razones. A través de simulaciones de grandes bases de datos de una variable distribuida log-normal, los autores compararon el comportamiento de estos dos estimadores tomando como criterio la raíz del cuadrado medio del error relativo, y concluyeron que para valores cercanos a 0,5 el estimador con mejor desempeño fue el de razón, mientras que para valores alrededor de 1 el estimador de media de razones logró ser el más apropiado. En cualquier caso, y para los 31 valores de teta evaluados, la raíz del cuadrado medio del error relativo no superó el 0,020. Así, bajo 1.000 ensayos del análisis, ambos estimadores fueron insesgados. Luego entonces, y a la luz de los resultados que se logran en la presente investigación, los estimadores RM y MR se consideran apropiados para la estimación de parámetros forestales agregados.

Si bien es cierto que los hallazgos del presente estudio se derivan de una población simulada, resulta interesante observar que son congruentes con aquellos obtenidos desde el punto de vista práctico. Velasco *et al.* (2016), al comparar estadísticamente los estimadores RM, MR y FIA con datos provenientes de selva mediana subperennifolia y subcaducifolia del sureste de México, encontraron que aún para tamaños de muestra de 22 observaciones no existen diferencias significativas entre los tres estimadores y que el estimador de razón fue ligeramente más preciso. Con 22 observaciones el estimador de razón logró un error de muestreo alrededor del 30 %, mientras que con 206 observaciones el error de muestreo fue 8,5 %.

Por sus bondades estadísticas, los estimadores que emplean variables auxiliares diferentes del área de la parcela son preferidos en la evaluación de recursos forestales. Fierros *et al.* (2018) estudiaron el comportamiento del estimador de razón y regresión —bajo muestreo estratificado— para estimar el volumen maderable en plantaciones de pino en México usando como variable auxiliar el área basal. Ellos encontraron que, si bien las estimaciones puntuales resultaron similares, la precisión fue de 1,35 % para el estimador de regresión y de 2,31 % para el estimador de razón al usar 44 parcelas de muestreo.

Los estimadores comparados en esta investigación se aplican bajo el enfoque de conglomerados incompletos, que no consideran el registro de información dasométrica en las cuatro subparcelas. No obstante, las propiedades de los estimadores FIA, VAN y RM han sido estudiados por Van Deusen (2004, 2005a, 2009) bajo el enfoque de parcelas mapeadas, lo cual significa cuantificar el área de la parcela o unidad de muestreo que corresponde a la población de interés. En uno u otro caso, se justifica el modelo que considera a la varianza del error proporcional al área relativa efectivamente muestreada en campo, y que cualquier otro supuesto no necesariamente implica ganancia significativa en precisión.

Aun cuando los estimadores comparados en esta investigación se derivan a partir de modelos, se considera que la inferencia se realiza en el contexto de inferencia asistida por modelos, en este sentido los cuatro modelos (FIA, VAN, MR y RM) únicamente sirven como una herramienta para encontrar una estimación apropiada de la media. La eficiencia de los estimadores evaluados depende de la bondad de ajuste del modelo. Sin embargo, las propiedades básicas de tales estimadores (insesgadez o validez de las fórmulas de la varianza) no depende si el modelo se mantiene o no (Särndal *et al.* 1992, Mandallaz 2008). Además, las cantidades poblacionales se consideran fijas en lugar de variables aleatorias. Cuando el total de la población (o la media) se considera variable aleatoria, el paradigma de inferencia se conoce como inferencia basada en modelos, y en tal caso, el total poblacional (o la media) aleatorio puede ser predicho o su valor esperado puede ser estimado (Ståhl *et al.* 2016, Saarela *et al.* 2016).

## CONCLUSIONES

En la condición de completitud total, los cuatro métodos estudiados conducen a las mismas estimaciones y varianzas, de volumen y número de árboles por hectárea. Además, las estimaciones por hectárea y las varianzas estimadas son insesgadas independientemente del estimador. En esta situación, las fórmulas se reducen a los estimadores del muestreo aleatorio simple.

En cada una de las tres condiciones estudiadas, las estimaciones de volumen y número de árboles por hectárea mediante FIA, VAN, MR y RM son similares y prácticamente insesgadas.

A medida que el grado de completitud de los conglomerados es menor, tanto para volumen como para densidad, las varianzas estimadas de VAN, MR y RM son insesgadas, mientras que la varianza estimada de FIA se vuelve fuertemente sesgada.

## AGRADECIMIENTOS

Se extiende un agradecimiento fraterno a la Comisión Nacional Forestal de México por haber proporcionado la base de datos del INFyS correspondiente a selva mediana sub-perennifolia de Quintana Roo, México del 2010.

## REFERENCIAS

- Álvarez IA, G Del Nero, H Sundfeld, AM Liner, HT Zarate. 2005. Comparison of two sampling methods for estimating urban tree density. *Journal of Arboriculture* 31(5): 209-214.
- Bechtold WA, KC Randolph. 2018. FIA Crown Analysis Guide. Version 2.0. Washington, USA. United States Department of Agriculture. 37 p.
- Cochran WG. 1993. Técnicas de Muestreo. México, México. Compañía Editorial Continental. 513 p.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal, MX). 2012. Manual y procedimientos para el muestreo de campo: Re-muestreo 2012. Zapopan, Jalisco, México. SEMARNAT. 136 p.
- CONAFOR (Comisión Nacional Forestal, MX). 2018. Inventario Nacional Forestal y de Suelos: Informe de Resultados 2009-2014. Zapopan, Jalisco, México. CONAFOR. 199 p.
- Condes S, J Martínez-Millán. 1998. Comparación entre los índices de distribución espacial de árboles más usados en el ámbito forestal. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 7(1 y 2): 173-187.
- ESRI, 2008. ArcGis 9®. Geoprocessing Commands Quick Reference Guide. New York, USA. 220 p.
- Fierros R, HM de los Santos, AM Fierros, F Cruz, L Martínez, E Velasco, G Quiñónez. 2018. Estimadores de muestreo para inventario de plantaciones de *Pinus chiapensis* (Martínez) Andresen. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 9(47): 131-150. DOI: <https://doi.org/10.29298/rmcf.v9i47.155>
- Gregoire TG, HT Valentine. 2008. Sampling Strategies for Natural Resources and the Environment. New York, USA. Chapman & Hall/CRC. 474 p.
- Lohr S. 2010. Sampling: Desing and Analysis. Second Edition. Boston, USA. Brooks/Cole. 596 p.
- Mandallaz D. 2008. Sampling Techniques for Forest Inventories. New York, USA. Chapman and Hall/CRC. 256 p.
- Rencher AC, G Bruce. 2008. Linear Models in Statistics. Second Edition. New Jersey, USA. Wiley-Interscience. 672 p.
- Saarela S, S Holm, A Grafström, S Schnell, E Næsset, TG Gregoire, RF Nelson, G Ståhl. 2016. Hierarchical model-based inference for forest inventory utilizing three sources of information. *Annals of Forest Science* 73: 895-910. Consultado 21 mar. 2020. Disponible en <https://www.researchgate.net/publication/308984516>
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT® 9.2. User's Guide, Second Edition. North Carolina, USA. SAS Institute Inc. 7886 p.
- Särndal CE, B Swensson, J Wretman. 1992. Model Assisted Survey Sampling. New York, USA. Springer. 694 p.
- Scott CT, WA Bechtold, GA Reams, WD Smith, JA Westfall, MH Hansen, GG Moisen. 2005. Sample-based estimators used by the Forest Inventory and Analysis national information management system. In Bechtold WA, PL Patterson eds. The enhanced Forest Inventory and Analysis program-national sampling design and estimation procedures. General Technical Report SRS-80. Southern Research Station, Asheville, North Carolina. USA. Forest Service. United States Department of Agriculture. p. 43-67.
- Scheaffer R, W Mendenhall, R Lyman, KG Gerow. 2012. Elementary Survey Sampling. Seventh Edition. Boston, USA. Brooks/Cole. 436 p.
- Smelko S, J Merganic. 2008. Some methodological aspects of the National Forest Inventory and Monitoring in Slovakia. *Journal of Forest Science* 54(10): 476-483.
- Stamatellos G, G Panourgias. 2005. Simulating spatial distributions of forest trees by using data from fixed area plots. *Forestry* 78(3): 305-312. DOI: <https://doi.org/10.1093/forestry/cpi028>
- Ståhl G, S Saarela, S Schnell, S Holm, J Breidenbach, SP Healey, PL Patterson, S Magnussen, E Næsset, RE McRoberts, TG Gregoire. 2016. Use of models in large-area forest surveys: comparing model-assisted, model-based and hybrid estimation. *Forest Ecosystems* 3(5): 1-11. Consultado 25 mar. 2020. Disponible en <https://foresteosyst.springeropen.com/articles/10.1186/s40663-016-0064-9>
- Takahashi M, H. Tsubaki. 2017. Imputing the mean of a heteroskedastic log-normal missing variable: A unified approach to ratio imputation. *Statistical Journal of the IAOS* 33(3): 763-776. Consultado 10 marzo 2020. Disponible en <https://content.iospress.com/articles/statistical-journal-of-the-iaos/sji160306>
- Thompson SK. 2002. Sampling. New York, USA. John Wiley & Sons. 367 p.
- Van Deusen PC. 2004. Forest inventory estimation with mapped plots. *Canadian Journal of Forest Research* 34: 493-497.
- Van Deusen PC. 2005a. Comparing mapped plot estimators. In McRoberts RE, GA Reams, PC Van Deusen, WH McWilliams eds. Proceedings of the Sixth Annual Forest Inventory and Analysis Symposium, 21-24 September 2004. Gen. Tech. Rep. WO-70. Denver, CO, USA. Forest Service. United States Department of Agriculture. p. 93-97.
- Van Deusen PC. 2005b. Stratified forest inventory estimation with mapped plots. *Canadian Journal of Forest Research* 35: 2392-2386.
- Van Deusen PC. 2007. Weighted estimators for forest inventory mapped plots. *Canadian Journal of Forest Research* 37: 1142-1145. DOI: <https://doi.org/10.1139/X06-277>
- Van Deusen PC, FA Roesch. 2009. Application of mapped plots for single-owner forest surveys. *Journal of Forestry* 107: 414-417. <https://www.fs.usda.gov/treesearch/pubs/36106>
- Velasco E, H Ramírez, F Moreno, A de la Rosa. 2005. Estimadores de razón para el inventario nacional forestal de México. *Revista Ciencia Forestal en México* 28: 23-43.
- Velasco E, H de los Santos, H Ramírez, G Rendón. 2016. Comparación de estimadores para volumen maderable en selva mediana del sureste de México. *Agrociencia* 50: 119-132.
- Woodall CW, MC Amacher, WA Bechtold, JW Coulson, S Jovan, CH Perry, KC Randolph, BK Schulz, GC Smith, B Tkacz, S Will-Wolf. 2011. Status and future of the forest health indicators program of the USA. *Environmental Monitoring Assessment* 177: 419-436.
- Zarnoch SJ, WA Bechtold. 2000. Estimating mapped-plot forest attributes with ratios of means. *Canadian Journal of Forest Research* 30: 688-697.

Recibido: 28/05/20  
Aceptado: 19/08/20

## Lorey height for vertical stratification of an Alluvial Ombrophilous Forest

### Altura de Lorey para estratificación vertical de bosques naturales

**Diego dos Santos Vieira <sup>\*\*</sup>, Marcio Leles Romarco de Oliveira <sup>a</sup>, João Ricardo Vasconcelos Gama <sup>b</sup>,  
Evandro Luiz Mendonça Machado <sup>a</sup>, Bruno Lafeté Oliveira <sup>c</sup>, Axa Simões Figueiredo <sup>d</sup>**

\*Corresponding author: <sup>a</sup> Federal University of Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Department of Forestry, Diamantina, Brazil, tel.: 55-93-991973755, diegovieir4@gmail.com

<sup>b</sup> Federal University of Para West, Department of Forestry, Santarém, Brazil.

<sup>c</sup> Federal Institute of Education, Science and Technology of Minas Gerais, Department of Forestry, São João Evangelista, Brazil.

<sup>d</sup> Forest Engineer, Master in Tropical Forest Science, Palmas, Brazil.

#### SUMMARY

The method, which uses the arithmetic mean and standard deviation ( $M_1$ ) of total heights (Ht), is often used in the stratification of uneven-aged forests and assumes that the Ht must follow a normal standard curve considering a standard deviation of the mean. In cases where this assumption is rejected, alternative methods are used, such as the fundamentals in multivariate analysis ( $M_2$ ) and Lorey's mean height ( $M_3$ ). The objective was to evaluate the method  $M_1$  considering its assumption and comparing it with methods  $M_2$  and  $M_3$ . The data were collected in 308 contiguous plots of 100 m<sup>2</sup>, installed in an Alluvial Ombrophylous Forest. The assumption of the method  $M_1$  was analyzed adjusting a Normal Probabilistic Density Function, evaluated by the K-S test. The methods were evaluated using discriminant analyses, structural analyses and three-dimensional vertical profiles. It was verified that the assumption was not met. The discriminant analyses showed that the classification was 100 % correct in methods  $M_1$  and  $M_3$ . The 13 most important species, in descending order, were the same in all three methods. However, from the 13<sup>th</sup>, the differences were more remarkable in the method  $M_1$ . Firstly, it is recommended to use the method  $M_3$ , as it is more practical and provides results that are equal to those obtained using the method  $M_2$ . However, if the objective is to obtain a higher level of detail, the option is the method  $M_2$  since it allows obtaining up to five strata with 100 % correct classification.

*Key words:* total height, vertical strata, vertical structure, stratification methods.

#### RESUMEN

El método que usa la media aritmética y la desviación estándar de las alturas totales - Hts ( $M_1$ ) se usa a menudo en la estratificación de bosques con edades desiguales y supone que Hts debe seguir una curva estándar normal, considerando una desviación estándar de la media. En los casos en que se rechaza este supuesto, se utilizan métodos alternativos, como los fundamentos del análisis multivariado ( $M_2$ ) y la altura promedio de Lorey ( $M_3$ ). El objetivo de este estudio fue evaluar el método  $M_1$  considerando su suposición y comparándolo con los métodos  $M_2$  y  $M_3$ . Los datos fueron recolectados en 308 parcelas contiguas de 100 m<sup>2</sup>. Hts se obtuvieron en base a una varilla medida. La suposición del método  $M_1$  se analizó ajustando una función de densidad probabilística normal, evaluada mediante la prueba K-S. Los métodos se evaluaron mediante análisis discriminante, análisis estructural y perfiles verticales tridimensionales. Se encontró que la suposición no se cumplió. Los análisis discriminantes mostraron que la clasificación era 100 % correcta en los métodos  $M_1$  y  $M_3$ . Las 13 especies más importantes, en orden decreciente, fueron las mismas en los tres métodos. Sin embargo, a partir del día 13, las diferencias fueron más notables en el método  $M_1$ . Primero, se recomienda el uso del método  $M_3$ , ya que es más práctico y proporciona los mismos resultados que los obtenidos por el método  $M_2$ . Sin embargo, si el objetivo es obtener un mayor nivel de detalle, la opción es el método  $M_2$ , ya que permite obtener hasta cinco estratos con una clasificación 100 % correcta.

*Palabras clave:* altura total, estratos verticales, estructura vertical, métodos de estratificación.

#### INTRODUCTION

Structural studies are important indicators of the sustainability of forest activities (Souza *et al.* 2003) since they generate information about the dominance that certain species exert over others. This, in terms of competition for

light, contributes to identifying the ecological behavior and habits of these species in the different height strata, thus allowing understanding the strategies of regeneration, growth and survival (Curto *et al.* 2013). This information is essential, among other things, for the definition of conservation policies, for degraded area recovery programs



(Brito *et al.* 2007) and, above all, for the definition of silvicultural treatments and the assessment of impacts from logging activities (Calegário *et al.* 1994), thus encouraging more reliable forestry planning.

Although there is awareness of the importance of vertical structures for decision making, most studies that address the phytosociological characterization of forests in the Amazon only use tables of importance value that characterize horizontal structures and exclude vertical ones (Curto *et al.* 2013). The main reasons for its exclusion are the difficulty in analyzing them (Curto *et al.* 2013) and, mainly, the determination of the lower and upper limits of the strata, which are most often controversial and imperceptible (Durigan *et al.* 2000), with young trees of the upper stratum growing in the lower and mean strata. It is also worth noting that these limits are the basis for calculating the absolute and relative sociological positions and the extended importance values of the species, which characterize the vertical structures (Freitas y Magalhães 2012).

Several methods are used to define the boundaries of strata in unequal forests (Curto *et al.* 2013). The one described by Souza (1990) is one of the most used in the Amazon. This method is based on the use of the arithmetic mean and standard deviation of total heights (Ht), so that the forest is divided into three strata: lower, mean and upper. The lower stratum comprises all trees with Ht lower than the mean of the Ht minus one unit of the standard deviation of the Ht, whereas the upper stratum includes the trees with height higher than the average of the Ht plus a unit standard deviation of the Ht. The mean stratum, in this case, comprises all trees between the lower and upper strata (Souza 1990).

These strata are conceptually and mathematically similar to the three area proportions under a standard normal curve, considering a standard deviation of the mean. Therefore, the percentage of values between plus and minus one standard deviation of the mean will be 68.2 %, while below and above a standard deviation of the mean will be 15.9 %, which will correspond to the middle, lower and upper strata of Souza (1990), respectively. Accordingly, if the Ht data obtained in forest inventories do not follow a standard normal curve, theoretically, Souza's method (1990) will be estimating the boundaries of the strata incorrectly and, consequently, the vertical structures of the forests will affect the decisions to be taken in the management or conservation activities.

The solution to this type of problem is the adoption of alternative methods, such as that described by Souza *et al.* (2003), which determines the strata by means of cluster and discriminant analyses. The objective of the cluster analysis is the identification of homogeneous and distinct groups called strata, which are formed by classes of Ht with previously determined amplitude; while the discriminant confirms the distinction and classification of the groups obtained in the cluster analysis (Souza *et al.* 2003, Souza y Souza 2004). The method of Souza *et al.* (2003)

has shown characteristics that may be better than others of vertical stratification of unequal forests, although few studies in the Amazon use it due to the "popularity and practicality" of Souza's method (1990), which in most cases is applied without evaluating whether Ht data follow a standard normal curve.

Another acceptable solution is the reconciliation of Ht of trees with one or more measurement variables more accurate than height, for example, the diameter measured at 1.30 m from the soil (DBH), since the estimates of Ht are routinely obtained through visual estimates, which makes it more difficult to correctly identify the boundaries of strata. In addition, even if the Ht were obtained by means of equipment (*e.g.* hypsometers), these presuppose that the visualization is performed from the same point, from the base to the top of the tree, which is impracticable among Amazonian physiognomies (Durigan *et al.* 2000, Curto *et al.* 2013). Therefore, it also decreases the precision of the measurements and the definition of the strata. The height of Lorey (HL) would be an adequate option for this situation, since the arithmetic mean of Ht is weighted by the sum of the sectional areas, obtained from the DBH minimizing the influence of tall and thin trees as well as of low and thick trees in the calculation of mean height (Lorey 1878).

The hypotheses that guided this study were:  $H_0$  = Ht data that follow normal curves can be stratified according to Souza (1990);  $H_1$  = Ht data that do not follow normal curves can not be stratified according to Souza (1990); and HL and the method of Souza *et al.* (2003) demonstrate a more coherent stratification when the  $H_0$  hypothesis is rejected. Thus, the objective of this study is to evaluate the use of the Souza's method (1990) to obtain the boundaries of the vertical strata of a flooded forest in the Amazon, as well as to evaluate the use of Lorey height (Lorey 1878) and the method of Souza *et al.* (2003) as alternatives to cases where the Souza's method (1990) does not apply.

## METHODS

*Study area.* The study was carried out on the Ilha da Paz Amazônica, in the areas of Tapajós National Forest. It is a section of periodically flooded forest with 3.08 ha, belonging to the community Jamaraquá, located at the geographic coordinates 2°49'07.24" S and 53°02'13.52" W, on the right bank of Tapajós River. The climate of the region, according to the classification of Köppen, is Am, that is, humid tropical with annual thermal variation of less than 5 °C, average annual temperature of 25.5 °C, average relative humidity of 88 % and average annual rainfall of 1,820 mm (Alvares *et al.* 2013). The forest typology is classified as Alluvial Ombrophylous Forest, with a period of flooding from December to June, while the ebbing period occurs between July and November (Santos *et al.* 2017).

*Data collection.* Data collection was performed by dividing the area into 308 contiguous sample units of 10 x 10 m

(100 m<sup>2</sup>), covering the largest possible floodable area. In each sample unit, all trees with diameters of 1.30 m of soil height (DBH) equal to or higher than 10 cm were measured, identified and referenced in Cartesian coordinates (X, Y). Tree individuals that met the inclusion criteria and presented bifurcations below 1.30 m were evaluated as a single individual. In these cases, after registration of the diameters of each branch, the quadratic diameter formula (1) was used to determine the general diameter of the individual.

$$d = \sqrt{d_1^2 + d_2^2 + d_3^2 + \dots + d_n^2} \quad [1]$$

where:  $d$  = quadratic diameter (cm) and  $d_i$  = diameter of each branch.

Tree diameters were taken with the aid of a tape measure and the Ht were estimated visually, based on a metric rod. The bifurcated trees had only a measured height, which was that of the stem that presented higher Ht. Preliminary identification of the botanical material was done in the field at the species level and was later conferred, supplemented and corrected by specialists from the taxonomy and herbaria laboratory of the Federal University of the West of Pará. Classification of species followed the proposed system by Angiosperm Phylogeny Group III (Angiosperm Phylogeny Group 2009).

*Data analyses.* The total Ht were stratified by three methods. The first method ( $M_1$ ), proposed by Souza (1990), is based on the use of arithmetic mean and standard deviation of Ht. The limits of the lower, mean and upper strata obtained by this method were obtained by expressions (2), (3) and (4) respectively (Souza 1990).

$$\text{Lower stratum: } Ht < (HT_m - 1s) \quad [2]$$

$$\text{Middle stratum: } (HT_m - 1s) \leq Ht \leq (HT_m + 1s) \quad [3]$$

$$\text{Upper stratum: } Ht > (HT_m + 1s) \quad [4]$$

where: Ht = total height of the trees sampled;  $HT_m$  = arithmetic mean of the total Ht of the trees sampled; and  $s$  = standard deviation of the total Ht of the trees sampled.

The  $M_1$  method evaluated if the Ht data followed a standard normal curve by adjusting a Normal Probability Density Function (PDF). If it does, it can be stated that the  $M_1$  method correctly classified the trees in the three strata of Ht, since it describes the same proportion of values below a normal curve with more or less one standard deviation of the mean. If not, the method was inefficient and alternative methods are recommended. The PDF parameters were estimated by the maximum likelihood method, and the quality of the fit was evaluated using the Kolmogorov-Smirnov adhesion test, at 95 % probability.

The second method ( $M_2$ ) is based on the use of the cluster analysis (Souza *et al.* 2003). In this method, trees were initially organized in ascending order of Ht, to later be grouped into classes with a width of 1.0 m. Afterwards, an X data matrix of Ht was elaborated, where each variable  $x_{ij}$  represented the height of the  $i$ -th tree classified in the  $j$ -th height class (Souza *et al.* 2003). The matrix X was the input for the cluster analysis. The clustering criteria used to obtain the groups composed of classes of Ht, called Ht strata, were the euclidean distance (5, 6) and the Ward method (Souza *et al.* 2003). The Ht strata were determined by plotting a cut line on the dendrogram resulting from the cluster analysis. The line was drawn so as to form three Ht strata, therefore comparisons between methods would be possible since the other methods necessarily describe three strata.

$$d_{ij} = \sqrt{\sum_{h=1}^p (x_{hi} - x_{hj})^2}, \quad h = 1, 2, 3, \dots, P \quad [5]$$

$$d_{ij}^2 = (x_i - x_j)^2 \quad [6]$$

where:  $d_{ij}$  = estimated Euclidean distance between classes  $i$  and  $j$ ;  $x_{hi}$  = diameter of the  $i$ th class in the  $i$ th class of diameter;  $x_{hj}$  = diameter of the  $i$ th class in the  $j$ th class of diameter; and  $d_{ij}^2$  = distance between the means of groups I and J.

The third method ( $M_3$ ) is an adaptation of the  $M_1$  method, so that the arithmetic mean of the total Ht is replaced by the mean height of Lorey ( $H_L$ ) (Lorey 1878), obtained by means of the expression (7). Therefore, lower, mean and upper strata were obtained according to expressions (8), (9) and (10), respectively.

$$H_L = \frac{\sum_{i=0}^n Ht_i \cdot g_i}{\sum_{i=0}^n g_i}, \quad \text{where } g_i = \frac{\pi \cdot DBH^2}{40,000} \quad [7]$$

$$\text{Lower stratum: } Ht < (H_L - 1s) \quad [8]$$

$$\text{Middle stratum: } (H_L - 1s) \leq Ht \leq (H_L + 1s) \quad [9]$$

$$\text{Upper stratum: } Ht > (H_L + 1s) \quad [10]$$

where:  $H_L$  = mean Lorey height of the trees sampled (m);  $g_i$  = sectional area of the  $i$ th tree (m<sup>2</sup>); DBH = diameter at 1.30 m from the soil of the  $i$ -th tree (cm); and Ht and  $s$  = defined above.

The three methods were evaluated through Fisher's discriminant analysis, which aimed at evaluating the number of correct classification of methods  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$ , and comparative analyses of vertical structures, which were obtained according to Freitas and Magalhães (2012), and by means of vertical profiles. In relation to vertical structures, only the parameters absolute sociological position (PSA)

and expanded importance value (VIA) were compared, since the others, frequency (FA), density (DA) and absolute dominance (DoA), are the same in all the methods. The parameters FA, DA and DoA make up the horizontal structure and were analyzed for complementing the vertical analysis within the phytosociological study of the forest. It was also evaluated, for each species and for the community, if the number of trees in the strata was different among  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$ . The test applied, in this case, was the chi-square for contingency tables, at 95 % probability (Zar 1996).

Throughout the results and discussions, the words lower, mean and upper will be followed by the subscripts  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$ , which respectively signify methods  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$ . Therefore, the words  $mean_{M_1}$ ,  $mean_{M_2}$  and  $mean_{M_3}$  imply that the mean strata were obtained using  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$ , respectively. The data were processed in software R version 3.3.2 (R Core Team 2018), using the scatterplot3d package (Ligges and Mächler 2003), for the construction of vertical profiles, and vegan (Oksanen *et al.* 2018), for cluster and discriminant analyses. Adjustment of Normal PDF and chi-square test were performed using the software Easy Fit and Microsoft Excel 2016, respectively.

## RESULTS

The values of the arithmetic mean and the standard deviation of Ht were 10.1 and 4.05 m, respectively. The  $M_1$  showed that the  $lower_{M_1}$  stratum was constituted by trees of 4.0 to 5.9 m height and added up to 16.0 % of trees. Regarding  $mean_{M_1}$ , it covered all trees with height of 6.0 to 13.9 m, accounting for 71.3 % of the inventoried trees (ta-

ble 1). The  $upper_{M_1}$ , in turn, included trees with height of 14.0 to 25.1 m, adding up to 12.7 % of the trees. It was also observed that although the strata of the  $M_1$  method should represent the three area proportions under a standard normal curve, plus or minus one standard deviation of the mean, there is a surplus of 0.15 and 3.03 % of trees in the  $lower_{M_1}$  and  $mean_{M_1}$ , respectively, and a deficit of 3.08 % in the  $upper_{M_1}$ . The results of the discriminant analysis showed significant differences ( $F = 28.387$ ), with Wilk's Lambda values close to zero and probabilities of 0.095, 0.381 and 0.524 for the  $lower_{M_1}$ ,  $mean_{M_1}$  and  $upper_{M_1}$  strata respectively. The confusion matrix showed that 95.2 % of the Ht classes were correctly identified in the vertical strata of the  $M_1$  method (table 1).

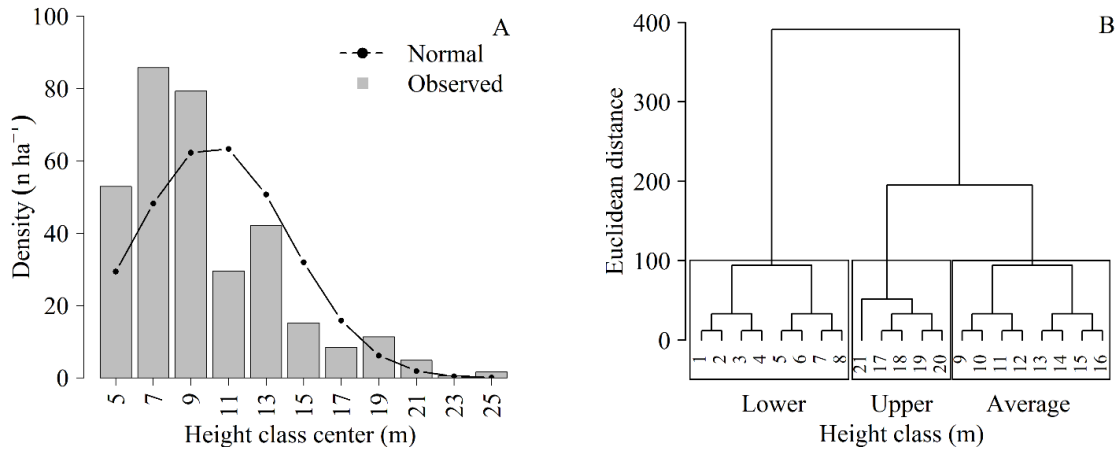
The histogram with the distribution of Ht showed that the area has a high abundance of trees in the initial classes, with a reduction in the larger classes (figure 1A). However, from a statistical point of view, this behavior was not described by a Normal Probability Density Function, since the Ht distribution deviated significantly from a normal distribution, as verified by the Kolmogorov-Smirnov test, which showed that the value in  $D_{calc}$  (0.170) was greater than  $D_{tab}$  (0.042), to 95% probability. In addition, trends of under and overestimation of the number of trees in different height classes were observed.

The  $M_2$  method considering the dendrogram with a cut line at a euclidean distance equal to 100, registered three homogeneous and distinct groups called strata  $lower_{M_2}$ ,  $mean_{M_2}$  and  $upper_{M_2}$  (figure 1B). The  $lower_{M_2}$  covered the first eight height classes, with a range of 4.0 to 10.9 m, while the  $mean_{M_2}$  included classes 9 to 16, ranging from

**Table 1.** Amplitude of the strata and matrix of confusion of the methods  $M_1$ ,  $M_2$ , and  $M_3$ . N = number of trees per Ht stratum; P = priori probabilities.

Amplitud de los estratos y matriz de confusión de los métodos  $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ . N = número de árboles por estrato Ht; P = probabilidad a priori.

Method	Stratum	Amplitude (m)	N	P	Classification			Sum	Hit (%)
					Lower <sub>M1</sub>	Average <sub>M1</sub>	Upper <sub>M1</sub>		
M <sub>1</sub>	Lower <sub>M1</sub>	4.0 - 5.9	163	0.095	1	0	0	1	100
	Average <sub>M1</sub>	6.0 - 13.9	729	0.381	1	8	0	9	88.9
	Upper <sub>M1</sub>	14.0 - 25.1	130	0.524	0	0	11	11	100
	Sum	-	1022		2	8	11	21	95.2
M <sub>2</sub>	Lower <sub>M2</sub>	4.0 - 10.9	703	0.333	7	0	0	7	100
	Average <sub>M2</sub>	11.0 - 19.9	274	0.429	0	9	0	9	100
	Upper <sub>M2</sub>	20.0 - 25.1	45	0.238	0	0	5	5	100
	Sum	-	1022		7	9	5	21	100
M <sub>3</sub>	Lower <sub>M3</sub>	4.0 - 9.9	555	0.286	6	0	0	6	100
	Average <sub>M3</sub>	10.0 - 17.9	393	0.381	0	8	0	8	100
	Upper <sub>M3</sub>	18.0 - 25.1	74	0.333	0	0	7	7	100
	Sum	-	1022	-	6	8	7	21	100



**Figure 1.** Distribution curve of the tree density obtained by the Normal PDF of the M1 method (A) and dendrogram of the cluster analysis of the M<sub>2</sub> method (B).

Curva de distribución de la densidad arbórea obtenida por el FDP normal del método M1 (A) y dendrograma del análisis de conglomerados del método M<sub>2</sub> (B).

11.0 to 19.9 m. The upper<sub>M<sub>2</sub></sub>, in turn, encompassed classes 17 through 21, resulting in an amplitude of 20.0 to 25.1 m. The lower<sub>M<sub>2</sub></sub>, mean<sub>M<sub>2</sub></sub> and upper<sub>M<sub>2</sub></sub> strata, 68.8 %, 26.8 % and 4.4 % of the trees. The discriminant analysis showed significant differences ( $F = 64.723$ ), with Wilk's Lambda values close to zero and probabilities of 0.333, 0.429 and 0.238 for lower<sub>M<sub>2</sub></sub>, mean<sub>M<sub>2</sub></sub> and upper<sub>M<sub>2</sub></sub> strata, respectively. The confusion matrix showed that 100 % of the Ht classes were correctly classified in the strata of the method M<sub>2</sub> (table 1).

The M<sub>3</sub> method demonstrated that the mean height of Lorey ( $H_L$ ) and the standard deviation of Ht were 14.0 and 4.05 m, respectively. Therefore, the lower<sub>M<sub>3</sub></sub> stratum was composed of trees with 4.0 to 9.9 m in height and added up to 54.3 % of the trees, while the mean<sub>M<sub>3</sub></sub> covered all tree individuals with a height of 10.0 to 17.9 m, making up 38.5 % of the trees sampled. The upper<sub>M<sub>3</sub></sub>, in turn, included trees with a height of 18.0 to 25.1 m, accounting for 7.2 % of tree individuals. The discriminant analysis showed significant differences ( $F = 62.542$ ), with Wilk's Lambda values close to zero and probabilities of 0.286, 0.381 and 0.333 for lower<sub>M<sub>3</sub></sub>, mean<sub>M<sub>3</sub></sub> and upper<sub>M<sub>3</sub></sub> strata, respectively. The classification procedure showed that 100.0 % of the Ht classes were correctly identified in the Ht strata (table 1). The vertical profiles clearly showed a greater similarity between the strata of Ht obtained by the methods M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub>, with differences between the lower and upper limits of up to 2.0 m, while in the method M<sub>1</sub> these differences ranged from 4.0 to 6.0 m (figure 2).

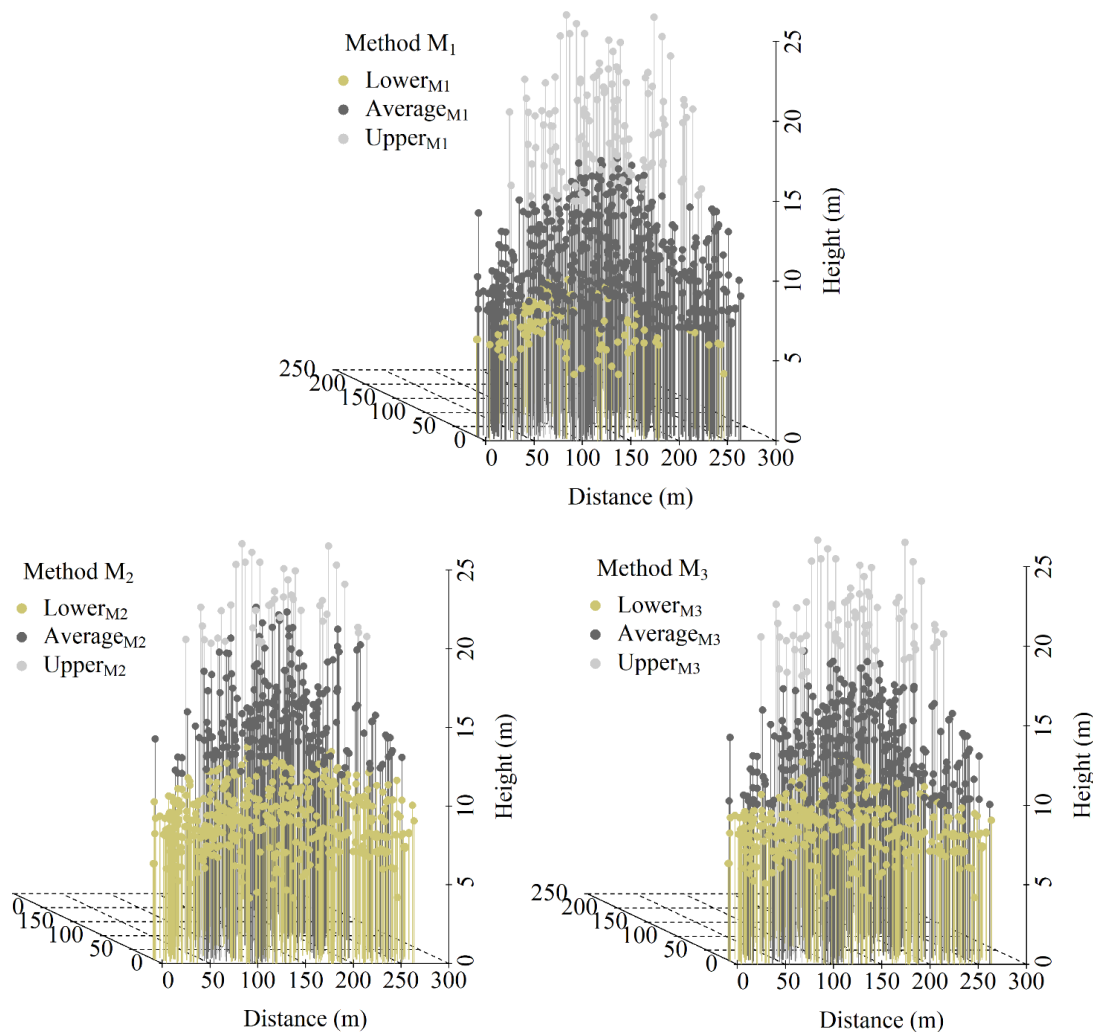
The vertical structures, regardless of the stratification method, showed the same frequencies (FA), densities (DA) and absolute dominances (DoA) for all species, changing only their density in strata, absolute sociological position (PSA) and importance value (VIA) (table 2). The ten species of higher densities ( $DA \geq 7.79$  trees ha<sup>-1</sup>) in the com-

munity, in descending order, were *Campsiandra laurifolia*, *Glycoxydon pedicellatum*, *Hevea brasiliensis*, *Tetragastris altissima*, *Mabea caudata*, *Vantanea parviflora*, *Swartzia* sp., *Inga capitata*, *Inga auristellae* and *Couepia hoffmaniana*, which together account for 70.8 % of all the DA. The ten most dominant species ( $DoA \geq 0.389$  m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>), in descending order, were *Hevea brasiliensis*, *Campsiandra laurifolia*, *Glycoxydon pedicellatum*, *Inga capitata*, *Tetragastris altissima*, *Vataireopsis speciosa*, *Vantanea parviflora*, *Inga auristellae*, *Nectandra* sp. and *Sideroxylon obtusifolium*, which together account for 68.5 % of all DoA.

The ten species of higher density ( $DA \geq 4.22$  trees ha<sup>-1</sup>) in lower<sub>M<sub>2</sub></sub> stratum, in descending order, were *Campsiandra laurifolia*, *Mabea caudata*, *Glycoxydon pedicellatum*, *Vantanea parviflora*, *Tetragastris altissima*, *Swartzia* sp., *Couepia hoffmaniana*, *Pera glabrata*, *Guarea guidonia* and *Inga capitata*. The same species were the densest ( $DA \geq 2.92$  trees ha<sup>-1</sup>) in lower<sub>M<sub>3</sub></sub> stratum, but not in exactly the same order. The first five, in this case, in descending order, were *Campsiandra laurifolia*, *Mabea caudata*, *Vantanea parviflora*, *Glycoxydon pedicellatum* and *Tetragastris altissima*. The lower<sub>M<sub>1</sub></sub> stratum, in turn, exhibited as more dense ( $DA \geq 0.97$  trees ha<sup>-1</sup>), in descending order, the species *Campsiandra laurifolia*, *Glycoxydon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Hevea brasiliensis*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata*, *Swartzia* sp., *Inga capitata*, *Inga auristellae* and *Couepia hoffmaniana*.

The ten species of higher density ( $DA \geq 1.95$  trees ha<sup>-1</sup>) in the mean<sub>M<sub>2</sub></sub> stratum, in descending order, were *Hevea brasiliensis*, *Glycoxydon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Campsiandra laurifolia*, *Coccoloba latifolia*, *Inga auristellae*, *Inga capitata*, *Vantanea parviflora*, *Myrciaria floribunda* and *Brosimum guianense*. The same species were the ten most dense ( $DA \geq 3.89$  trees ha<sup>-1</sup>) in the mean<sub>M<sub>3</sub></sub> strata, but not exactly in the same sequence.





**Figure 2.** Illustration of the strata of Ht obtained by the methods M1, M2 and M3.

Ilustración de los estratos de Ht obtenidos por los métodos M1, M2 y M3.

*Campsiandra laurifolia* was the first in the DA ranking, followed by the species *Glycoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Hevea brasiliensis* and *Inga auristellae*. The mean<sub>M1</sub> stratum, in turn, presented as more dense ( $DA \geq 5.84$  trees  $ha^{-1}$ ), in descending order, the species *Campsiandra laurifolia*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Hevea brasiliensis*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata*, *Swartzia* sp., *Inga capitata*, *Inga auristellae* and *Couepia hoffmaniana* (table 2).

The ten species of higher density ( $DA \geq 0.325$  trees  $ha^{-1}$ ) in the upper<sub>M2</sub> stratum, in descending order, were *Hevea brasiliensis*, *Vataireopsis speciosa*, *Nectandra* sp., *Tapirira guianensis*, *Dialium guianense*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Vantanea parviflora*, *Dipteryx polyphylla* and *Licania kunthiana*. The same species were among the densest ( $DA \geq 3.89$  trees  $ha^{-1}$ ) in the upper<sub>M3</sub> strata, except the tenth, which was replaced by the species *Crudia pubescens*. The first five, in this case, in descen-

ding order, were *Hevea brasiliensis*, *Dialium guianense*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Vataireopsis speciosa* and *Tapirira guianensis*. The upper stratum M<sub>1</sub>, on the other hand, presented density ( $DA \geq 0.65$  trees  $ha^{-1}$ ), in descending order, the species *Hevea brasiliensis*, *Coccoloba latifolia*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Inga auristellae*, *Nectandra* sp., *Tapirira guianensis*, *Dialium guianense*, *Sideroxylon obtusifolium*, *Vataireopsis speciosa* and *Vantanea parviflora*.

The species of higher PSAs in the structure, calculated by the M<sub>2</sub> method, in descending order, were *Campsiandra laurifolia*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Mabea caudata*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora*, *Hevea brasiliensis*, *Swartzia* sp., *Couepia hoffmaniana*, *Pera glabrata* and *Inga capitata*. The first seven species of this method, in descending order, were also the same in the structure of the method M<sub>3</sub>, followed by *Inga capitata*, *Couepia hoffmaniana* and *Inga auristellae*. The highest PSAs in the structure of the method M<sub>1</sub>, in descending order, were *Camp-*



**Table 2.** Vertical structures of the 20 populations with the highest VIA, obtained through the M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> methods. EI = lower stratum; MS = average stratum; MS = upper stratum; PSA = absolute sociological position; and VIA = expanded importance value. The values in parentheses indicate the importance position of the species in the forest structure of the area.

Estructuras verticales de las 20 poblaciones con mayor VIA, obtenidas por los métodos M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>. IE = estrato inferior; MS = estrato medio; MS = estrato superior; PSA = posición sociológica absoluta; VIA = valor de magnitud. Los valores entre paréntesis indican la importancia de la especie en la estructura forestal del área.

Scientific names	Method M <sub>1</sub>						Method M <sub>2</sub>						Method M <sub>3</sub>								
	EI <sub>M1</sub>	EM <sub>M1</sub>	ES <sub>M1</sub>	PSA	VIA	EI <sub>M2</sub>	EM <sub>M2</sub>	ES <sub>M2</sub>	PSA	VIA	EI <sub>M3</sub>	EM <sub>M3</sub>	ES <sub>M3</sub>	PSA	VIA	EI <sub>M3</sub>	EM <sub>M3</sub>	ES <sub>M3</sub>	PSA	VIA	
<i>Campandra laurifolia</i> Benth.	22.4	69.48	0.65	53.22	19.475 <sup>(1)</sup>	86.36	5.84	0.33	60.99	20.592 <sup>(1)</sup>	71.10	20.78	0.65	4.65	20.036 <sup>(1)</sup>						
<i>Hevea brasiliensis</i> (Willd. ex A.Juss.) Müll.Arg.	-	11.36	12.01	9.63	10.881 <sup>(2)</sup>	3.90	14.29	5.20	6.74	10.490 <sup>(2)</sup>	2.27	11.36	9.74	6.31	10.623 <sup>(2)</sup>						
<i>Glycoxylon pedicellatum</i> Ducke	1.95	20.78	2.92	15.50	7.193 <sup>(3)</sup>	13.96	11.04	0.65	12.59	6.805 <sup>(3)</sup>	9.74	14.29	1.62	10.90	6.904 <sup>(3)</sup>						
<i>Tetragastris altissima</i> (Aubl.) Swart	1.30	18.83	0.33	13.68	6.985 <sup>(4)</sup>	12.99	7.47	-	10.94	6.618 <sup>(4)</sup>	8.44	12.01	-	9.20	6.660 <sup>(4)</sup>						
<i>Vantanea parviflora</i> Lam.	5.20	11.36	1.30	9.0	5.241 <sup>(5)</sup>	12.99	4.22	0.65	10.09	5.386 <sup>(5)</sup>	12.34	4.55	0.97	8.52	5.428 <sup>(5)</sup>						
<i>Mabea caudata</i> Pax et K.Hoffm.	7.14	10.71	-	8.78	4.342 <sup>(6)</sup>	17.53	0.33	-	12.15	4.813 <sup>(6)</sup>	16.56	1.30	-	9.49	4.736 <sup>(6)</sup>						
<i>Inga capitata</i> Desv.	-	9.09	0.65	6.57	3.704 <sup>(7)</sup>	4.22	5.2	0.33	4.31	3.398 <sup>(7)</sup>	3.57	5.84	0.33	4.21	3.513 <sup>(7)</sup>						
<i>Swartzia</i> sp.	0.97	9.42	0.33	6.91	3.285 <sup>(8)</sup>	8.44	1.95	0.33	6.34	3.212 <sup>(8)</sup>	5.52	4.87	0.33	4.89	3.162 <sup>(8)</sup>						
<i>Inga auristellae</i> Harms	0.33	6.49	2.27	4.97	2.874 <sup>(9)</sup>	3.25	5.84	-	3.80	2.717 <sup>(9)</sup>	0.97	7.79	0.33	3.55	2.790 <sup>(9)</sup>						
<i>Myrciaria floribunda</i> (H.West ex Willd.) O.Berg	0.65	5.84	0.97	4.40	2.408 <sup>(10)</sup>	4.22	3.25	-	3.77	2.326 <sup>(10)</sup>	2.92	4.55	-	3.34	2.367 <sup>(10)</sup>						
<i>Nectandra</i> sp.	0.65	2.60	1.95	2.20	2.199 <sup>(11)</sup>	2.60	1.62	0.97	2.27	2.209 <sup>(11)</sup>	1.95	2.27	0.97	2.00	2.234 <sup>(11)</sup>						
<i>Vataireopsis speciosa</i> Ducke	-	2.27	1.30	1.79	2.082 <sup>(12)</sup>	1.30	0.97	1.3	1.21	2.004 <sup>(12)</sup>	0.65	1.62	1.30	1.07	2.017 <sup>(12)</sup>						
<i>Couepia hoffmaniana</i> Kl.	1.30	6.49	-	4.84	1.877 <sup>(13)</sup>	7.14	0.65	-	5.09	1.915 <sup>(13)</sup>	6.17	1.62	-	3.97	1.883 <sup>(13)</sup>						
<i>Coccoloba latifolia</i> Lam.	-	4.22	3.25	3.42	1.731 <sup>(14)</sup>	1.62	5.84	-	2.68	1.632 <sup>(16)</sup>	1.62	5.84	-	3.13	1.788 <sup>(14)</sup>						
<i>Pera glabrata</i> (Schott) Poepp. ex Baill.	0.65	5.84	-	4.27	1.659 <sup>(15)</sup>	6.49	-	-	4.47	1.689 <sup>(14)</sup>	6.49	-	-	3.53	1.667 <sup>(15)</sup>						
<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	2.27	2.60	-	2.22	1.477 <sup>(18)</sup>	4.87	-	-	3.35	1.635 <sup>(15)</sup>	4.55	0.33	-	2.59	1.610 <sup>(16)</sup>						
<i>Brosimum guianense</i> (Aubl.) Huber	0.33	3.90	0.65	2.91	1.658 <sup>(16)</sup>	2.60	2.27	-	2.40	1.589 <sup>(17)</sup>	0.97	3.90	-	2.03	1.600 <sup>(17)</sup>						
<i>Crudia pubescens</i> Spruce ex Benth.	0.33	2.92	0.97	2.26	1.575 <sup>(17)</sup>	2.92	0.97	0.33	2.29	1.581 <sup>(18)</sup>	1.62	1.95	0.65	1.68	1.548 <sup>(18)</sup>						
<i>Licania kunthiana</i> Hook.f.	-	2.27	0.97	1.75	1.360 <sup>(19)</sup>	1.30	1.62	0.33	1.34	1.306 <sup>(19)</sup>	0.97	1.95	0.33	1.30	1.340 <sup>(19)</sup>						
<i>Sideroxylon obtusifolium</i> (Roem. et Schult.) T.D.Penn.	-	0.65	1.62	0.67	1.097 <sup>(20)</sup>	1.62	1.62	0.65	0.46	1.070 <sup>(20)</sup>	1.30	1.30	0.97	0.57	1.102 <sup>(20)</sup>						
Subtotal	45.46	207.14	32.14	159.1	83.1	198.7	75	11.04	157.27	83	158.44	108.12	18.18	128.93	83						
Others	7.47	29.55	10.07	23.55	16.9	29.55	13.96	3.57	24.22	17	21.75	19.49	5.85	19.73	17						
Total	52.92	236.69	42.21	182.64	100	228.25	88.96	14.61	181.5	100	180.19	127.6	24.03	148.66	100						

*siandra laurifolia*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Mabea caudata*, *Hevea brasiliensis*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata*, *Swartzia* sp., *Inga capitata*, *Inga auristellae* and *Couepia hoffmaniana*.

The 13 species with the highest VIA values, in descending order, were: *Campsiandra laurifolia*, *Hevea brasiliensis*, *Glycoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora*, *Mabea caudata*, *Inga capitata*, *Swartzia* sp., *Inga auristellae*, *Myrciaria floribunda*, *Nectandra* sp., *Vataireopsis speciosa* and *Couepia hoffmaniana*, which together added 72.5, 73.4 and 72.5 % of the entire VIA of the vertical structures obtained by methods of  $M_1$  and  $M_3$ , respectively, maintained the same positions recorded in the method  $M_2$ , while the others changed, on average, two positions to more or less (table 2).

The chi-square test for contingency tables showed that the number of community trees in the lower, mean and upper strata is dependent on the selected stratification method, since the values of the  $\chi^2$  calculated were higher than the  $\chi^2$  95 % probability (table 3). The same test also showed that for 46 species no differences were recorded between the number of trees in the three strata of Ht obtained by methods  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$ . The other species, showed in table 3, presented significant differences in at least one of the Ht strata. The species *Campsiandra laurifolia*, for example, showed differences in the number of trees for the lower and mean strata obtained by the three methods, indicating that the number of trees was dependent on the stratification method, whereas among the upper stratum no dependence was recorded. The same occurred for the species *Glycoxylon pedicellatum*, *Tetragastris altissima*, *Vantanea parviflora* and *Swartzia* sp., all located among the nine most important species of the Ilha da Paz Amazônica.

## DISCUSSION

The vertical strata were better estimated in methods  $M_2$  and  $M_3$ . The certainty of their higher efficiencies was corroborated by the discriminant analysis, which demonstrated that 100 % of the Ht classes were correctly classified in the lower, mean and upper strata, while in the method  $M_1$  the percentage was 95.2 %. The same finding was observed by Curto *et al.* (2013) that, comparing different methods in a Semideciduous Seasonal Forest in the municipality of Guaçuí, Espírito Santo, concluded that the method  $M_2$  was one of the most efficient, while the method  $M_1$  did not allow a detailed analysis on the behavior of the species in the mean stratum, due to the strong tendencies of concentrating more trees in the said stratum, thus hindering interpretations.

The high number of trees *Campsiandra laurifolia* and *Mabea caudata* in the lower $_{M3}$  stratum also corroborates the efficiency of methods  $M_2$  and  $M_3$ , because they are medium-sized species that are between 7 and 12 m high (Silva *et al.* 1988, Dezzeo *et al.* 2003, Silva 2013) and rarely reach Ht higher than 15 m, thus being within the

limits calculated for the lower $_{M2}$  (4.0 – 10.9 m) and mean $_{M3}$  (4.0 - 9.9 m) strata. In a contact area of the Jaci-Paraná and Madeira Rivers in the state of Rondônia, Reis (2010) observed that trees of *Campsiandra laurifolia* and *Mabea caudata* had, on average, 12.0 and 11.0 m, respectively. It is also important to remember that these species are characteristic of the sub-forest (Vieira *et al.* 2017). This corroborates the observations made, which recorded the presence of only a few shrubs and vines below the canopy of these species. The higher degree of similarity between  $M_2$  and  $M_3$  is also corroborated from the vertical profiles and distribution trends of the number of trees in the strata. The method  $M_1$ , for example, grouped the community and species trees in the mean stratum, while in methods  $M_2$  and  $M_3$  the grouping occurred in the lower stratum, followed by the mean and upper strata, respectively.

The same species, considering the method  $M_1$ , were characteristic of the mean $_{M1}$  stratum; however, this behavior seems illogical, based on the results and observations mentioned above. Therefore, considering the boundaries of the lower $_{M1}$  (4 - 5.9 m) stratum, the mean Ht of the species *Campsiandra laurifolia* ( $8.0 \pm 3.4$  m) and *Mabea caudata* ( $7.0 \pm 2.2$  m) and the Ht obtained in other surveys (Dezzeo *et al.* 2003, Reis 2010, Rodrigues *et al.* 2012), one can deduce that the upper limit of the lower $_{M1}$  stratum was not correctly estimated, as observed through the discriminant analysis, which revealed that one of the height classes was wrongly allocated in the mean $_{M1}$  stratum, resulting in a hit rate of 88.9 %. The probable reason for this situation was the significant deviation of Ht from a standard normal distribution. It is also important to remember that, for the evaluated methods, the hit rate should not necessarily be 100 %, due to difficulties in obtaining the total tree Ht in natural forests of the Amazon, which, consequently, adds errors to the calculation of the limits of the Ht strata. Curto *et al.* (2013) and Silva *et al.* (2019) show that the height estimate performed visually by an inexperienced and experienced person, respectively, tends to underestimate the height of the trees. It is not affirmed that the method  $M_1$  is the same as the others, because this depends on other analyses; nonetheless, that 88.9 % fit for the stratum mean $_{M1}$  and 95.2 % for the method  $M_1$  may not be a bad result.

The method  $M_1$  assumes that Ht should follow a standard normal distribution, considering a standard deviation of mean, however the effects of rejection of this assumption did not influence the order of ecological importance of the main species, since, independently of the applied method, the first thirteen species, in descending order, were the same, and these represented more than 70 % of the VIAs. The changes recorded from the 13th species were not large, around two positions for more or less, because the VIA is more influenced by the horizontal parameters, *i.e.*, frequency, density and absolute dominance, which, consequently, end up attributing lower weight to the vertical parameters, that is, absolute sociological posi-

**Table 3.** Contingency table with observed and expected values (in brackets) of trees for the community and species in the Ht strata obtained by the M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> and M<sub>3</sub> methods, Ilha da Paz Amazônica, Pará state, Brazil. \* =  $P < 0.05$ ; ns = not significant, 95 % probability.

Tabla de contingencia con valores observados y esperados (entre paréntesis) de árboles para la comunidad y las especies en los estratos Ht obtenidos por los métodos M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub> y M<sub>3</sub>, Ilha da Paz Amazônica, estado de Pará, Brasil. \* =  $P < 0.05$ ; ns = no significativo, 95 % de probabilidad.

Species	Lower stratum						Average stratum						Upper stratum					
	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	χ <sup>2</sup> <sub>calc</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	χ <sup>2</sup> <sub>calc</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	χ <sup>2</sup> <sub>calc</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>	M <sub>3</sub>	χ <sup>2</sup> <sub>calc</sub>		
Community	163 (474)	703 (474)	555 (474)	327.45*	729 (465)	274 (465)	393 (465)	238.18*	130 (83)	45 (83)	74 (83)	43.86*						
<i>Campsiandra laurifolia</i> Benth.	69 (185)	266 (185)	219 (185)	113.4*	214 (99)	18 (99)	64 (99)	210.62*	2 (2)	1 (2)	2 (2)	0.05 <sup>ns</sup>						
<i>Mabea caudata</i> Pax et K.Hoffm.	22 (42)	54 (42)	51 (42)	13.81*	33 (13)	1 (13)	4 (13)	46.16*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Glycoxydon pedicellatum</i> Ducke	6 (26)	43 (26)	30 (26)	25.24*	64 (47)	34 (47)	44 (47)	9.17*	9 (5)	2 (5)	5 (5)	3.39 <sup>ns</sup>						
<i>Tetragastris altissima</i> (Aubl.) Swart	4 (23)	40 (23)	26 (23)	26.60*	58 (39)	23 (39)	37 (39)	14.85*	1 (0)	- (0)	- (0)	0.25 <sup>ns</sup>						
<i>Yantanea parviflora</i> Lam.	16 (31)	40 (31)	38 (31)	10.36*	35 (21)	13 (21)	14 (21)	13.58*	4 (3)	2 (3)	3 (3)	0.25 <sup>ns</sup>						
<i>Swartzia</i> sp.	3 (15)	26 (15)	17 (15)	15.96*	29 (17)	6 (17)	15 (17)	14.69*	1 (1)	1 (1)	1 (1)	0.75 <sup>ns</sup>						
<i>Couepia hoffmaniana</i> Kl.	4 (15)	22 (15)	19 (15)	10.98*	20 (9)	2 (9)	5 (9)	18.31*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Pera glabrata</i> (Schott) Poepp. ex Baill.	2 (14)	20 (14)	20 (14)	13.77*	18 (6)	- (6)	- (6)	32.13*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Guarea guidonia</i> (L.) Sleumer	7 (12)	15 (12)	14 (12)	2.40 <sup>ns</sup>	8 (3)	- (3)	1 (3)	9.58*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Inga capitata</i> Desv.	- (8)	13 (8)	11 (8)	10.34*	28 (21)	16 (21)	18 (21)	3.33 <sup>ns</sup>	2 (1)	1 (1)	1 (1)	0.06 <sup>ns</sup>						
<i>Myrciaria floribunda</i> (H. West ex Willd.) O. Berg	2 (8)	13 (8)	9 (8)	6.34*	18 (14)	10 (14)	14 (14)	1.77 <sup>ns</sup>	3 (1)	- (1)	- (1)	2.75*						
<i>Hevea brasiliensis</i> (Willd. ex A.Juss.) Müll. Arg.	- (6)	12 (6)	7 (6)	9.59*	35 (38)	44 (38)	35 (38)	1.13 <sup>ns</sup>	37 (28)	16 (28)	30 (28)	7.45*						
<i>Inga auristellae</i> Harms	1 (5)	10 (5)	3 (5)	7.45*	20 (21)	18 (21)	24 (21)	0.62 <sup>ns</sup>	7 (3)	- (3)	1 (3)	7.78*						
<i>Crudia pubescens</i> Spruce ex Benth.	1 (5)	9 (5)	5 (5)	4.95*	9 (6)	3 (6)	6 (6)	2.13 <sup>ns</sup>	3 (2)	1 (2)	2 (2)	0.38 <sup>ns</sup>						
<i>Duroia fusifera</i> Spruce ex K.Schum	3 (7)	9 (7)	8 (7)	2.11 <sup>ns</sup>	6 (2)	- (2)	1 (2)	6.04*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Roupala brasiliensis</i> Klotzsch	3 (7)	9 (7)	8 (7)	2.11 <sup>ns</sup>	6 (2)	- (2)	1 (2)	6.04*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Brosimum guianense</i> (Aubl.) Huber	1 (4)	8 (4)	3 (4)	4.69*	12 (10)	7 (10)	12 (10)	1.04 <sup>ns</sup>	2 (1)	- (1)	- (1)	1.13 <sup>ns</sup>						
<i>Coccoloba latifolia</i> Lam.	- (3)	5 (3)	5 (3)	3.23 <sup>ns</sup>	13 (16)	18 (16)	18 (16)	0.66 <sup>ns</sup>	10 (3)	- (3)	- (3)	16.23*						
<i>Lonchocarpus spruceanus</i> Spruce ex Benth.	- (2)	5 (2)	1 (2)	4.38*	6 (4)	1 (4)	5 (4)	2.19 <sup>ns</sup>	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Sloanea dentata</i> L.	2 (4)	5 (4)	5 (4)	0.69 <sup>ns</sup>	3 (1)	- (1)	- (1)	2.75*	- (0)	- (0)	- (0)	-						
<i>Qualea cassiquiarensis</i> Spruce ex Warm.	- (1)	3 (1)	- (1)	2.75*	3 (3)	1 (3)	4 (3)	0.78 <sup>ns</sup>	1 (0)	- (0)	- (0)	0.25 <sup>ns</sup>						

tion (PSA). Such justification helps to understand why the VIA of species among methods  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$  were very similar, although the chi-square test for contingency tables pointed out significant differences between the number of trees in the strata obtained by the three methods for all the most ecologically important species in Ilha da Paz Amazônica. It is also probable that in very heterogeneous forests, that is, in those where there is no dominion of a group of species, the differences in the structures are more significant, changing even the species of superior ecological importance due to the balance among the parameters that constitute the VIA, mainly PSA.

The vertical strata obtained by methods  $M_2$  and  $M_3$  were more similar in all criteria and better than the method  $M_1$ , which indicates that the use of Lorey height (HL) is a viable alternative for cases in which the Ht data do not follow a standard normal curve. The method  $M_1$ , although it did not meet its basic assumption, showed that its vertical structure was very similar to those obtained by the others, since in practice they are used to describe the species with the highest frequency, density and dominance and with the best sociological positions (Freitas y Magalhães 2012). This, among the methods, did not present much difference, resulting in the same conclusions that can be obtained from the vertical structures of methods  $M_2$  and  $M_3$ . For example, if there was a need to select species for recovery of floodplain areas in Tapajós River Basin, the recommended species according to methods  $M_1$ ,  $M_2$  and  $M_3$  would be *Campsiandra laurifolia*, *Mabea caudata* and *Tetragastris altissima*, as they are dominant, ecologically important and characteristics of wetlands (Ferreira y Prance 1998).

Another conclusion obtained from the three structures, showing their similarities, is that the selection of the species *Hevea brasiliensis* should be cautious, since places with excessive humidity are the least indicated for their planting, since they provide ideal conditions for the incidence of diseases that limit the growth and survival of smaller trees (Vieira *et al.* 2017). The structures of methods  $M_2$  and  $M_3$  demonstrate that *Hevea brasiliensis* is not abundant in lower <sub>$M_2$</sub>  stratum. Regarding lower <sub>$M_1$</sub>  stratum, the method  $M_1$  it is totally absent, showing that some process generated a high mortality rate of smaller trees of this species. Evaluating forest phytosociology in this same area of study, Vieira *et al.* (2017) stated that the low abundance of *Hevea brasiliensis* in the lower stratum is a result of the high flood levels of Tapajós River observed since 2003, while the high abundance in the mean and upper strata occurred due to the low levels recorded between 1970 and 2003, period during which the higher areas would have provided edaphic conditions for the establishment of this species.

Therefore, it is recommended that the method  $M_3$  be used first, since it is more practical and provides the same results as those obtained from the method  $M_2$ , which requires a higher level of statistical knowledge. On the other hand, if the objective is more detailed strata, the best option is the method  $M_2$  because it allows obtaining more

than three strata. In this study, for example, up to five strata with a 100 % correct classification can be obtained, according to Fisher's discriminant analysis. The method  $M_1$  can be used in vertical structural analyses, nonetheless it is recommended to evaluate its basic assumption, so that a more coherent stratification is achieved. The results of this study also raise questions to be worked on in the future, on the real importance of evaluating the vertical structure of forests, since the horizontal parameters exert a superior influence on the VIA. In this case, would it be better to evaluate only the horizontal structure or propose an expression where all VIA parameters have equal importance?

## CONCLUSIONS

The methods that consider the cluster analysis and the mean Lorey height were better than the arithmetic mean and standard deviation of the Ht, allowing a more coherent stratification and discussion about the behavior of the species in the community. The arithmetic mean and standard deviation of the Ht can be used in vertical structural analyses of forests, however, it is recommended to evaluate their basic assumption. The use of Lorey's mean height is operationally feasible for stratification of unequal forests, and can be used in the structural analyses of forests.

## REFERENCES

- Alvares CA, JL Stape, PC Sentelhas, JLM Gonçalves, G Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22(6): 711-728. DOI: <https://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Angiosperm Phylogeny Group. 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(1): 105-121. DOI: <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Brito A, MZ Ferreira, JM Mello, JRS Pinto. 2007. Comparação entre os métodos de quadrantes e prodan para análises florística, fitossociológica e volumétrica. *Cerne* 13(4): 399-405.
- Calegário N, JRS Scolforo, AL Souza. 1994. Estratificação em altura para floresta natural heterogênea: um proposta metodológica. *Cerne* 1(1): 58-63.
- Curto RDA, GF Silva, JEM Pezzopane, JF Chichorro, R Môra. 2013. Métodos de estratificação vertical em Floresta Estacional Semidecidual. *Ciência Florestal* 23(4): 643-654. DOI: <https://doi.org/10.5902/1980509812348>
- Dezzeb N, M Worbes, I Ishii, R Herrera. 2003. Annual tree rings revealed by radiocarbon dating in seasonally flooded forest of the Mapipe River, a tributary of the lower Orinoco River, Venezuela. *Plant Ecology* 168:165-175. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1024417610776>
- Durigan G, GADC Franco, M Saito, JB Baitello. 2000. Estrutura e diversidade do componente arbóreo da floresta na Estação Ecológica dos Caetetus, Gália, SP. *Revista Brasileira de Botânica* 23(4): 371-383. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042000000400003>
- Ferreira LV, GT Prance. 1998. Structure and species richness of low-diversity floodplain forest on the Rio Tapajós, Eastern

- Amazonia, Brazil. *Biodiversity & Conservation* 7: 585-596. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1008848200441>
- Freitas WK, LM Magalhães. 2012. Métodos e parâmetros para estudo da vegetação com ênfase no estrato arbóreo. *Floresta e Ambiente* 19(4): 520-540. DOI: <https://doi.org/10.4322/floram.2012.054>
- Ligges U, M Mächler. 2003. Scatterplot3d - an R package for visualizing multivariate data. *Journal of Statistical Software* 8(11): 1-20. DOI: <http://dx.doi.org/10.18637/jss.v008.i11>
- Lorey T. 1878. Die mittlere bestandeshöhe. *Allgemeine Forst- und Jagdzeitung* 54:149-155.
- Oksanen J, FG Blanchet, R Kindt, P Legendre, PR Minchin, RB O'Hara, GL Simpson, P Solymos, MHH Stevens, E Szoecs, H Wagner. 2018. Vegan: Community Ecology Package. R package version 2.5-2. Available in <https://cran.r-project.org/package=vegan>
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Consulted 13 Aug. 2019. Available in <https://www.r-project.org/>
- Reis NFC. 2010. Estrutura fitossociológica e seletividade de espécies em áreas inundáveis na região do Baixo Rio Jaci-Paraná, Rondônia. Tesis Engenheiro Florestal. Porto Velho, Brasil. Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade Federal Rondônia. 107 p.
- Rodrigues MS, RC Martins-da-Silva, RS Secco. 2012. Caesalpinieae (Leguminosae-Caesalpinioideae) do Campo Experimental da Embrapa Amazônia Oriental, Município de Moju, PA, Brasil. *Hoehnea* 39(3): 489-516. DOI: <https://doi.org/10.1590/S2236-89062012000300009>
- Santos LS, LG Martorano, CBB Gutierrez, AN Ponte, OM Silva, DMG Gutierrez. 2017. Aspecto Fisiográficos da Floresta Nacional do Tapajós e seu Entorno - Oeste do Pará, Brasil. *Revista Espacios* 38(2): 26-36.
- Silva JC, Mendonça AR, Silva GF, Curto RDA, Figueiredo LTM, Silva MLM. 2019. Métodos de medição da altura comercial de árvores na região amazônica. *Scientia Forestalis* 47(123): 588-598. DOI: <https://doi.org/10.18671/scifor.v47n123.20>
- Silva MF, GH Goldman, FM Magalhães, FW Moreira, MF Silva, GH Goldman, FM Magalhães, F W Moreira. 1988. Germinação natural de 10 leguminosas arbóreas da Amazônia. *Acta Amazonica* 18(1/2): 9-26. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-43921988182026>
- Silva S. 2013. Árvores Nativas do Brasil. São Paulo, Brasil. Europa. 168 p.
- Souza AL. 1990. Estrutura, dinâmica e manejo de florestas tropicais. Viçosa, Brasil. Viçosa. 322 p.
- Souza DR, AL Souza. 2004. Estratificação vertical em floresta ombrófila densa de terra firme não explorada, Amazônia Oriental. *Revista Árvore* 28(5): 691-698. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622004000500008>
- Souza DR, AL Souza, JRV Gama, HG Leite. 2003. Emprego de análise multivariada para estratificação vertical de florestas inequidâneas. *Revista Árvore* 27(1): 59-63. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-67622003000100008>
- Vieira DS, MLR Oliveira, JRV Gama, ELM Machado, EB Görgens, BL Lafetá, JS Garcia. 2017. Phytosociology of a natural fragment of the floodplain forest in the Lower Tapajós River, Brazil. *Bosque* 38(2): 357-369. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002017000200013>
- Zar JH. 1996. Biostatistical analysis. New Jersey, United States. Prentice Hall. 662 p.

Recibido: 04/05/20  
Aceptado: 01/09/20





## Seed protein profile of *Pinus greggii* and *Pinus patula* through functional genomics analysis

Perfiles proteómicos de *Pinus greggii* y *Pinus patula* a través de análisis de genómica funcional

Orlis B Alfonso <sup>a</sup>, David Ariza-Mateos <sup>b\*</sup>, Guillermo Palacios-Rodríguez <sup>b</sup>, Alexandre Ginhás Manuel <sup>a</sup>, Francisco J Ruiz-Gómez <sup>b</sup>

<sup>a</sup>José Eduardo dos Santos University, Agricultural Sciences Faculty, Department of Forest Engineering, Huambo, Angola.

\*Corresponding author: <sup>b</sup>University of Cordoba, Department of Forest Engineering, Laboratory of Dendrochronology, Silviculture and Global Change, DendrodatLab-ERSAF, Campus de Rabanales, Ctra. N. IV, 14071 Córdoba, Spain; Tel.: +34 957 218381, dariza@uco.es

### SUMMARY

The present work was carried out with the aim of analyzing and describing the seed proteome of *Pinus patula* and *Pinus greggii*. The analysis was performed using the “shotgun” (“gel-free”) strategy. Proteins were extracted using the TCA/Phenol/Acetone protocol, subsequently separated by liquid chromatography and analyzed by mass spectrometry (nLC LTQ Orbitrap). Protein identification was performed by consulting the specific database for *Pinus* spp and functional classification taking into account the three functional terms (biological processes, cellular components and molecular functions) of Gene Ontology. To extract relevant Gene Ontology terms, a singular enrichment analysis (SEA) was performed, the terms were considered relevant for a minimum threshold of significance FDR < 0.05. After analyzing protein profiles, a total of 1091 proteins were identified, 362 proteins common in both species, 100 exclusives to *P. greggii* and 267 exclusive proteins to *P. patula*. The comparative analysis of the distribution of proteins as a function of the three functional terms reveals similarity between the two species. The most abundant proteins were associated with oxidation-reduction processes, in terms of cellular components; in both species integral membrane proteins predominate. Regarding molecular function, the predominant expression of proteins in both species was related to ATP synthesis. The metabolic pathway with the highest participation of proteins (17 in *P. greggii* and 19 in *P. patula*) was the glycolysis/gluconeogenesis pathway. These results demonstrate that there is little genetic variability between the two species, with proteins associated with metabolic processes prior to germination prevailing.

*Key words:* coniferous, genetic variability, molecular markers, tandem mass spectrometry.

### RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo con el objetivo de analizar, describir y comparar el proteoma de la semilla de *Pinus patula* y *Pinus greggii*. El análisis se realizó utilizando la estrategia “shotgun”. Las proteínas se extrajeron mediante el protocolo del ácido tricloroacético / Fenol / Acetona, se separaron por cromatografía líquida y se analizaron por espectrometría de masas. La identificación de proteínas se realizó consultando la base de datos específica para *Pinus* spp. y la clasificación funcional, teniendo en cuenta los tres términos funcionales (procesos biológicos, componentes celulares y funciones moleculares) de la Gene Ontology. Para extraer los términos relevantes de la Gene Ontology se realizó un análisis de enriquecimiento singular. Se identificaron 1091 proteínas, 362 proteínas comunes a ambas especies, 100 exclusivas de *Pinus greggii* y 267 exclusivas de *Pinus patula*. El análisis comparativo de la distribución de proteínas en función de los tres términos funcionales reveló la similitud entre las dos especies. Las proteínas más abundantes se asociaron a procesos de oxidación-reducción. En cuanto a los componentes celulares, en ambas especies predominan las proteínas integrales de membrana. En cuanto a la función molecular, la expresión mayoritaria de las proteínas en ambas especies estaba relacionada con la síntesis de ATP. La vía metabólica con mayor participación de proteínas fue la vía de la glicólisis/gluconeogénesis. Estos resultados demuestran que hay poca variabilidad genética entre las dos especies, debido a la similitud de sus perfiles proteicos, prevaleciendo las proteínas asociadas a los procesos metabólicos previos a la germinación.

*Palabras clave:* coníferas, variabilidad genética, marcadores moleculares, espectroscopia de masa tándem.

## INTRODUCTION

*Pinus* spp. is considered an important pillar in forestry, not only for the number of species but also for their economic importance as endemic or introduced species, both in natural ecosystems and in forest plantations (Muniz *et al.* 2020). In the 1960s and 1970s, several species of *Pinus* were introduced into Angola, mostly from Mexico. *Pinus patula* Schl and Cham. and *Pinus greggii* Engelm. are two species of Mexican *Pinus* spp. modified in afforestation and restoration programs throughout the world, mainly because they are fast growing species and resistant to adverse environmental conditions, such as drought, shallow, eroded and poor in nutrients soils (Casique *et al.* 2019). Molecular phylogeny studies confirm that these species are genetically similar, however, despite their similarity, the *P. greggii* species differs from *P. patula*, because it has short, erect leaves, with superior thickness and epidermal thickness, while *P. patula* has a higher epidermal cell width in relation to *P. greggii* (Singh *et al.* 2019). Plant biotechnology has led to the emergence of new research areas in forestry in the last two decades. Advances in molecular biology resulted in the common use of methods for identification of species based on the use of molecular markers.

These methods have been proposed as valid tools for evaluating the productivity, growth and response to biotic and abiotic stresses in different forest species and are applicable to any type of vegetative material; therefore, permitting the correct identification of the species with a reasonably low effort (Rodríguez de Francisco *et al.* 2016).

When applied to molecular and genetic studies in forestry, the new techniques of molecular biology and -omic approaches allow us to establish the relationship between individual trees and progenies; and also, to look deeper into the population structure and biological diversity. Together with traditional biochemistry and genetics, these techniques (DNA molecular markers, transcriptomics, proteomics and metabolomics) have been used to characterize genetic variability in proteome of seeds of other *Pinus* species in *P. pinea* L. (Loewe *et al.* 2018), *P. occidentalis* (Rodríguez de Francisco *et al.* 2016) and *P. halepensis* (Taïbi *et al.* 2017). Molecular studies are effective tools to genetically characterize species, particularly considering the most likely effects of climate change on forests. The proteins profile analysis of different sample tissues, for example seeds, is very useful because it helps to detect the variability in type and protein concentrations and to identify proteins as putative phenotype markers, differentiating populations or elite phenotypes (Rey *et al.* 2019).

This study will allow i) to characterize, through molecular markers (proteins) of the seeds of these two *Pinus* species (*P. patula* and *P. greggii*) ii) to classify and compare the main biological categories (biological processes, cellular components and molecular function) and their metabolic profiles in which they are involved and iii) to compare the genetic variability between seeds of both species

for the selection of the appropriate forest material in the conservation and management programs for exotic species in Angola and, even more, in the current context of change, the projections of which are particularly more serious on the African continent.

## METHODS

**Plant material.** The plant material used for the analysis were homogeneous seed lots of *Pinus patula* and *Pinus greggii* species, harvested in 2016. The certified seeds of both species came from controlled progenitors and were provided by the Seed Bank of the Mexico Forestry Genetic Center (CNRGM) (table S1, Supplementary Material).

**Protein extraction.** Protein extraction was done using the TCA/Phenol/Acetone methodology described by Wang *et al.* (2006). First, *Pinus patula* and *Pinus greggii* seeds were extracted from pine nuts and disinfected by submerging them in a 5 % Sodium Hypochlorite solution (NaClO) followed by rinsing them with regular tap water. Afterwards, the seeds were grinded in a mortar with the help of liquid nitrogen until a fine dust was obtained. Six dust samples were weighed (0.2 g) that represented the three biological replicates used for each species. Decanted proteins were re-suspended in a solubilization medium of urea 7M, thiourea 2M, CHAPS at 4 % per volume, Triton X-100 0.5 % (v/v) and DTT 100 nM. The resulting solution was centrifuged for 10 minutes at 1200 rpm. Finally, proteins were quantified by the Bradford method using bovine serum albumin (BSA) as standard (Maldonado *et al.* 2008). Extracted proteins were kept at -80 °C until the shotgun proteomic analysis was carried out.

### *Identification of proteins by nLC-MS MS.*

**Sample preparation:** The shotgun gel-free protein analysis was carried out in the Proteomics Facility at the Research Support Central Service (SCAI) University of Cordoba (Spain). Proteins extracts were cleaned-up in 1D SDS-PAGE at 10 % polyacrylamide. Samples were loaded onto the stacking gel and a stable electrical potential of 100 V was applied until the electrophoresis front reached the resolving gel, coinciding when the protein extract had entered 1 cm into the resolving gel. The gel was stained with Commasie Blue and protein bands were cut off, diced, and kept in water until digestion.

**Protein digestion:** Briefly, gel dices were destained in 200 mM ammonium bicarbonate (AB)/50 % acetonitrile for 15 min followed by 5 min in 100 % Acetonitrile. Proteins were reduced by adding 20 mM dithiothreitol in 25 mM AB and incubated for 20 min at 55 °C. The mixture was cooled down to room temperature, followed by alkylation of free thiols by adding 40 mM iodoacetamide in 25 mM AB, and placed in the dark for 20 min. The gel pieces were

then washed twice in 25 mM AB. Proteolytic digestion was performed by adding Trypsin (Promega Madison, WI) at 12.5 ng/μl of enzyme in 25 mM AB and incubated at 37 °C overnight. Protein digestion was stopped by adding trifluoroacetic acid at 1 % final concentration and the digested samples were finally dried in Speedvac (Eppendorf Vacufuge Concentrator, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA).

**nLC-MS2 analysis:** The peptide mixture resulting from the digestion was cleaned to remove the salts in an Acclaim Pepmap precolumn of 300 μm x 5 mm (Thermo Fisher Scientific Inc.) with 2 % (ACN) / 0.05 % TFA for 5 min. at 5 μl/min. The separation of nLC peptides was performed with the Dionex Ultimate 3000 nano UPLC (Thermo Fisher Scientific Inc.) with a C18 analytical column 75 μm x 50 mm Acclaim Pepmap precolumn (Thermo Fisher Scientific Inc.) at 40 °C for all analyses. Mobile phase buffer A was composed of water, 0.1 % formic acid. Mobile phase B was composed of 20 % acetonitrile, 0.1 % formic acid. In the elution, the following gradients of 4-35 % of phase B were used for 60 minutes, 35-55 % of B for 3 minutes, 55-90 % of B for 3 minutes followed by washing 8 minutes to 90 % of B and a rebalancing of 12 minutes at 4 % of B. The total chromatography time was 85 min.

Peptides elution results were converted into gas-phase ions by Nano electrospray ionization and analyzed on a Thermo Orbitrap Fusion (Q-OT-qIT, Thermo Fisher Scientific, Inc.) mass spectrometer operated in positive mode. Survey scans of peptide precursors from 400 to 1500 m/z were performed at 120K resolution (at 200 m/z) with a 4 × 10<sup>5</sup> ion count target. Tandem MS was performed by isolation at 1.2 Da with the quadrupole, CID fragmentation with normalized collision energy of 35, and a rapid scan MS analysis in the ion trap. The automated gain control (AGC) ion count target was set to 2 × 10<sup>3</sup> and the max injection time was 300 ms; only those precursors with charge between 2–5 were sampled for MS<sup>2</sup>. The dynamic exclusion duration was set to 15 s with a 10 ppm tolerance around the selected precursor and its isotopes. Monoisotopic precursor selection was turned on. The instrument was run in top 30 mode with 3 s cycles, meaning the instrument would continuously perform MS<sup>2</sup> events until a maximum of top 30 non-excluded precursors or 3 s, whichever was shorter.

Finally, the spectra obtained from the mass analysis were analyzed with the software Proteome Discoverer v. 2.1.0.81 (Thermo Fisher Scientific Inc.) and the SEQUEST/HT search engine using a pine protein database inferred from the existing transcript (35,374) collection in *Pinus*, SustainPineDB v3.0 available on the Sustain Pine Project Platform PLE2009-0016 (Fernández *et al.* 2011). Protein sequences were extracted from the transcripts once the correct reading frame was identified after using blastx against Acrogymnospermae (ancestor). For those transcripts that did not present homology, the highest ORF (Open Reading Frame) was selected from all those that

could be obtained by theoretically translating into the six possible reading frames.

Peptides were generated by theoretical tryptic digestion. Carbamidomethylation of cysteine was considered as a fixed modification, and variable modification was methionine oxidation, error tolerance for precursor ions of 10 ppm and product (fragmented) ions of 0.1 Da. Peptide spectral matches (PSMs) were validated with the Percolator algorithm (included in the Proteome Discoverer software), using a filter based on values of 1 % of the false discovery rate FDR (False Discovery Rate).

**Protein functional classification.** The proteins identified by the nLC LTQ Orbitrap analysis were functionally annotated using the Blast2GO software (v.4.1.9) against the nr-NCBI database, conserving up to 20 blast “hits” with an e-value threshold of 1e<sup>-5</sup>. Likewise, metabolic domains and pathways were annotated by exploring the IPRScan (protein domains identifier) and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes database (KEGGs). The Blast Description Annotator algorithm was used to assign a description to each sequence. For those sequences that remained without any information in this phase (10 sequences), the threshold was relaxed to an e-value 1e<sup>-3</sup> and tried to find similarities against nt-NCBI, to assign a description to these sequences; although this result was not used to annotate them functionally due to their low confidence. The classification for the functional profiles was prepared considering the terms of Gene Ontology, taking into account the three present categories: biological processes, cellular components and molecular functions.

**Statistical analysis.** To classify the main functional processes in which the most abundant proteins and their metabolic associated profiles for each species may be involved, a functional enrichment analysis (SEA) was used to determine the most relevant Gene Ontology terms associated with the proteins identified for each species. This analysis consists in transforming the two lists of proteins to be used in comparing their Gene Ontology annotations, using the corresponding protein-functional term association table. Subsequently, a Fisher’s exact test with a 2 x 2 contingency table was used to verify if there are statistically significant overrepresented Gene Ontology annotations in any of the two species. A multiple testing correction was applied to each term to correct the departure from the simultaneously multiple hypothesis tested. The significance of terms was determined by using statistical tests with a minimum significance level of FDR < 0.05.

## RESULTS

**Protein profile analysis.** A total of 1091 proteins were identified: 629 in seeds of *P. patula* and 462 in *P. greggii*. Once proteins profiles were compared, 362 common protein species were identified in both *Pinus* species. A total

of 100 and 267 unique proteins were identified for *P. greggii*, and *P. patula* respectively, with 362 proteins present in both species. Most identifications were matched by homology for *Picea sitchensis* annotations ([figure S1](#) and [table S2](#), Supplementary Material).

*Classification of functional profiles according to Gene Ontology terms for biological processes, cellular components and molecular functions.* The comparative analysis between species of proteins distribution according to the biological process revealed similarities between the two species ([figure 1](#) and [table S2](#) Supplementary Material), with higher predominance of proteins involved in oxidation-reduction processes (78 and 104 proteins in *P. greggii* and *P. patula*, respectively), followed by the processes of monocarboxylic acid metabolism, translation, ribosomal biogenesis, and catabolism of organic substances.

When proteins were classified regarding the different cellular components, integral or intrinsic membrane proteins predominated in both species (33 and 40 in *P. greggii* and *P. patula*, respectively) ([figure 2](#)). Most identified proteins belong to components of the membrane, including transport proteins, plasma membrane proteins and catalytic proteins of the cell wall and other inner organelles. Other important proteins were the cytosolic ribosomal units and proteins involved in nuclear activity, such as gene expression. When proteins were grouped by their molecular function, ([figure 3](#)), ATP binding, with 48 and 62 proteins in *P. greggii* and *P. patula* respectively, was the function with the larger number of proteins identified, followed by the structural constitution of the ribosome with 48 and 59 proteins respectively. In general, the results of the analysis of the functional profiles indicate that no enrichment was detected in any Gene Ontology term considering  $FDR < 0.05$ ; since most of these terms (biological processes, cellular components and molecular function) had a similar representation in the two species.

*Functional classification of proteins by exploring the KEGGs database.* The results of the functional classification of proteins in the KEGGs database showed that the proteins identified in the study participate in a total of 99 metabolic pathways between the two species, 90 common on both species and 9 exclusives for *P. patula* ([table S2](#) Supplementary Material). Those exclusive pathways were correspondent to the biotin metabolism, lipid metabolism, flavonoid biosynthesis, metabolism of glycerophospholipids, linoleic acid metabolism, phosphatidylinositol signaling system, porphyrin and chlorophyll metabolism, riboflavin metabolism and streptomycin biosynthesis.

The common metabolic pathways accounting for the high number of proteins among the identified ones were the same for both species: glycolysis/gluconeogenesis ([table 1](#)), antibiotic biosynthesis, fatty acid biosynthesis, lipid metabolism, pyruvate metabolism, nucleotide metabolism, carbon fixation in photosynthetic organisms and oxidative phosphorylation.

Regarding the glycolysis/gluconeogenesis pathway, 19 of the identified proteins were related to enzymes involved in this metabolic pathway ([figure 4](#)). Most of these proteins (16) are common in both species ([table 1](#)), although three were only identified in one of the species: acetyltransferase, identified only in *P. greggii*, and Diphosphate-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (PF6) and Phosphoenolpyruvate carboxykinase ATP (PEPCK), only identified in *P. patula*.

## DISCUSSION

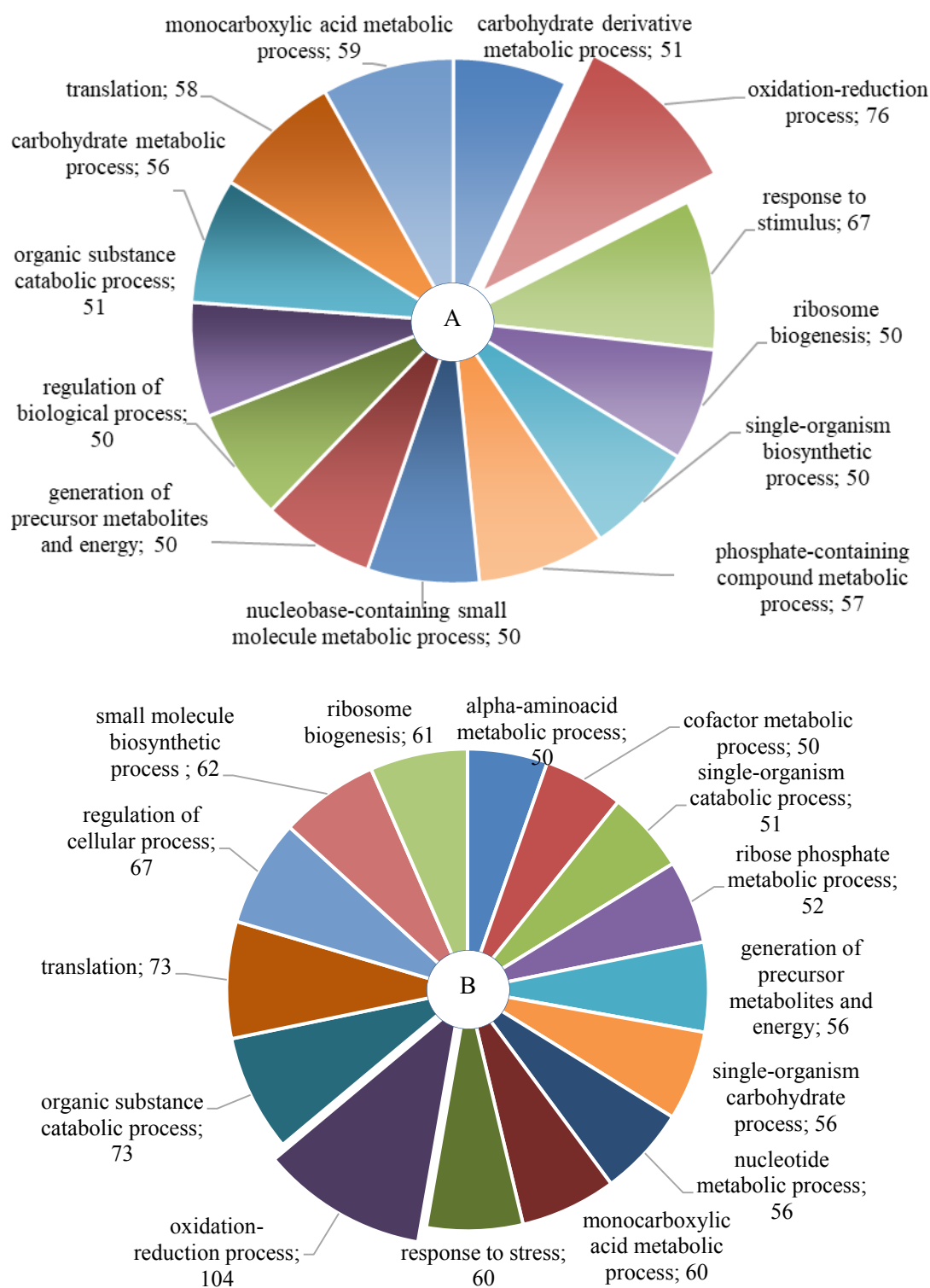
*Identified proteins and data analysis.* In this work, the analysis of the protein profile was based on the shotgun proteomic approach, considered by many researchers as an effective tool for high performance proteomic studies (Woo *et al.* 2019). However, due to the sensitivity of peptide identification in this approach, authors such as Romero *et al.* (2014) recommend the use of specific proteins from similar organisms to improve the sensitivity of peptide identification when working with non-model species. In this case, a database of sequences specific to the genus *Pinus*, SustainPineDB v3.0 (Fernández *et al.* 2011), was used, generated from gene predictions of the latest assembly version of *Pinus pinaster* specific genome.

The species that contributed the most to protein annotation was *Picea sitchensis*, a genomically highly studied species and for which there is a large amount of information available in databases. Authors such as De la Torre *et al.* (2019) state that there are low levels of genetic variation between these genera. However, previous genetic studies by Kovačević *et al.* (2013) concluded that the *Picea* genus is clearly separated from the *Pinus* genus, being closer to the *Abies* genus.

*Gene ontology and protein expression of P. patula and P. greggii seeds.* The oxidation-reduction processes accounted for the highest number of proteins identified in the two *Pinus* species analyzed. Similar results were obtained by other authors studying the proteomic profile of forest species seeds through the “shotgun” strategy. Pullman *et al.* (2015) have shown that oxidation-reduction processes can improve embryogenic tissue initiation (ET) in conifers, early embryonic development and germination in these species. On the other hand, most of the proteins were located in or related to the cell membrane for both *P. patula* and *P. greggii*. According to Rosental *et al.* (2014) the cell membrane is directly involved in the process of germination, during which it experiences a specific and functional reorganization by actively participating in the imbibition of water by the seed.

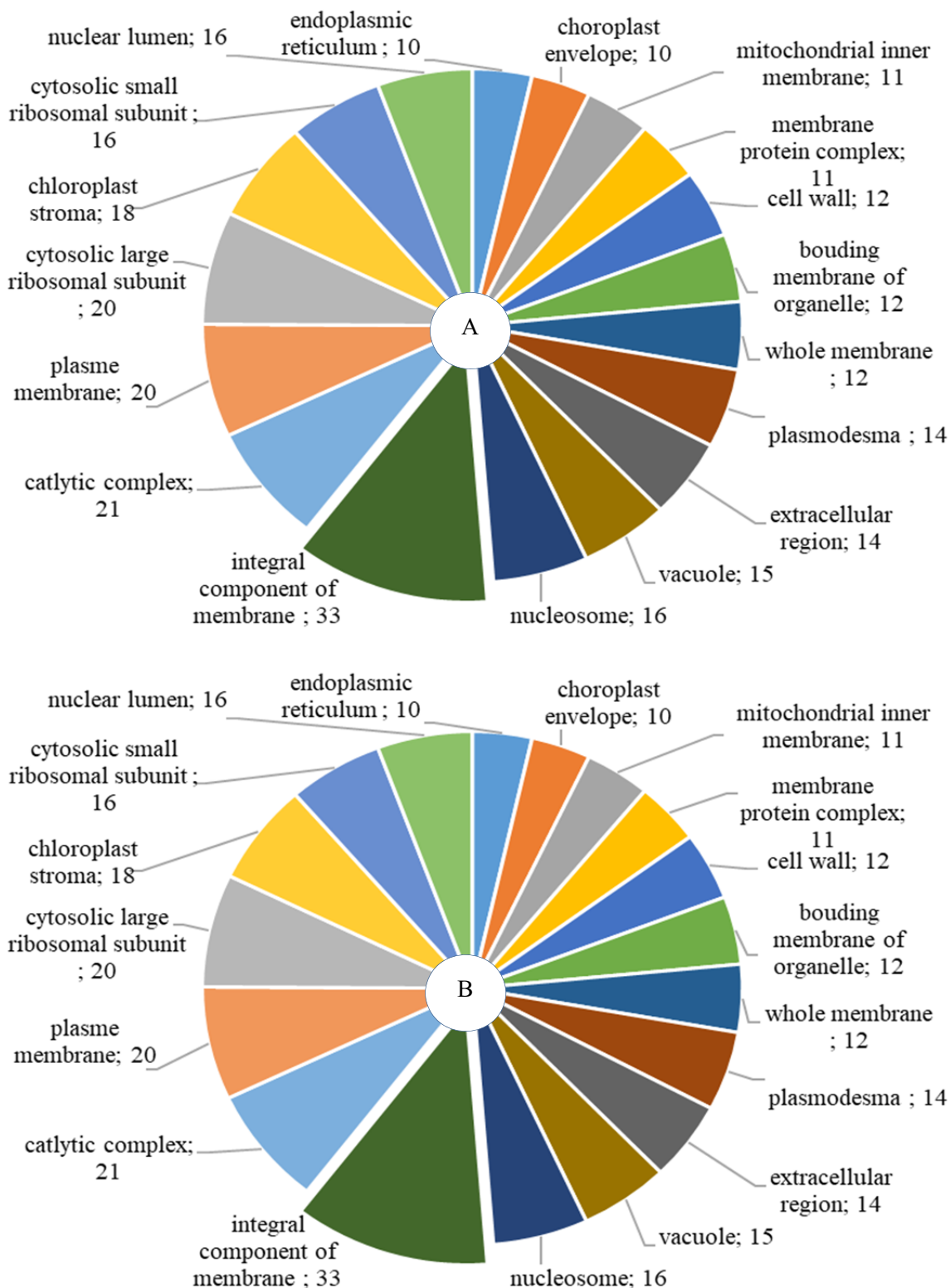
Regarding the expression, the proteins overexpressed for the three Gene Ontology were those involved in storage, carbohydrate metabolism and energy synthesis, processes associated with seed preparation for germination. These results agree with Morel *et al.* (2014) reported in *Pinus pinaster* seeds. It is considered, also, that proteins





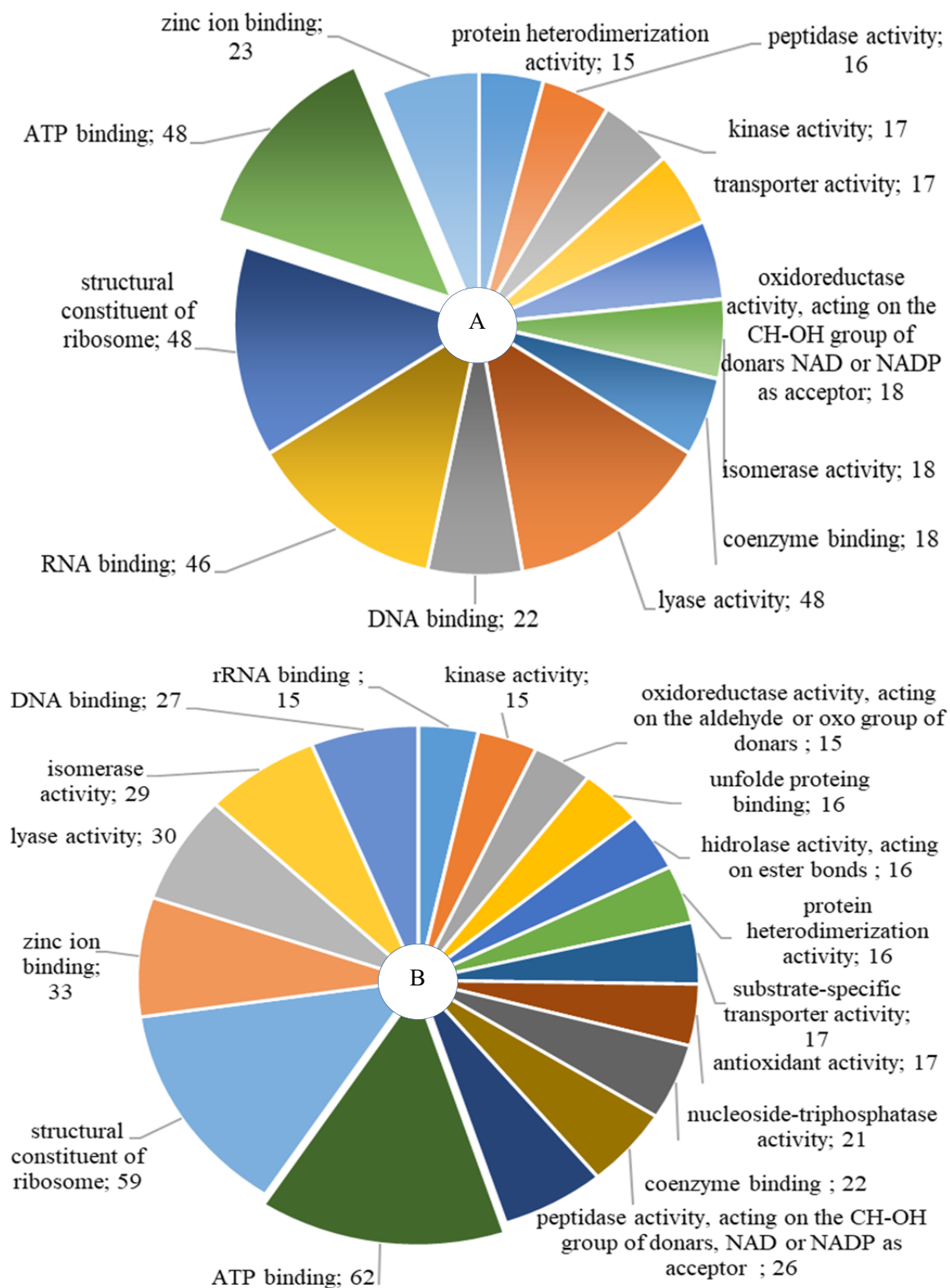
**Figure 1.** Graphic representation of the distribution of proteins by Biological Process (BP) Gene Ontology, present in the seeds of the two species studied: (A) *Pinus greggii*, (B) *Pinus patula*. Only those processes involving at least 50 proteins are represented. The numbers indicate the amount of proteins that participate in each of the processes represented.

Representación gráfica de la distribución de proteínas por Proceso Biológico (BP) GO, presente en las semillas de las dos especies estudiadas. (A) *Pinus greggii*, (B) *Pinus patula*. Solo están representados aquellos procesos que involucran al menos 50 proteínas. Los números indican la cantidad de proteínas que participan en cada uno de los procesos representados.



**Figure 2.** Graphic representation of the distribution of proteins taking into account their location in cellular components (CC) Gene Ontology, in the seeds of the two species studied: (A) *Pinus greggii*, (B) *Pinus patula*. Only those processes involving at least 10 proteins are represented. The numbers indicate the amount of proteins involved in each cell component.

Representación gráfica de la distribución de las proteínas según su ubicación en los componentes celulares (CC) GO, en las semillas de las dos especies estudiadas. (A) *Pinus greggii*, (B) *Pinus patula*. Solo están representados aquellos procesos que involucran al menos 10 proteínas. Los números indican la cantidad de proteínas involucradas en cada componente celular.



**Figure 3.** Graphic representation of the distribution of proteins by Molecular Function (FM) Gene Ontology, in the seeds of the two species studied: (A) *Pinus greggii*, (B) *Pinus patula*. Only functions with a minimum of 15 proteins are represented. The numbers indicate the amount of proteins involved in each of the molecular functions. Data for a significance threshold FDR < 0.05.

Representación gráfica de la distribución de proteínas por Función Molecular (FM) GO, en las semillas de las dos especies estudiadas. (A) *Pinus greggii*, (B) *Pinus patula*. Solo están representadas las funciones con un mínimo de 15 proteínas. Los números indican la cantidad de proteínas involucradas en cada una de las funciones moleculares. Datos para un umbral de significación FDR < 0,05.

**Table 1.** List of proteins involved in the metabolic pathway glycolysis/gluconeogenesis expressed in the seeds of *Pinus greggii* and *Pinus patula*.

Proteínas identificadas implicadas en la ruta metabólica de la glicólisis/gluconeogénesis expresadas en las semillas de *Pinus greggii* y *Pinus patula*.

Acc. Num. <sup>a</sup>	Description <sup>b</sup>	MW [kDa] calc <sup>c</sup>	pI <sup>d</sup>	Coverage (%)	# Unique Peptides	Commons	<i>Pinus greggii</i>	<i>Pinus patula</i>
1032	ATP-dependent 6-phosphofructokinase 2	52	7	5	1	-	X	-
10495	phosphoglycerate chloroplastic	53	9	4	1	X	-	-
10634	phosphoenolpyruvate carboxykinase [ATP]-like	73	7	4	2	-	-	X
1069	dihydrolipoyllysine-residue acetyltransferase component 2 of pyruvate dehydrogenase mitochondrial-like	62	9	3	1	-	X	-
11278	methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating] mitochondrial	60	7	2	1	-	-	X
126671	Enolase	48	6	29	7	X	-	-
126855	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase cytosolic	39	8	62	15	X	-	-
127205	Alcohol	51	8	15	1	-	-	-
12998	pyrophosphate--fructose 6-phosphate 1-phosphotransferase subunit alpha	67	7	3	1	-	-	X
13226	betaine aldehyde dehydrogenase chloroplastic	27	5	6	1	-	-	X
16504	pyruvate cytosolic isozyme	57	8	5	2	X	-	-
16934	fructose-bisphosphate cytoplasmic isozyme 1	42	9	24	5	X	-	-
17023	fructose-bisphosphate aldolase chloroplastic	49	8	5	2	X	-	-
17064	fructose-bisphosphate aldolase cytosolic	44	8	52	15	X	-	-
17080	pyruvate dehydrogenase E1 component subunit beta-mitochondrial	41	5	7	1	-	-	X
17339	Alcohol	50	8	22	2	-	-	X
18066	phosphoenolpyruvate carboxykinase [ATP]-like	49	9	4	1	-	-	X
18227	glucose-6-phosphate isomerase chloroplastic	71	6	12	5	X	-	-
18273	glucose-6-phosphate cytosolic	68	7	7	3	X	-	-
1839	Alcohol	41	6	11	1	-	-	X
20329	aldehyde dehydrogenase family 2 member mitochondrial	63	8	20	6	X	-	-
2037	glyceraldehyde-3-phosphate cytosolic-like	40	7	51	1	-	X	-
20710	cytosolic triosephosphate isomerase	27	5	30	7	-	X	-
208477	alcohol dehydrogenase class-3	51	8	23	5	-	-	X
21225	glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase cytosolic	40	7	36	1	-	X	-
22555	Enolase	48	6	45	1	-	X	-
2308	betaine aldehyde dehydrogenase mitochondrial	59	6	2	1	X	-	-
23105	phosphoglycerate kinase	52	7	20	1	-	X	-
2317	pyruvate dehydrogenase E1 component subunit alpha-mitochondrial	44	8	3	1	X	-	-
3137	Dihydrolipoyl dehydrogenase mitochondrial	54	8	16	6	X	-	-
3418	aldose reductase	39	7	44	16	X	-	-
37838	phosphoglycerate kinase	44	8	16	7	X	-	-
4123	dihydrolipoyl dehydrogenase chloroplastic	61	7	2	1	X	-	-
41574	NADP-dependent glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	54	7	7	2	X	-	-
44645	aldehyde dehydrogenase family 2 member mitochondrial-like	59	7	8	3	X	-	-
72	pyruvate decarboxylase 2	66	6	5	1	-	-	X
782	Alcohol	48	8	25	3	X	-	-
893	aldehyde dehydrogenase	47	8	17	4	X	-	-
9616	pyruvate decarboxylase 2	67	6	7	1	X	-	-

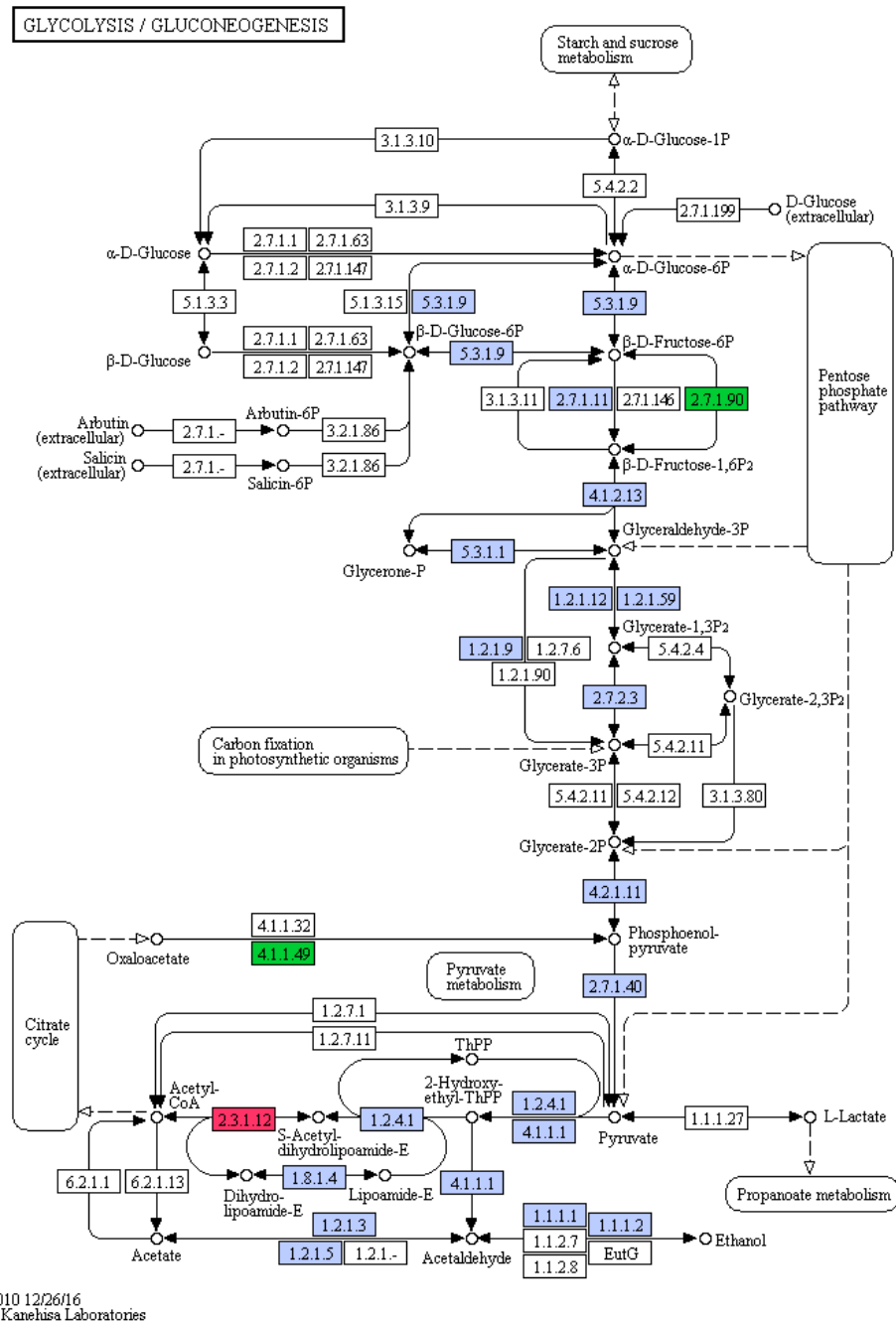
<sup>a</sup> *Pinus\_DB Pinus sustainipine v3*. <sup>b</sup> Blast Description Annotator. <sup>c</sup> Molecular weight (kDa) and isoelectric point of protein calculated for each database.

<sup>d</sup> Molecular weight (kDa) and isoelectric point of protein calculated by using molecular weight standards.

related to the reserve in seeds are necessary for the mobilization and preparation of the seed protein during germination (Wang *et al.* 2019).

The results of the differential expression analysis showed a high similarity between the proteins profiles of

the two pine species studied, agreeing with Dvorak *et al.* (2008) who found a very little genetic distance between *P. greggii* and *P. patula*. These authors found high levels of variability in the morphology of Mexican *Pinus* spp. accompanied with low levels of interspecific genetic diffe-



**Figure 4.** Graphical representation of the metabolic pathway glycolysis/gluconeogenesis KEGGs, in the seeds of the two species. The enzymes that participate in this route are represented with colors. Blue represents the enzymes common in the two species, red represents the enzymes identified only in *P. greggii* and green represents those identified only in the *P. patula* species.

Representación gráfica de la ruta metabólica de la glicólisis/gluconeogénesis KEGGs, en las semillas de las dos especies. Las enzimas que participan en esta ruta se representan con colores. El color azul representa las enzimas comunes en las dos especies, el color rojo representa las enzimas identificadas solo en *Pinus greggii* y el color verde representa las identificadas solo en *Pinus patula*.



rentiation, which may be the result of low rates of evolution among the species of this genus. Moreover, conifers are considered a monophyletic group that descends from the same common ancestor more than 300 million years ago, being their low genetic variability confirmed by several authors (De la Torre *et al.* 2019).

*Analysis of the glycolysis/gluconeogenesis pathway.* Authors like Chen *et al.* (2016) state that the glycolysis/gluconeogenesis route is one of the most important in seeds, representing an indispensable way to maintain the balance of cellular ATP levels and carbohydrate metabolism. This balance is very important in the seeds of higher plants, being starch the main storage carbohydrate (Duan *et al.* 2016). Glycolysis is a catabolic pathway in which glucose is broken down into two molecules of pyruvic acid under aerobic conditions, or lactate under anaerobic conditions. Complete oxidation of glucose can involve three fundamental biochemical pathways: i) the glycolytic pathway, ii) the Krebs cycle (also called citric acid cycle or tricarboxylic acid cycle) and iii) oxidative phosphorylation. Conversely, gluconeogenesis is the anabolic route which converts non-sugar precursors (lactate, pyruvate, propionate, glycerol and amino acids) into glucose. Therefore, the glycolysis/gluconeogenesis pathway is indispensable to maintain the balance of cellular levels of ATP and carbohydrate metabolism (Chen *et al.* 2016) and starch, which constitutes the main carbohydrate storage in seeds of higher plants (Duan *et al.* 2016). As storage reserves provide the energy necessary for germination, it was expected an overexpression of these proteins in seeds of quick germination (Rosental *et al.* 2014).

Specifically, in our work, 19 enzymes involved in this route were expressed in both species, and 3 were also expressed only in one of them. The acetyltransferase, only identified in *P. greggii*, is an enzyme which catalyzes the oxidative decarboxylation of pyruvate to produce acetyl-CoA. This enzyme is part of the multi-enzymatic pyruvate dehydrogenase (PDC) complex of the mitochondrial matrix in which the acetyl group is passed to coenzyme A, which constitutes a key compound between glycolysis and the Krebs cycle. Some works (Wang *et al.* 2019) that identify this enzyme correlated the expression of PDC with the accumulation of lipids in the seeds, which are relevant for the reorganization of the metabolism of seeds, energy and carbon for the growth of the embryo and the protrusion of radiation (Rosental *et al.* 2014).

Diphosphate-fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase, only identified in *P. patula*, catalyzes the reversible interconversion between fructose-6-phosphate and fructose-1,6-bisphosphate, which constitutes a limiting step in the regulation of the primary metabolic flow of carbohydrates towards glycolysis or gluconeogenesis. This enzymatic activity is similar to the activity of enzyme 6-phosphofructokinase, which is common to both species (Duan *et al.* 2016), suggesting the presence of both proteins in *P.*

*patula* and a higher ability to catalyze the flow of carbohydrates to glycolysis. On the other hand, the PEPCK protein, also identified only in *P. patula*, catalyzes the conversion of ATP and oxaloacetate into ADP, phosphoenolpyruvate and carbon dioxide, the first step of the gluconeogenesis route, converting the oxaloacetate into phosphoenolpyruvate. These results suggest that the *P. patula* species could initiate gluconeogenesis using both oxaloacetate and pyruvate as substrate, whereas the *P. greggii* species could hardly use pyruvate as a substrate, which is corroborated by Ahern and Rajagopa (2019) by proposing that in the gluconeogenesis process, it can start from several simple substrates, especially in plants.

The seeds of several *Pinus* spp. presented proteins associated with metabolic functions involved in germination processes (Rey *et al.* 2019). Thus, they are relatively rich in storage proteins synthesized during the last stage of seed development.

*Oxidoreductase enzymes overexpression.* Results indicate also an overexpression of oxidoreductase enzymes. This coincides with the results of the Gene Ontology biological processes above discussed, which place the redox processes as the most important in terms of the number of proteins involved, followed by the transferase class in *P. greggii* and the hydrolases in *P. patula*. According to the Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) for the general classification of enzymes, it is considered that hydrolases are a special class of transferases in which water serves as an acceptor of the transferred group. Likewise, the work of Behar *et al.* (2018) indicates the existence of flexibility in the specificity of the reactions that catalyze oxidoreductase enzymes.

## CONCLUSIONS

The study carried out permitted to characterize the protein profile of the seeds of *P. patula* and *P. greggii*, identifying the main proteins presents in both species. The study of the functional profiles according to terms of the Gene Ontology made the classification of the main biological categories (biological processes, cellular components and molecular function) possible, in which these proteins and their metabolic profiles are involved, comparing the results between both species. The results showed that there is no relevant genetic variability between seeds except for the glycolysis/gluconeogenesis pathway, being expressed in *P. patula* a specific protein which could provide more ability in the mobilization of seed carbohydrates. Neither do they show significant differences in the main functional processes in which these proteins and their metabolic associated profiles are involved. Gene Ontology database search did not show enrichment in any category (between species), since most of these categories had a similar representation in the two profiles analyzed, with the associated proteins predominating in the preparation of the seed during the

germination process. Therefore, both *P. patula* and *P. greggii* presented similar characteristics in the proteomic profile of seeds, being indistinguishable regarding their ability to plant establishment, except for the better ability of *P. patula* to mobilize carbohydrates, which could give this species a slight advantage in the germination process.

#### ACKNOWLEDGMENTS

This research was funded by Southern African Science Service Centre for Climate Change and Adaptive Land Management (SASSCAL) through the project “System management of soil fertility, integrating the rational use of fertilizers in agriculture and Bio fertilizers on the basis of rhizobia-Task 147” by the Research Project “Evaluation of the differential response of two *Pinus* species to different climatic and inoculation conditions using molecular techniques” carried out by the University of Córdoba (Spain). The authors are grateful for the technical support of Central Research Support Service (SCAI) of University of Córdoba. Specifically, to the heads of the Proteomics Unit, Consuelo Gómez, Carlos Fuentes and Raquel González, where the identification of proteins was carried out, and to the head of the Bioinformatics Unit, Francisco Amil, where the functional classification of proteins was carried out. Special thanks to the technical staff of the ERSAF research group, Roberto Cabrera Puerto, for their support in the laboratory work. Finally, authors want to thank the heads of the research project “Evaluation of the differential response of two *Pinus* species to different climatic and inoculation conditions using molecular techniques”, Dr. Rafael M<sup>a</sup> Navarro (Professor of University of Córdoba) and Dr. Virginia Lacerda (Vice-rector of José Eduardo dos Santos University) for their support in the design of the work.

#### REFERENCES

- Ahern K, I Rajagopal. 2019. Biochemistry and Biophysics Electronic Book. Oregon, United State. Libretex.
- Behar H, SW Graham, H Brumer. 2018. Comprehensive cross-genome survey and phylogeny of glycoside hydrolase family 16 members reveals the evolutionary origin of EG16 and XTH proteins in plant lineages. *Plant Journal* 95(6): 1114-1128. DOI: <https://doi.org/10.1111/tpj.14004>
- Casique R, R Mendoza, F Galindo, S González, S Sanchez. 2019. Improved parameters of *Pinus greggii* seedling growth and health after inoculation with ectomycorrhizal fungi. *Journal of Southern Forests* 81(1): 23-30. DOI: <https://doi.org/10.2989/20702620.2018.1474415>
- Chen X, K Schreiber, J Appel, A Makowka, B Fähnrich, M Roettger, MR Hajirezaei, FD Sönnichsen, P Schönheit, W Martin, K Gutekunst. 2016. The Entner-Doudoroff pathway is an overlooked glycolytic route in cyanobacteria and plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113(19): 5441-5446. DOI: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1521916113>
- Conesa A, S Götz. 2008. Blast2GO: A comprehensive suite for functional analysis in plant genomics. *International Journal Plant Genomics* 2008: 619832. DOI: <https://doi.org/10.1155/2008/619832>
- De la Torre AR., A Piot, B Liu, B Wilhite, M Weiss, I Porth. 2019. Functional and morphological evolution in gymnosperms: A portrait of implicated gene families. *Evolutionary Applications* 13(1): 210–227. DOI: <https://doi.org/10.1111/eva.12839>
- Duan E, Y Wang, L Liu, J Zhu, M Zhong, H Zhang, S Li, B Ding, X Zhang. 2016. Pyrophosphate: fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase (PF6) regulates carbon metabolism during grain filling in rice. *Plant Cell Reports* 35: 1321-1331. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00299-016-1964-4>
- Dvorak WS. 2008. ¿estamos más cerca de entender la ascendencia de las poblaciones de la “variante patula” en la sierra madre del sur, México? *Foresta Veracruzana* 10(1): 59–66. DOI: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=49711434008>
- Fernández N, J Canales, D Guerrero, DP Villalobos, SM Díaz, R Bautista, A Flores, MA Guevara, P Perdiguero, C Collada, MT Cervera, A Soto, R Ordás, FR Cantón, C Avila, FM Cánovas, MG Claros 2011. EuroPineDB: a high-coverage web database for maritime pine transcriptome. *BMC Genomics* 12: 366. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-366>
- Kovačević D, BM Nikolić, S Mladenović-Drinić, SR Bojović, T Dodos, N Rajčević, DP Marin. 2013. Genetic relationships among some *Pinus*, *Picea* and *Abies* species revealed by RAPD markers. *Genetika* 45(2): 493-502. DOI: <http://dx.doi.org/10.2298/GENSR1302493K>
- Loewe V, RM Navarro, R Sánchez, FJ Ruiz, J Jorrín. 2018. Variability studies of allochthonous stone pine (*Pinus pinea* L.) plantations in Chile through nut protein profiling. *Journal of Proteomics* 175: 95-104. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2018.01.005>
- Maldonado AM, S Echevarría, S Jean, M Hernández, JV Jorrín. 2008. Evaluation of three different protocols of protein extraction for *Arabidopsis thaliana* leaf proteome analysis by two-dimensional electrophoresis. *Journal of Proteomics* 71(4): 461-472. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2008.06.012>
- Morel A, JF Trontin, F Corbineau, A Lomenech, M Beaufour, I Raymond, C Le Metté, K Ader, L Harvengt. 2014. Cotyledonary somatic embryos of *Pinus pinaster* Ait. most closely resemble fresh, maturing cotyledonary zygotic embryos: biological, carbohydrate and proteomic analyses. *Planta* 240: 1075-1095. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2125-z>
- Muniz PH, G Guimarães, GH Peixoto, W Sousa, D de Souza, F Rodrigues, DD Carvalho. 2020. Scientometric Analysis of the major *Pinus* spp. Diseases. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 9(3): 2825-2830. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2125-z>
- Pullman GS, X Zeng, B Copeland, J Crockett, J Lucrezi, SW May, K Bucalo. 2015. Conifer somatic embryogenesis: improvements by supplementation of medium with oxidation-reduction agents. *Tree physiology* 35(2): 209–224. DOI: <https://doi.org/10.1093/treephys/tpu117>
- Rey MD, MA Castillejo, R Sánchez, VM Guerrero, C López, C Romero, J Valero, B Sghaier, L Simova, S Echevarría, I Jorge, I Gómez, ME Papa, K Carvalho, LE Rodríguez de Francisco, AM Maldonado, L Valledor, JV Jorrín. 2019. Proteomics, Holm Oak (*Quercus ilex* L.) and Other Recalcitrant and Orphan Forest Tree Species: How do They See

- Each Other? *International Journal of Molecular Sciences* 20(3): 692. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20030692>
- Rodríguez de Francisco L, MC Romero, RM Navarro, V Miniño, O Perdomo, JV Jorrín. 2016. Characterization of the orthodox *Pinus occidentalis* seed and pollen proteomes by using complementary gel-based and gel-free approaches. *Journal of Proteomics* 143(30): 382-389. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.03.041>
- Romero MC, J Pascual, L Valledor, JV Jorrín. 2014. Improving the quality of protein identification in non-model species. Characterization of *Quercus ilex* seed and *Pinus radiata* needle proteomes by using SEQUEST and custom databases. *Journal of proteomics* 105: 85-91. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.01.027>
- Rosental L, H Nonogaki, A Fait. 2014. Activation and regulation of primary metabolism during seed germination. *Seed Science Research* 24(1): 1-15. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0960258513000391>
- Singh L, P Dixit, RS Prakash, S Pandey, PV Chandra. 2019. Morpho-anatomical variation and their phylogenetic implications in native and exotic species of *Pinus* growing in the Indian. *BioRxiv* 754804. DOI: <https://doi.org/10.1101/754804>
- Taïbi K, D del Campo, A Vilagrosa, M Bellés, M López, D Pla. 2017. Drought Tolerance in *Pinus halepensis* seed sources as identified by distinctive physiological and molecular markers. *Frontiers in Plant Science* 8(1202): 1-13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01202>
- Wang W, R Vignani, M Scali, M Cresti. 2006. A universal and rapid protocol for protein extraction from recalcitrant plant tissues for proteomic analysis. *Electrophoresis* 27(13): 2782-2786. DOI: <https://doi.org/10.1002/elps.200500722>
- Wang X, Y Shi, R He, B Li, A Huang. 2019. Label-free quantitative proteomic analysis of the biological functions of *Moringa oleifera* seed proteins provides insights regarding the milk-clotting proteases. *International Journal of Biological Macromolecules* 1(144): 325-333. DOI: <https://10.1016/j.ijbiomac.2019.12.070>
- Woo C, R Gupta, K Agrawa, R Kumar, S Tae. 2019. Concepts and strategies of soybean seed proteomics using the shotgun proteomics approach. *Journal Expert Review of Proteomics* 16(9): 795-804. DOI: <https://doi.org/10.1080/14789450.2019.1654860>
- Zhang H, WQ Wang, SJ Liu, IM Møller, SQ Song. 2015. Proteome analysis of poplar seed vigor. *PloS one* 10(7): e0132509. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132509>

Recibido: 16/04/20  
Aceptado: 08/09/20

## Relationship between shoot and root of woody species of phenological functional groups of dry forest

Relación entre brote y raíz de especies leñosas de grupos funcionales fenológicos de bosque seco

Tatiane KB Azevêdo <sup>a</sup>, Anderson AA Carnaval <sup>a</sup>, Bruna RF Silva <sup>b\*</sup>, João GM UcellaFilho <sup>b</sup>, Everardo VSB Sampaio <sup>c</sup>, Alexandre S Pimenta<sup>a</sup>, Maria JN Rodal<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Agricultural Sciences Academic Unit, Natal, Brasil.

\*Corresponding author: <sup>b</sup>Universidade Federal de Lavras, Forest Sciences Department, Lavras, Brasil, tel.: 084 988089819, brunarafaellaf@hotmail.com

<sup>c</sup>Universidade Federal de Pernambuco, Nuclear Energy Department, Recife, Brasil.

<sup>d</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, Biological Sciences Department, Recife, Brasil.

### SUMMARY

Water availability in arid and semi-arid environments is the most limiting environmental factor for the development of plants, which use different mechanisms to capture the water from the soil. The objective of this work was to evaluate if there is differential allocation of resources between root and shoot of woody species of Brazilian dry forest and its relationship with the phenological functional groups of known adult woody: evergreen (EG), deciduous high density woody species (DHDW) and deciduous low density woody species (DLDW). The experiment was carried out in a greenhouse with a duration of six months, with plans submitted to two treatments: controlled irrigation (CI) and abundant irrigation (AI). Results showed that there was no interaction between phenological groups and applied treatments. However, the treatment with AI presented values of total biomass higher than those presented by CI. Fine root biomass was the only variable that did not differ between abundant irrigation and controlled irrigation. DLDW plants had higher root: shoot ratio compared to DHDW and EG. DLDW presented a differentiated strategy, being an indicative factor of these groups high thick root biomass, followed by low fine root biomass, with lower proportion of leaf biomass, and higher total biomass. These results show that CI reduces the development of seedlings in the groups and hence they invest in fine-root biomass. DLDW species presented higher investment in root biomass than in shoot, in addition to higher values of total biomass and specific leaf area.

*Key words:* water availability, Brazilian dry forest, phenological functional groups, aerial part, root of seedlings.

### RESUMEN

La disponibilidad de agua en ambientes áridos y semiáridos es el factor ambiental más limitante para el desarrollo de las plantas, las que utilizan diferentes mecanismos para captar agua del suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar si existe una asignación diferencial de recursos entre raíz y brote de especies leñosas del bosque seco brasileño y su relación con los grupos funcionales fenológicos de leñosas adultas conocidas: perennifolias (EG), especies leñosas caducas de alta densidad (DHDW) y especies leñosas caducifolias de baja densidad (DLDW). El experimento se realizó en invernadero durante seis meses, con dos tratamientos: riego controlado (IC) y riego abundante (IA). Los resultados mostraron que no hubo interacción entre los grupos fenológicos y los tratamientos aplicados. Sin embargo, IA presentó valores de biomasa total superiores a IC. La biomasa de raíces finas fue la única variable que no difirió entre IA e IC. Las plantas DLDW tuvieron una relación raíz: brote mayor en comparación con DHDW y EG. El DLDW presentó una estrategia diferenciada, siendo un factor indicativo de estos grupos la biomasa radical alta gruesa, seguida de la biomasa radical fina baja, con menor proporción de biomasa foliar, y mayor biomasa total. Los resultados muestran que CI reduce el desarrollo de plántulas en los grupos y luego invierten en biomasa de raíces finas. La especie DLDW presentó mayor inversión en biomasa radical que brote, además de mayores valores de biomasa total y área foliar específica.

*Palabras clave:* disponibilidad de agua, bosque seco brasileño, grupos funcionales fenológicos, parte aérea, raíz de plántula.

### INTRODUCTION

Nutrients and water present in soil are not uniformly distributed in space and time. Such heterogeneity in the

distribution of these resources can affect individual plants in terms of survival, growth and biotic interactions (Pugnaire *et al.* 2019) and, therefore, change population dynamics. It is well known that availability of water in arid



environments is the most limiting environmental factor and occurs according to rainfall events interspersed with different periods of drought, and this behavior is important for water supplying of plants. Vegetation not only responds to the amount of rainfall, but also to its variations in time (Reynolds *et al.* 2004). Therefore, relatively small changes in rainfall frequency may have strong effects on some species, especially on young individuals of annual plants (Sher *et al.* 2004).

Plants use some mechanisms to capture the water present in the soil. As an example, it is mentioned in literature that the investment in fine roots in plants subjected to severe water stress is one of these mechanisms, and can be interpreted as a strategy to maximize root absorption from the most superficial parts of the soil (Pereira Junior *et al.* 2016) The root is the specialized organ for the fixation of the plant in the soil and also for the absorption of water and mineral salts in solution, being able to still perform the functions of reserve of substances, among others. However, there is important lack of information regarding research on root evaluation, especially due to difficulties of collecting and processing this material (Jackson *et al.* 2007). Attempts to elaborate functional classifications of organisms have been defining the functional diversity of communities and as well as assessing the behavior of species in the ecosystems (Eviner and Chapin 2003). The approach is justified since plants tend to respond in different ways to environmental factors such as availability of resources and disturbances.

A list of characteristics that should be observed for the determination of functional groups is proposed by Weiher *et al.* (1999), as well as a standardized methodology for the collection of information. Cornelissen *et al.* (2003) cite that, when studying these groups, the interesting is a set of characteristics that are easily measured and are low cost for collection. Determination of functional groups must be based on characteristics related to the specific objectives of the research work (Weiher *et al.* 1999), and points related to plant phenology, physiology and structure are the most prominent in literature (Weiher *et al.* 1999). Structural characteristics such as wood density, stem water storage capacity, root system depth, water potential, leaf longevity, budding and flowering time, and leafless periods are particularly important for the determination of phenological functional groups (Singh and Kushwaha 2005). According to Reich *et al.* (2003), the use of functional groups can be useful to understand vegetation responses to environmental historical variability and predict vegetation responses to environmental changes without the need to know detailed information of each species, thus facilitating the comparison of the influence of global climate change on the world's diverse vegetation types.

Ecophysiological studies of woody plants of tropical forests with seasonal climate have received special attention, considering the importance of understanding the use of water by plants in these forests. In the case of the dry

forest from Northeastern Brazil, the existence of three phenological functional groups of adult woody species related to the use and conservation of water is well known: evergreen, deciduous high density wood and deciduous low density wood. As commented previously, it is expected that in such environment, plants will present root biomass larger than that from the aerial part, regardless of their strategy. Regarding the functional groups of dry forest, Perennial species are expected to have deep roots, while deciduous, more superficial roots. These are common strategies developed by species located in regions of low rainfall to ensure their survival in the most critical periods (Collins *et al.* 2015, Smith-Martin *et al.* 2020). Among deciduous species, it is expected that high wood density species will have a denser main root, thus serving as a way to avoid cavitation, and to support the plant, while low wood density ones have as main function to capture and store resources. In terms of the relation of fine roots (< 2 mm) to leaf area, a larger root area is expected in deciduous species, considering the need to promptly use the first rains that occur in dry forest, which is quite irregular (Pereira Junior *et al.* 2016, Werdenet *et al.* 2017).

The present work has as a general goal to verify if there is a differential allocation of resources between root and shoot of woody species from Brazilian dry forest and their relationship with functional phenological groups already known in that ecosystem. More specifically, this work aimed at characterizing the morphological structure of roots, determine root surface area, length and biomass, estimate the biomass of the aerial part of the plant and evaluate growth parameters as diameter and height.

## METHODS

In a research work carried out by Lima and Rodal (2010), the phenological groups here described were determined. Thus, having this information as basis, nine wood species were selected for the present experiment forming three functional groups, each group encompassing three woody species, as showed in table 1.

Seed collection of the three functional groups started in November 2010 in an area belonging to Tamandua Farm (coordinates 07° 00 'S and 37° 23' W), located in the municipality of Santa Terezinha (PB), about 18 km from the city of Patos-PB, in a Private Natural Heritage Reserve, RPPN. The area of the reserve is 325 hectares and for about the last thirty-five years it has not suffered any anthropic action. After seeds were collected, they were stored in properly sealed and identified plastic containers in a cold room. Some of the seeds underwent a process of improvement to increase their germination power. Seeds of *Amburana cearensis*, *Aspidosperma pyrifolium* and *Combretum leprosum* had their wings removed. Seeds of *Bauhinia cheilantha* and *Erythrina velutina* underwent mechanical scarification with n° 100 sandpaper, where part of the tegument was removed for better water absorption.



**Table 1.** Phenological functional groups from Brazilian dry forest and their respective woody species.  
 Grupos funcionales fenológicos del bosque ecobrasileño y sus respectivas especies leñosas.

Functional groups	Scientific name
DHDW, deciduous high-density wood species	<i>Combretum leprosum</i> Mart.
	<i>Bauhinia cheilantha</i> (Bong.) Steud.
	<i>Aspidosperma pyrifolium</i> Mart.
DLDW, deciduous low-density wood species	<i>Erythrina velutina</i> Willd.
	<i>Amburana cearensis</i> (Allemão.) A. C. Sm.
	<i>Pseudobombax marginatum</i> (A. St.-Hil., A. Juss. et Cambess.) A. Robyns
EG, evergreen	<i>Cynophalla flexuosa</i> (L.) J. Presl
	<i>Licania rigida</i> Benth.
	<i>Ziziphus joazeiro</i> Mart.

For the *Ziziphus joazeiro*, the outer layer was removed by using a hammer taking the proper care to not damage the inner parts of the seeds. Seeds of *Licania rigida* had part of fruit removed to prevent delay in germination. After these procedures, the seeds were separated by species and put to germinate in plastic bags.

To simulate the environmental characteristics of the Brazilian dry forest biome in a greenhouse, the municipality chosen to represent it was Serra Talhada - PE. The soil used in the experiment was collected at the Experimental Station Lauro Bezerra (7°59'00"S, 38°19'16"W), belonging to the Agronomic Institute of Pernambuco (IPA). The soil for the experiment was collected in December 2011. The soil was conditioned in 60 kg bags and taken to the experiment area located at Paudalho - PE.

The experiment was carried out according an entirely randomized design, in factorial scheme 3 x 2 (phenological groups x type of irrigation), with five replicates for each treatment, encompassing 90 experimental plots. The experiment was conducted in a greenhouse during a six-month period (February to July/2012). After emergence of the first leaves, which ranged from two to six days for all species, seedlings were transplanted to 60 kg bags. After transplantation, daily irrigation was performed for a period of 15 consecutive days to adapt the seedlings, minimizing the risk of mortality.

The species were submitted to two types of treatments, one with abundant irrigation (AI) and the other with controlled irrigation (CI), based on pulses and interpulse. The first treatment was watered daily, three times throughout the day (8 a.m., 12 a.m. and 5 p.m.), until reaching field capacity, noting if there was a need for more watering per day, it depended on the relative humidity of the air. In the second treatment, there was a simulation based on pulses (consecutive periods of rain  $\geq 10$  mm) and interpulse (dry interval or precipitation events  $< 10$  mm), based on the historic rainfall data of the local of the experiment. To ob-

tain these volumes, data were collected from the National Institute of Space Research (INPE) for information on the daily precipitation volume of the last 10 years, excluding years considered as atypical. Daily average was next estimated and the volume of water was calculated for the bag area. In this analysis, the years with a lot of rain were excluded because they were atypical, and based on the average distribution of normal years, the periods of pulses and interpulse were established as described above. After six months, each plant was completely removed from the substrate to take the following measurements: root morphological structure, root biomass (thin and coarse), stem and leaf, root system depth, specific leaf area, fine root surface area, root length.

Roots were stored, still moist, in plastic bags and placed in a refrigerator at  $5 \pm 2$  °C, for up to one week. They were, afterwards, placed in a fine mesh sieve (0.2 mm) and washed in running water until cleared from the soil, which was removed as much as possible using a soft brush or fine tweezer from the root surface and between root hairs, and later were weighed. The depth of the root system was determined as the vertical root length from the soil surface to where roots penetrate the soil.

For the morphological description of the root, the organization of the primary, secondary and tertiary structure and the presence of tubers were considered. Plants were collected and separated in leaves, stems, biomass of fine roots ( $< 2$  mm) and of thick roots ( $> 2$  mm). Aerial and underground parts were oven dried at 65 °C under forced ventilation until reaching constant weight, and subsequently, dry biomass was determined. Root length was estimated by the grid intersection method. For this, roots were randomly arranged in a transparent tray to count the number of intersections, these being represented by the crossing points between a root and the lines that form the meshes (1.0 cm x 1.0 cm). The value was applied in the formula [1]:

$$R = N \times S \times 11/14 \quad [1]$$

Where: R = root length (cm); N = number of intersections; S = side of the grid.

Fine roots (< 2 mm length) were considered to determine the root area. Based on root diameter and root length the root surface area was calculated by the formula [2]:

$$RA = 2\pi r \times RL \quad [2]$$

Where: RA = root area (cm<sup>2</sup>); r = radius (cm); RL = root length (cm).

The specific leaf area (SLA), which is the ratio of its area to the leaf dry weight, was analyzed in ten mature leaves in five individuals per species. The dry mass of leaves was determined after they were dried in an oven at 60 °C. The leaf area was estimated using the LAFORE program (Lehsen 2002), after leaves were scanned and image acquired. This analysis means the availability of leaf area in each leaf grass (leaf thickness indicator) as showed in the formula [3].

$$SLA = L_a / L_w \quad [3]$$

Where: SLA = specific leaf area (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>); L<sub>a</sub> = leaf area (cm<sup>2</sup>); L<sub>w</sub> = leaf weight (g).

*Experimental data analysis.* Initially, the collected data were processed in an electronic spreadsheet, describing in the first columns the independent variables (irrigation, functional groups and species) followed by the dependent variables (wet biomass weight and dry biomass weight, root depth, specific leaf area, root length and root area), and in the lines their respective repetitions, thus forming a database with the variables to be analyzed. Afterwards, a Normality Test was performed to observe if the variables had a normal distribution and thus to carry out the analysis of variance and, in the significant variables, to carry out the tests between averages. Once the normality of the variables was confirmed, the PROC ANOVA of SAS (Statistical

Analysis System) was performed or, when a lost plot was detected, the PROC GLM (general linear model procedure) of SAS was used. As the effect of the main factors was independent, i.e., there was no interaction effect, a mean test was applied to the main factors using the program. After the analysis of variance of the experiment, it was verified that there was no interaction between independent factors (phenological groups and type of irrigation). For this reason, factors were analyzed separately.

## RESULTS

In the experiment, two species were lost in the evergreen (EG) group when submitted to controlled irrigation (CI) treatment, respectively, *Licania rigida* and *Cynophalla flexuosa*, remaining only *Ziziphus joazeiro*. This high mortality when controlled irrigation was applied shows the sensitivity of these species to water deficiency. This fact was confirmed since there was no mortality of these species in the treatment with abundant irrigation (AI).

The values of leaf biomass (LB), stem biomass (SB), coarse root biomass (CRB), coarse root length (CRL), fine root length (FRL) and total biomass (TB) were significantly lower in the treatment with controlled irrigation, as showed in table 2. This indicates that the species, regardless of the groups, present the same pattern of response for the variables mentioned above.

It is important to note in table 2 that although total biomass of treatment of abundant irrigation is higher than in treatment of controlled irrigation, the proportion of root biomass overshoot is maintained independent of treatment. In this way, trade-off is maintained with or without water for the evaluated species. The fine root biomass was the only variable that did not differ between irrigation types (table 2). However, when the relationship between fine root biomass and total biomass was analyzed by treatment, it was observed that there is a higher proportion of fine root biomass in the treatment of controlled irrigation (8.43 %) than in the treatment IA (2.32 %).

Figure 1 shows the comparison for shoot height and diameter values in the evergreen species, deciduous high-density wood and deciduous low wood density species for

**Table 2.** Means statistical comparison, including all species by irrigation type, for leaf biomass (LB), stem biomass (STB), coarse root biomass (CRB), coarse root length (CRL), fine root biomass (FRB), fine root length (FRL), total root biomass (TRB), shoot biomass (SB) and total biomass (TB) as a function of controlled irrigation (CI) and abundant irrigation (AI) treatments.

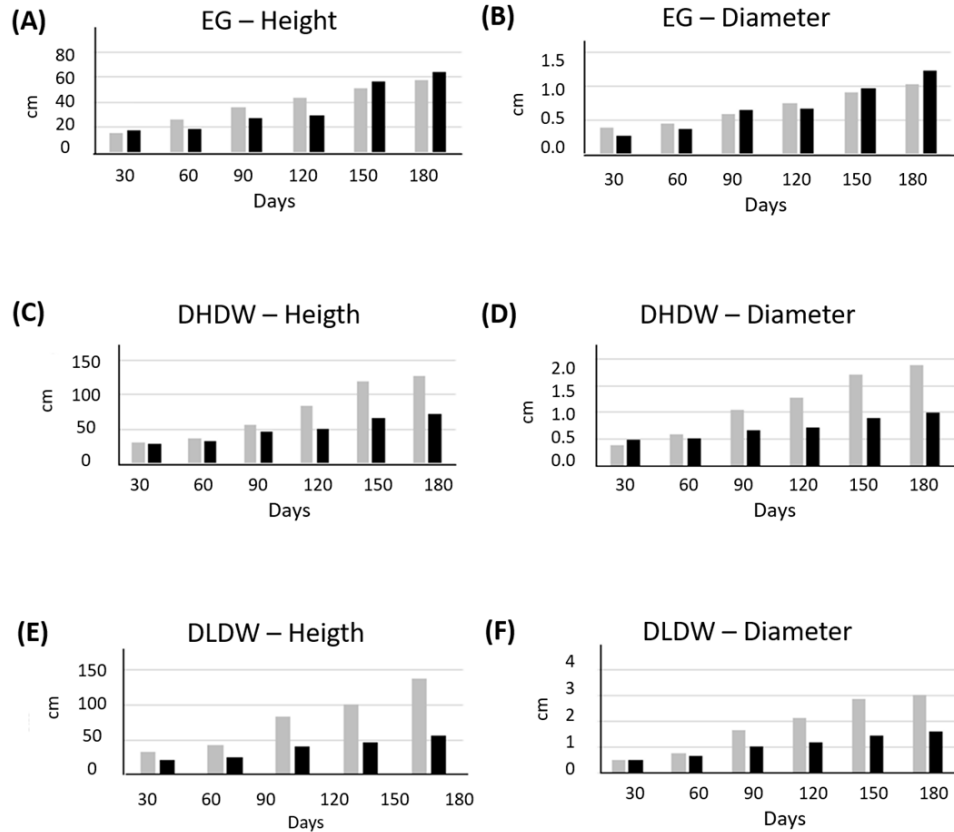
Comparación estadística de medias, incluidas todas las especies por tipo de riego, para biomasa de hoja (LB), biomasa de tallo (SB), biomasa de raíz gruesa (CRB), longitud de raíz gruesa (CRL), biomasa de raíz fina (FRB), longitud de raíz fina (FRL), la biomasa radical total (TRB), la biomasa de brotes (SB) y la biomasa total (TB) en función de los tratamientos de riego controlado (CI) y el riego abundante (AI).

Treat	LB	STB	CRB	CRL	FRB	FRL	TRB	SB	TB
CI	16.5 b	26.2 b	30.0 b	0.62 b	6.5 a	2.9 b	36.5 b	42.7 b	79.2 b
AI	44.4 a	131.6 a	139.2 a	0.92 a	7.5 a	5.2 a	146.7 a	175.1 a	321.8 a

Means followed by same letters in columns are statistically equal by Tukey test at 5 % of significance.

30, 60, 90, 120, 150 and 180 days of experiment. The development of plants was increasing in all groups, both in height and in diameter of the seedling for both treatments (controlled irrigation and AI). Group of evergreen species (figure 1 – A and B) presented approximate values for the treatments, unlike deciduous high density wood species (figure 1 – C and D) and deciduous low wood density group (figure 1 – E and F) that had a larger development when submitted to treatment of abundant irrigation.

In table 3, relationship between root biomass and shoot biomass analyzed for the phenological groups is shown. The highest root x shoot ratio was found in deciduous low wood density species (1.07), which almost doubled the other group, deciduous high-density wood species (0.53) and evergreen species (0.48). It is interesting to note that the behavior pattern of plants was not modified by controlled irrigation or AI, meaning that each group had a characteristic of its proportion (leaf, stem, root), which were



**Figure 1.** Shoot height and diameter for evergreen species (EG), deciduous high wood density (DHDW) and deciduous low wood density (DLDW) groups species CI (black bar) and AI (grey bar) treatments.

Altura y diámetro para EG, DHDW y DLDW bajo los tratamientos AI (barra gris) y CI (barra negra).

**Table 3.** Mean data for coarse root biomass (CRB), fine root biomass (FRB), total root biomass (TRB), leaves biomass (LB), stem biomass (STB), shoot biomass (SB), total biomass (TB) and specific leaf area (SLA) for phenological groups deciduous high density wood species (DHDW), deciduous low density wood species (DLDW) and evergreen species (EG).

Datos medios de biomasa de raíces gruesas (CRB), biomasa de raíces finas (FRB), biomasa total de raíces (TRB), biomasa de hojas (LB), biomasa de tallos (STB), biomasa de brotes (SB), biomasa total (TB) y área específica de hojas (SLA) para los grupos fenológicos DHDW, DLDW y EG.

Groups	CRB	FRB	TRB	LB	STB	SB	TB	SLA
DHDW	36.11 b	7.79 a	43.90 b	30.20 a	51.81 a	82.01 a	125.93 b	2.60 b
DLDW	198.79 a	5.77 b	204.56 a	33.77 a	157.52 a	191.29 a	393.75 a	8.66 a
EG	18.94 b	7.32 a	26.26 b	27.38 a	27.39 a	54.77 a	77.794 b	4.91 b

Means followed by same letters in columns are statistically equal by Tukey test at 5 % of significance.

similar for both treatments. Groups deciduous high-density wood species and evergreen species presented statistically superior FRB values when compared to deciduous low wood density species as showed in table 3. For leaf biomass, it was observed that the values did not differ among groups. However, the deciduous low wood density group had only 8.57 % of BF related to TB, a much lower value when compared to the other groups, respectively, deciduous high-density wood species (23.98 %) and evergreen species (35.19 %).

Regarding shoot biomass (SB), although there was no significant difference among groups, it is interesting to note that the deciduous low wood density group presented a value three to four times higher than those from the other groups. When coarse root biomass (CRB) was evaluated, there was a significant difference, where evergreen species and deciduous high-density wood species differed from the deciduous low wood density group, which presented a higher value. This latter group had a higher percentage of coarse root biomass than the percentage of stem biomass (39 %), which was different from the other groups that presented coarse root biomass (28.67 and 23.37 %) lower than stem biomass (41.14 and 33.80 %), when compared to deciduous high-density wood species and evergreen species, respectively. For the deciduous low wood density species group, specific leaf area (SLA) differed statistically from the other groups, presenting a higher value as showed in table 3.

## DISCUSSION

According to literature (Larcher 2004), water is a fundamental resource for various metabolic processes (photosynthesis, growth, etc.). Thus, several authors have reported that the deficiency of this resource results, in a first moment, in the partial or total closure of stomata, reduction in CO<sub>2</sub> fixation and, consequently, plant growth (Zanine and Santos 2004). Confirming the previous assertion, studies of tree seedlings underscored the decrease of the biomass of the seedling with water restriction (Nascimento *et al.* 2011).

The higher investment in fine roots in the control irrigation (CI) treatment might be highly important for the survival of plants. As available in literature and commented previously, the investment in fine roots of plants subjected to severe water stress is a mechanism to capture water available in the soil, and can be interpreted as a strategy to maximize the root absorption of the most superficial parts of the soil (Pereira Junior *et al.* 2016).

Under severe drought or in environments with low resource availability, plants usually are limited in growth and photosynthetic capacity. Pizarro and Bisigato (2010), testing different water regimes in young plants, also observed that there was a reduction of total biomass with significant differences when submitted to water deficit. In the same study, regarding biomass partition, the authors concluded

that water stress exerts a significant effect on the accumulation of biomass and dry matter partition in most species of the study, being the higher values of biomass for root and with reduction of leaf biomass. They also reported that the stem was not significantly affected when submitted to water stress. The fact that the artificially imposed drought reduces the total biomass of the plant in four of the six species studied by them is a result that shows a negative effect of water stress on plant species of Patagonia, as found in the present work. Furthermore, in an experiment performed by Brenes-Arguida *et al.* (2013), higher survival during dry season was observed, which corresponded to lower plants growth. This result is similar to that found for the group evergreen (EG), where higher mortality occurred in the control irrigation (CI) treatment at 180 days, which presented similar or even higher growth than that presented by the abundant irrigation (AI) treatment (figure 1 – A and B).

The fact that deciduous high density wood and evergreen groups had higher fine-root biomass than that presented by deciduous low wood density species can be explained by the fact that they keep their leaves for a longer period of time than does deciduous low wood density group, as pointed out by Reich; Borchert (1984), thus producing more photo-assimilates for the maintenance and growth of fine root biomass.

In the case of the deciduous low wood density group, whose strategy is the rapid loss of leaves to maintain water inside the stem and root, the non-development of fine roots may be related to the maintenance of the water column, avoiding a negative pressure within plants (Taiz and Zeiger 2010). This behavior, known as resistance to cavitation, is one of the main mechanisms presented by woody plants from environments subjected to water stress, since the strong negative pressure to remove water from the soil can rupture vessels and cause embolism (Sobrado 1993). Additionally, low-density wood plants tend to store water in their tissues (stem and root), according Reich *et al.* (2003). Such condition prevents large variations in water potential, as occurs in high-density wood plants, because their cell walls would not withstand strong negative pressures. These plants with low wood density present wide and narrow-walled vessels of xylem conducting cells (Reich *et al.* 2003).

Some authors, such as Jackson *et al.* (2007), state that one of the strategies observed in plants as a response to seasonality is the storage of water, nutrients and organic compounds in the root, even higher than in the stem as found in the group of deciduous low wood density. However, it is important to highlight that the deciduous low wood density group has a minority representation in the number of species and individuals in the Brazilian dry forest, where deciduous high-density wood predominates as shown by the works of Lima and Rodal (2010) and Oliveira (2013). The deciduous low wood density group shows a different strategy from the other groups regarding the morphofunctio-



nal characteristics of roots, and investment in biomass of coarse (tuberous) roots, with capacity to store resources, what may be an indicative factor of this functional group. Regarding this issue, Pregitzer (2003) commented that a large amount of these reserves is used during the period of dormancy of the plant for root respiration and to initiate the phase of growth, production of shoots and roots, just before or shortly after the beginning of the rainy season.

Some authors report that, unlike deciduous low wood density species, species with a high wood density, such as deciduous high-density wood and evergreen groups, tend to have lower specific leaf area, lower photosynthetic rate and to conserve the nutrient in leaves (Ishida *et al.* 2008). Generally, they present scleromorphic and longer lasting leaves (Wright *et al.* 2002), and in addition, they are more resistant to herbivorous attack and other physical damage (Reich *et al.* 1997).

## CONCLUSIONS

Water stress reduces the development of plants, thus when submitted to the water stress treatment, plants from Brazilian dry forest invest their resources in fine root biomass. When considering different phenological functional groups, deciduous low wood density group (DLDW) uses a strategy different from that used by deciduous high-density wood (DHDW) and evergreen groups (EG), presenting a higher investment in root biomass (RB) rather than in shoot biomass (SB), besides larger values of total biomass (TB) and specific leaf area (SLA). Phenological functional groups presented different behaviors regarding leaf biomass x root biomass; evergreen groups showed higher leaf biomass, different from the deciduous groups that presented highest portion of root biomass. These results are important for a better understanding of plant behavior in different environmental situations, especially in the Caatinga biome, a dry forest, possessing few studies with the region endemic species. In addition, it serves as a subsidy for studies and practices of forest restoration.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by Federal Rural University of Pernambuco (UFRPE), the Postgraduate Program in Forest Sciences (PPGCF) and Foundation for the Support of Science and Technology of the State of Pernambuco (Process n° IBPG-0672- 5.02 / 09).

## REFERENCES

- Brenes-Arguida T, AB Roddy, TA Kursar. 2013. Plants traits in relation to the performance and distribution of woody species in wet and dry tropical forest types in Panama. *Functional Ecology* 27(2):392-40. DOI: <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12036>
- Collins CG, SJ Wright, N Wurzbarger. 2015. Root and leaf traits reflect distinct resource acquisition strategies in tropical lianas and trees. *Oecologia* 180(4): 1037-1047. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-015-3410-7>
- Eviner VT, FS Chapin. 2003. Functional matrix: a conceptual framework for predicting multiple plant effects on ecosystem processes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34(1):455-485 DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.34.011802.132342>
- Ishida A, T Nakano, K Yazaki, S Matsuki, N Koike, DL Lauenstein, M Shimizu, N Yamashita. 2008. Coordination between leaf and stem traits related to leaf carbon gain and hydraulics across 32 drought-tolerant angiosperms. *Oecologia* 156(1):193-202. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-008-0965-6>
- Jackson RB, WT Pockman, WA Hoffmann, TM Bleby, C Armas. 2007. Structure and function of root systems. In Pugnaire FI, F Valladares eds. *Functional Plant Ecology*. Boca Raton, Florida, USA. CRC Press. p. 151-173.
- Larcher W. 2004. *Ecofisiologia vegetal*. São Carlos, Brasil. Rima. 531 p.
- Lehsen V. 2002. Lafore – Leaf area for everyone. Consulted 08 ago. 2020. Availavle in <https://uol.de/en/landeco/download-and-service/software/lafore>
- Lima ALA, MJN Rodal. 2010. Phenology and wood density of plants growing in the semi-arid region of northeastern Brazil. *Journal of Arid Environments* 74(11): 1363- 1373. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2010.05.009>
- Nascimento FJ, AM Karlson, J Näslund, R Elmgren. 2011. Diversity of larger consumers enhances interference competition effects on smaller competitors. *Oecologia* 166(2):337-347. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-010-1865-0>
- Oliveira CC. 2013. Influência dos caracteres funcionais na fenodinâmica de espécies lenhosas sob clima tropical sazonal. Doctoral thesis. Fortaleza Brazil. Graduate Program in Ecology and Natural Resources, Federal University of Ceará. 83 p.
- Pereira Júnior LR, EA Andrade, HAQ Palácio, PCL Raymer, JC Ribeiro Filho, FJC Pereira. 2016. Carbon stocks in a tropical dry forest in Brazil. *Revista Ciência Agronômica* 47 (1): 32-40. DOI: <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160004>
- Pizarro LC, AJ Bisigato. 2010. Allocation of biomass and photoassimilates in juvenile plants of six Patagonian species in response to five water supply regimes. *Annals of Botany* 106(2): 297-307. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcq109>
- Pugnaire FI, AJ Morillo, J Peñuelas, PB Reich, RD Bardgett, A Gaxiola, DA Wardle, WH Putten. 2019. Van Der. Climate change effects on plant-soil feedbacks and consequences for biodiversity and functioning of terrestrial ecosystems. *Science Advances* 5(11):1-11. DOI: [1126/sciadv.aaz1834](https://doi.org/10.1126/sciadv.aaz1834)
- Pregitzer KS. 2003. Woody plants, carbon allocation and fine roots. *New Phytologist* 158(3):421-424. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2003.00766.x>
- Reich PB, IJ Wright, J Cavender-Bares, JM Craine, J Oleksyn, M Westoby, MB Walters. 2003. The evolution of plant functional variation: traits, spectra, and strategies. *International Journal of Plant Sciences* 164(53): 143-164. DOI: <https://doi.org/10.1086/374368>
- Reynolds JF, PR Kemp, K Ogle, RJ Fernández. 2004. Modifying the ‘pulse-reserve’ paradigm for deserts of North America: precipitation pulses, soil water, and plant responses. *Oecologia* 141(2):194-210. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-004-1524-4>



- Sher AA, DE Goldberg, A Novoplansky. 2004. The effect of mean and variance in resource supply on survival of annuals from Mediterranean and desert environments. *Oecologia* 141(2):353–362. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00442-003-1435-9>
- Singh KP, CP Kushwaha. 2005. Emerging paradigms of tree phenology in dry tropics. *Current Science* 89(6):964-975.
- Smith-Martin CM, X Xu, D Medvigy, SA Schnitzer, JS Powers. 2020. Allometric scaling laws linking biomass and rooting depth vary across ontogeny and functional groups in tropical dry forest lianas and trees. *New Phytologist* 226 (3): 714-726. DOI: [10.1111/nph.16275](https://doi.org/10.1111/nph.16275).
- Sobrado MA. 1993. Trade-off between water transport efficiency and leaf life-span in a tropical dry forest. *Oecologia* 96(1):19-23. DOI: [10.1007/BF00318025](https://doi.org/10.1007/BF00318025).
- Taiz L, E Zeiger. 2010. Plant physiology. Fifth ed. Sunderland, USA. Sinauer Associates. 782 p.
- Weiher E, A Van Der Werf, K Thompson, M Roderick, E Garnier, O Eriksson. 1999. Challenging Theophrastus: A Common Core List of Plant Traits for Functional Ecology. *Journal of Vegetation Science* 10(5): 609-620. DOI: [10.2307/3237076](https://doi.org/10.2307/3237076).
- Wright IJ, M Westoby. 1999. Differences in seedling growth behavior among species: trait correlations across species, and trait shifts along nutrient compared to rainfall gradients. *Journal of Ecology* 87(1):85–97. DOI: [10.1046/j.1365-2745.1999.00330.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.1999.00330.x).
- Wright I, M Westoby, PB Reich. 2002. Convergence towards higher leaf mass per area in dry and nutrient-poor habitats has different consequences for leaf life span. *Journal of Ecology* 90(3):534-543. DOI: [10.1046/j.1365-2745.2002.00689.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2002.00689.x).
- Werden LK, BG Waring, CM Smith-Martin, JF Powers. 2017. Tropical dry forest trees and lianas differ in leaf economic spectrum traits but have overlapping water-use strategies. *Tree Physiology* 38 (4): 517-530. DOI: [10.1093/treephys/tpx135](https://doi.org/10.1093/treephys/tpx135).
- Zanine AM, EM Santos. 2004. Competição entre espécies de plantas – umarevisão. *Revista FZVA* 11(1): 10-30.

Recibido: 17/04/20  
Aceptado: 08/09/20

## Reduction of sampling intensity in forest inventories to estimate the total height of eucalyptus trees

Reducción de la intensidad de muestreo en inventarios forestales  
para estimar la altura total de eucaliptos

**Daniel Dantas <sup>a\*</sup>, Luiz Otávio Rodrigues Pinto <sup>a</sup>, Marcela de Castro Nunes Santos Terra <sup>a</sup>,  
Natalino Calegario <sup>a</sup>, Marcio Leles Romarco de Oliveira <sup>b</sup>**

\*Corresponding autor: <sup>a</sup>Federal University of Lavras, Department of Forest Sciences,  
Lavras, Minas Gerais, Brazil, tel.: 5538991237493, dantasdaniel12@yahoo.com.br

<sup>b</sup>Federal University of the Jequitinhonha and Mucuri Valleys, Department of Forest Engineering,  
Diamantina, Minas Gerais, Brazil.

### SUMMARY

This study aimed at evaluating the performance of different models based on Artificial neural networks (ANN) to estimate the total height of eucalyptus trees (*Eucalyptus* spp.), reducing the number of measurements in the field. Forty-eight ANN were tested, different from each other by the number of trees used as training sample, number of trees used to calculate the dominant height and use of variables (a) categorical, (b) categorical and continuous and (c) continuous, except for the diameter at 1.30 meters above the ground (DBH), used in all combinations. Estimates of height obtained by ANN were compared with values observed and estimates obtained by a hypsometric model. The ANN that showed the best results were used for the height estimation in forest inventory data for further application in the Schumacher and Hall volumetric model. The proposed models were efficient to estimate the total height of eucalyptus trees and allowed the expressive reduction of the number of trees to be measured in forest inventory. The best model found is composed of five trees as training sample, one as test sample and one as validation sample; dominant height coming from the height of the tallest tree in the plot; categorical variable Clone and continuous variables DBH, DBH dominant and basal area of the plot.

*Key words:* artificial neural network, machine learning, stem volume, Schumacher and Hall.

### RESUMEN

El objetivo fue evaluar el desempeño de diferentes modelos basados en Redes Neuronales Artificiales (RNA) en la estimación de la altura total de los eucaliptos, reduciendo el número de mediciones en el campo. Se analizaron 48 RNA, diferentes entre sí por el número de árboles utilizados como muestra de entrenamiento; número de árboles utilizados para calcular la altura dominante; y el uso de (a) variables categóricas, (b) categóricas y continuas y (c) continuas, con la excepción del diámetro a 1,30 m del suelo (DAP), utilizadas en todas las combinaciones. Las estimaciones de altura obtenidas por RNA han sido comparadas con los valores observados y con las estimaciones obtenidas por un modelo hipsométrico. Las RNA que presentaron los mejores rendimientos se utilizaron para estimar la altura en los datos del inventario forestal, para el cálculo posterior del volumen de cada árbol. Los modelos propuestos demostraron ser eficientes para estimar la altura total de los eucaliptos y permitieron la reducción expresiva de la cantidad de árboles que se medirán en el inventario forestal. El mejor modelo encontrado se compone de cinco árboles como muestra de entrenamiento, uno como muestra de prueba y uno como muestra de validación; altura dominante desde la altura del árbol más alto en la parcela; variable categórica clon; y variables continuas DAP, DAP dominante y área basal de la parcela.

*Palabras clave:* redes neuronales artificiales, altura dominante, Schumacher y Hall.

### INTRODUCTION

In forest surveys, some dendrometric variables are measured in the field, highlighting the diameter measured at 1.30 m above the ground (DBH) and total height. DBH is considered as the main variable, since it is a direct measure and easy to obtain. Total height is another variable of great importance, where its measurement is taken in-

directly and presents itself as a difficulty in the surveys due to factors such as the difficulty in visualizing the top of trees, time required to complete measurements, among others. These factors, in addition to interfering with the accuracy of measurements, significantly affect the cost of forest inventories.

In 1957, Ker and Smith proposed the use of hypsometric relationships, in which, by measuring the diameters

(DBH) and the heights of some trees in the plot, a height-diameter curve (hypsometric relationship) is obtained and the height of the others can be estimated. Since then, several models for height prediction have been proposed and can be found in literature (Curtis 1967, Inoue and Yoshida 2004, Campos and Leite 2009).

It is known that the quality of hypsometric relationships is influenced by several factors besides DBH, such as forest sites, age, genetic material, silvicultural tracts, among others. The inclusion of these factors in hypsometric models can lead to a gain in the quality of estimates and in biological realism. However, the modeling and quantification of the influences of these characteristics on the variable to be estimated makes this inclusion difficult, since the relations present non-linear characteristics or qualitative (categorical) values (Binoti 2012).

With the advancement of evolutionary computing and the spread of artificial intelligence, artificial neural networks (ANN) have been widely used as an alternative to hypsometric models, for the modeling and prognosis of forest yield. Dantas *et al.* (2020) assessed the quality of the volumetric estimation of *Eucalyptus* spp. trees using machine learning and observed a marked decrease in residual standard error, from 0.0142 m<sup>3</sup> (7.9830 %) in the nonlinear fixed-effects regression model to 0.0024 m<sup>3</sup> (0.6060 %) in ANN. Freitas *et al.* (2020) evaluated ANN to estimate eucalyptus productivity as a function of environmental variables and what was obtained was ANN with correlation between the estimated and observed mean annual increment of eucalyptus stands at six years of age higher than 85 % and root mean square error less than 15 %.

ANN is an algorithm based on simple processing units (artificial neurons), mimicking the neurons found in the human brain, which calculates specific functions Braga *et al.* (2007). These units are distributed in layers and connected to each other by weights that store the experimental knowledge and weight the inputs of each unit. With that, the acquired knowledge becomes available for use.

The most striking features in ANN are the ability to learn and generalize information. In other words, ANN are able, through a learned example, to generalize the knowledge assimilated to a set of unknown data. Another interesting feature is the ability to extract non-explicit features from a set of information that is provided as examples (Gorgens *et al.* 2015).

One aspect that must be considered, with the adoption of ANN as a modeling tool in forest management, is the possibility of reducing the number of measurements necessary for training the networks, without losing the quality of the estimates. This would result in a decrease in data collection time and cost of forest inventories.

One of the most important pieces of information to determine the potential of a forest in a given region is the variable "volume," the accurate quantification of which is essential in forest management planning. The individual volume serves as a starting point for assessing the wood

content in a forest stand and provides support for decisions related to silvicultural practices and timber harvesting and transport. Thus, it is essential that the volume of trees be correctly determined to provide an accurate representation of the sampled population.

The search for methodologies that provide exact estimates and, at the same time, make it possible to reduce the cost and time of measurements is constant, requiring studies that provide subsidies for the manager in the processing of forest inventory data. In this sense, the objective of this work is to propose and evaluate the performance of different models based on ANN in estimating the total height of eucalyptus trees and estimating the total volume in eucalyptus stands. It is proposed as hypothesis that the use of artificial neural networks allows the reduction of the number of heights measurements in forest inventories, without losing the accuracy of the estimates.

## METHODS

*Data base.* The study area consists of 28 management units with four different *Eucalyptus* spp. clones. (MG01, MG02, MG03 and MG04), in the municipality of Minas Novas, Minas Gerais, Brazil, totaling 900 hectares. The climate of the region is characterized as tropical dry climate, Aw type, according to the Köppen climate classification, with average annual temperature of 22.2 °C, with dry winters, and rainy summers with high temperatures. Average annual total precipitation is 961 mm (Alvares *et al.* 2013).

The data for this study came from forest inventories in plantations aged 4 years, planted at 3 x 3 m spacing. In the forest inventory, 100 rectangular sample units with an area of 870 m<sup>2</sup> were measured. A total of 9,378 individuals were measured. In each plot, the diameter, in centimeters, at 1.30 m above the ground (DBH) of all trees was measured; the total height (Ht), in meters, of 20 trees; and the total height, in meters, of the five dominant and codominant trees (Hd).

*Data processing.* For processing, three different forms of dominant heights were considered for each plot: using the highest tree in the plot (Hd1), the average of the two tallest trees (Hd2) and the average of the three tallest trees (Hd3); the basal area of the plot (Gparc), in m<sup>2</sup>; and the dominant DBH (DBHd) of each plot, resulting from the average DBH of the five dominant trees.

Four groups were created, different from each other by the number of trees in each plot used in the training of ANN: (a) G1, consisting of one tree as a training sample, one as a test sample and one as a validation sample; (b) G3, consisting of three trees as a training sample, one as a test sample and one as a validation sample; (c) G5, composed of five trees as a training sample, one as a test sample and one as a validation sample; (d) GT, composed of all trees (except the trees of the test and validation samples)

as a training sample, one as a test sample and one as a validation sample. None of the groups contained the trees that were used to calculate the dominant height of each plot. In addition, the trees in the test, validation and training samples were different so that, during training, the network used the specified number of trees in each sample.

*Training of artificial neural networks.* To obtain ANN to estimate the total height of the trees, the ANN were trained. This procedure consisted of adjusting their weights, using a learning algorithm that extracts characteristics from the data and aims at generating a network that performs the task of interest (Binoti *et al.* 2014). The training was performed in R, version 3.4.1, using the neuralnet package (Günther and Fritsch 2010).

Trained ANN were Multilayer Perceptron (MLP) networks, consisting of an input layer, an intermediate layer, and an output layer. The algorithm used was resilient back-propagation, where the learning rate was set automatically by the package neuralnet, with values ranging from 0.01 to 1.12. The number of neurons in the intermediate layer was chosen using the k-fold. This methodology randomly subdivides the database into k subgroups (Wong *et al.* 2017). The k value was 10 subgroups, with 90 % for training and 10 % for testing (Diamantopolou 2010), applying cross validation. Different numbers of neurons, ranging from 1 to 20, were tested.

The activation function used was logistic (or sigmoid), with an interval from 0 to 1, which limits the amplitude of outputs and inputs. Therefore, data were normalized, which consisted of transforming the values of each variable into values ranging from 0 to 1, using equation [1] (Soares *et al.*, 2011). This equation considers the minimum and maximum value of each variable in the value transformation, maintaining the original data distribution (Valença 2010).

$$x' = \frac{(x - x_{min}) * (b - a)}{(x_{max} - x_{min})} + a \quad [1]$$

Where:

x': normalized value.

x: original value.

x<sub>min</sub>: minimum value of the variable.

x<sub>max</sub>: maximum value of the variable.

a: lower limit of the normalization range.

b: upper limit of the normalization range.

The stopping criterion of the ANN training process was a maximum number of 100,000 cycles, or a mean squared error less than 1 %, stopping the training when meeting one of the criteria. At the end of the training, the best ANN were selected, based on the smallest mean squared error.

In each group (G1, G3, G5 and GT) 12 combinations among variables were obtained. Thus, ANN training sessions were: (a) three sessions without the dominant height as one of the input variables, (b) three sessions with the

dominant height Hd1, (c) three sessions with the dominant height Hd2 and (d) three sessions with the dominant height Hd3. Each set of training sessions was subdivided as follows: (i) one session with the categorical variable Clone and the continuous variable DBH, (ii) one session with the categorical variable Clone and the continuous variables DBH, DBHd and Gparc, (iii) one session without categorical variables and with continuous variables DBH, DBHd and Gparc. In each session, 50 ANN were trained, and the network with the best performance was retained based on the training, testing and validation values of determination coefficient and sum of squares of errors. At the end of this process, 48 networks were obtained, one for each combination between the four groups and the 12 training sessions.

To assess the quality of ANN training, the heights of all individuals used in the network adjustments were estimated and the Bias % and the Root Mean Square Error (RMSE %) were calculated (Siipilehto 2000, Leite and Andrade 2002).

Bias and RMSE are used as a parameter in choosing the networks that showed the best performance in the training phase, however, this does not guarantee that they will be able to make a good generalization in an unknown database. To assess the performance of the ANN in generalization, the five best ANN were selected, based on the values of Bias and RMSE, and these were used to estimate the heights of the trees that had no height measured in the field. For the remainder, the heights measured in the inventory were maintained.

*Hypsometric and volumetric models.* The hypsometric model cited by Campos and Leite (2009) [2] was adopted as a reference in estimating heights, due to its good performance, which can be attributed to the use of dominant height as one of the variables independent of the model (Leite and Andrade 2003). For this, the model was adjusted by Clone using all trees with measured height. The dominant height used was obtained by the average of the five trees with the highest height in each plot, since this is the standard procedure already adopted by the forest company. After adjusting the model, it was applied to the inventory data to estimate the height of trees that had no height measured in the field.

After estimating heights, using the hypsometric model and the five best ANN, linear equations of Schumacher and Hall (1933) [3] were adjusted by Clone, using taper data obtained by accurately estimating the cubic volume of 159 trees, in which Ht, DBH and diameters were measured at the base of the trees (at 0.1 m high) and at heights of 0.5 m, 1 m, 1.5 m and 2 m and, from this section, every 2 m. Individual volumes were obtained using the Smalian formula. The adjusted equations were applied to the inventory data and the volumes of each stem were estimated, considering the six heights obtained for each one (one height estimated by the hypsometric model and five heights estimated

by the five best ANN). Finally, the volume per hectare for each plot was estimated and the average volume per hectare for each plot was estimated.

$$\ln(Ht) = \beta_0 + \beta_1 \left( \frac{1}{DBH} \right) + \beta_2 \ln(Hd) + e \quad [2]$$

$$\ln(vol) = \beta_0 + \beta_1 \ln(DBH) + \beta_2 \ln(Ht) + e \quad [3]$$

Where:

Ht = total height, in meters.

DBH = diameter, in centimeters, at 1.30 m in height of the tree.

Hd = dominant height, in meters, from the average height of the 5 highest trees in the plot.

$\beta_0$ ,  $\beta_1$  and  $\beta_2$  = parameters of the model.

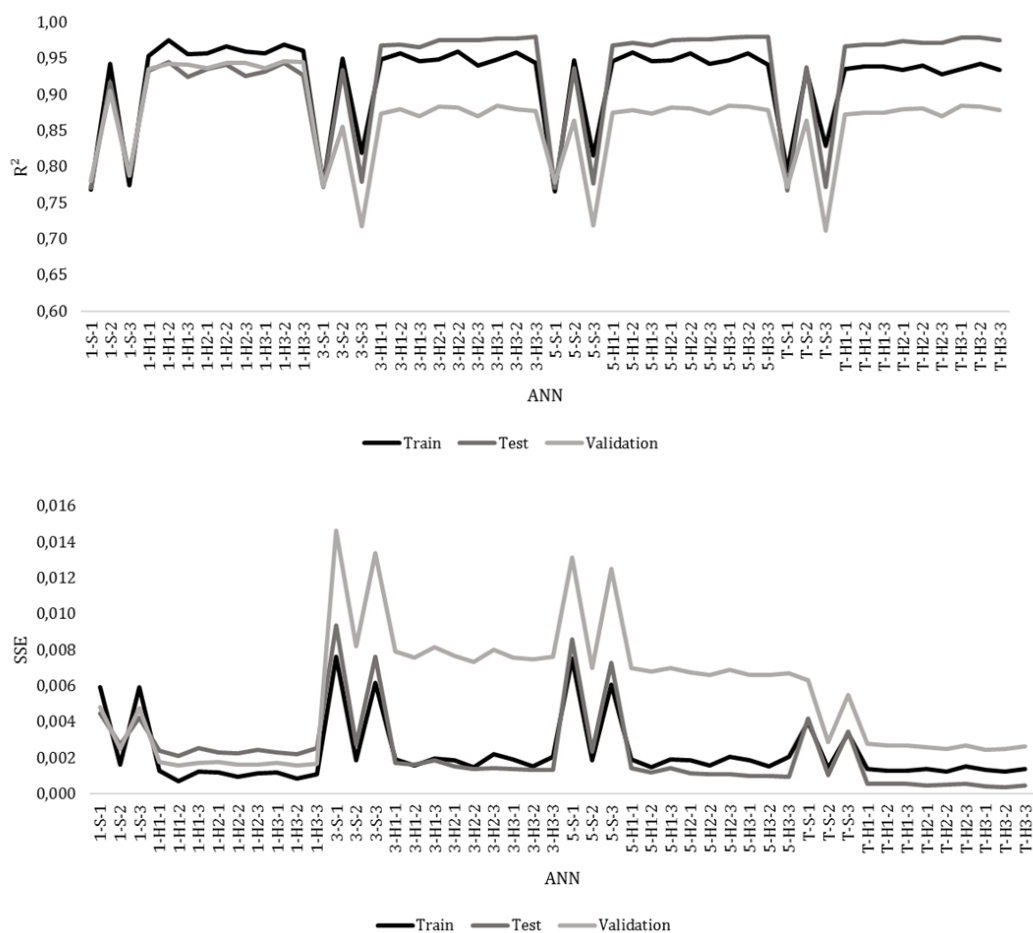
$e$  = random error.

vol = volume in  $m^3$ .

*Evaluation of estimates.* The quality of the height estimates was evaluated in the calculation of the total volume, per sample plot and per management unit, the Average Relative Error (ERM) between estimated volumes (Vest), from the heights estimated by the five ANN, and the observed volume (Vobs), derived from the heights estimated by the hypsometric model; distribution graphs of estimated and observed volumes; and the correlation coefficients between estimated and observed volumes.

## RESULTS

The networks trained with the dominant height as an input variable showed better performance and less square sum of errors (figure 1) in the phases of training, testing and validation by the software used, in all four groups.



**Figure 1.** Performance graphs: determination coefficient ( $R^2$ ) and sum of squares of errors (SSE) of the Artificial neural networks (ANN) obtained. In “ANN X-Y-Z”, X represents the number of individuals in the training sample (T being for all), Y represents the number of dominant trees (S for none) and Z represents which variables are used as input, in addition to the dominant height (1 for Clone and diameter at 1.30 m from the ground (DBH); 2 for all; 3 for DBH, basal area (Gparc) and dominant diameter (DBHd)).

Gráficos de rendimiento: coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y suma de cuadrados de errores (SSE) de las Redes Neuronales Artificiales (RNA) obtenidas. En “RNA X-Y-Z”, X representa el número de individuos en la muestra de entrenamiento (T es para todos), Y representa el número de árboles dominantes (S para ninguno) y Z representa qué variables se usan como entrada, además del dominante altura (1 para clon y diámetro a 1,30 m del suelo (DAP); 2 para todos; 3 para DAP, área basal (Gparc) y diámetro dominante (DAPd)).



With ANN, the heights of trees with known height were estimated. As a result, each tree has an observed height and 48 estimated heights. The values of Bias and RMSE calculated to evaluate the performance of the networks are presented in tables 1 and 2, respectively. Bias values close to zero indicate less error tendencies in the estimates. Negative values indicate overestimates and positive values indicate underestimates. RMSE values indicate the average magnitude of the error.

Bias and RMSE indicated different network performances according to the input variables used. When analyzing the different dominant heights considered in the training of the networks, it appears that the highest Bias values were found in networks that did not have a dominant height as an-input variable, with a tendency to overestimate the height values. The networks trained without the Hd varia-

ble showed Bias between -11.82 and 3.51 %, while in the networks where Hd was used, there was a smaller variation, from -5.61 to 2.43 %. The different ways of calculating the dominant height studied showed Bias values close to each other. With values between -4.79 and 2.30 % for Hd1; -5.61 and 2.43 % for Hd2; and -5.53 and 1.87 % for Hd3.

Due to larger bias, networks without Hd also presented higher magnitudes of error, which can be verified by the higher values of RMSE. Networks without Hd had an average RMSE of 5.62 %, while in networks with Hd1 the average was 3.73 %, in networks with Hd2, 3.79 % and 3.70 % in networks with Hd3. Regarding the maximum values of RMSE, in networks without Hd, the value of 12.55 % was verified, and in networks with Hd, the maximum value was 7.54 %. Among the different types of Hd, as well as in Bias, maximum values of RMSE were

**Table 1.** Bias values for all artificial neural networks. Groups G1, G3, G5 and GT represent the number of trees used in the training sample, with T for all. The networks differ as follows: H indicates the number of trees used as dominant (S for none); considering the variables used as input for ANN training, 1 represents Clone and diameter at 1.30 from the ground (DBH), 2 represents all variables, and 3 represents DBH, basal area (Gparc) and dominant diameter (DBHd).

Valores de sesgo para todas las redes neuronales artificiales. Los grupos G1, G3, G5 y GT representan el número de árboles utilizados en la muestra de entrenamiento, con T para todos. Las redes difieren de la siguiente manera: H indica el número de árboles utilizados como dominantes (S para ninguno); considerando las variables utilizadas como entrada para el entrenamiento RNA, 1 representa el clon y el diámetro a 1,30 m desde el suelo (DAP); 2 representa todas las variables; y 3 representa DAP, área basal (Gparc) y diámetro dominante (DAPd).

Group	Bias (%)											
	S-1	S-2	S-3	H1-1	H1-2	H1-3	H2-1	H2-2	H2-3	H3-1	H3-2	H3-3
G1												
MG01	2.55	1.90	-11.82	2.30	1.38	-4.59	2.43	0.67	-3.74	-3.74	1.57	-3.26
MG02	-0.88	0.82	3.40	0.83	1.05	1.35	0.88	1.16	1.24	1.24	1.16	1.38
MG03	-0.02	0.53	1.20	0.82	0.58	1.83	0.66	0.74	1.86	1.86	0.71	1.87
MG04	-0.33	1.79	-4.33	1.68	1.70	1.28	1.64	1.84	1.13	1.13	1.73	1.19
G3												
MG01	-4.24	-1.01	-11.55	-1.51	-0.74	-4.79	-1.59	-1.07	-5.61	-1.27	-1.27	-5.53
MG02	-2.07	-1.24	2.44	-1.38	-1.27	-0.85	-1.39	-1.29	-0.61	-1.42	-1.42	-0.82
MG03	-1.14	-1.05	-0.31	-0.99	-1.01	-0.46	-0.93	-0.85	-0.59	-0.82	-0.82	-0.77
MG04	-2.40	-1.18	-4.90	-1.16	-1.20	-1.62	-1.25	-1.14	-1.26	-1.10	-1.10	-1.16
G5												
MG01	-1.49	0.04	-11.00	-1.09	-0.87	-3.97	-1.00	-0.86	-5.10	-0.60	-0.80	-4.50
MG02	-1.02	-0.76	2.93	-0.88	-0.75	-0.40	-0.83	-0.74	-0.24	-0.92	-0.83	-0.31
MG03	-1.19	-0.56	0.10	-0.58	-0.55	0.04	-0.57	-0.55	-0.34	-0.41	-0.56	-0.38
MG04	-1.61	-0.74	-4.46	-0.76	-0.68	-1.01	-0.79	-0.67	-0.73	-0.71	-0.76	-0.65
GT												
MG01	-0.86	-0.06	-10.08	-0.61	-0.18	-4.42	-0.38	-0.11	-5.17	-0.39	-0.88	-4.32
MG02	-0.89	-0.37	3.51	-0.25	-0.40	0.24	-0.30	-0.33	0.20	-0.31	-0.26	0.19
MG03	-0.56	-0.15	0.76	-0.08	-0.03	0.07	-0.07	0.09	0.26	0.04	-0.18	0.08
MG04	-0.82	-0.30	-3.85	-0.22	-0.17	-0.41	-0.18	-0.22	-0.18	-0.25	-0.21	-0.22

**Table 2.** Root mean square error (RMSE) for the ANN obtained. G1, G3, G5 and GT represent the number of trees used in the training sample, with T for all. “Y-Z” differentiates networks as follows: Y for the number of trees used as dominant (S for none), Z for the variables used as input (1 for Clone and diameter at 1.30 from the ground (DBH), 2 for all, 3 for DBH, basal area (Gparc) and dominant diameter (DBHd)).

Error cuadrático medio (RMSE) para el RNA obtenido. G1, G3, G5 y GT representan el número de árboles utilizados en la muestra de entrenamiento, con T para todos. “Y-Z” diferencia las redes de la siguiente manera: Y para el número de árboles utilizados como dominantes (S para ninguno); Z para las variables utilizadas como entrada (1 para Clon y diámetro a 1,30 m desde el suelo (DAP); 2 para todos; 3 para DAP, área basal (Gparc) y diámetro dominante (DAPd)).

Clones	RMSE (%)											
	S-1	S-2	S-3	H1-1	H1-2	H1-3	H2-1	H2-2	H2-3	H3-1	H3-2	H3-3
G1												
MG01	9.19	5.26	12.55	6.31	3.76	6.14	6.42	3.69	6.31	6.31	3.64	6.01
MG02	6.19	3.66	5.51	3.48	3.09	3.50	3.36	3.33	3.32	3.32	3.24	3.42
MG03	4.45	3.20	3.72	2.68	2.64	3.23	2.57	2.62	3.21	3.21	2.51	3.19
MG04	6.40	4.77	6.74	3.95	3.71	3.66	3.92	3.84	3.57	3.57	3.87	3.61
G3												
MG01	7.81	3.54	12.50	5.16	3.47	6.40	5.34	3.27	7.54	3.83	3.83	7.27
MG02	6.72	4.34	5.33	4.33	4.24	4.24	4.23	4.15	4.12	4.16	4.16	4.13
MG03	4.67	3.15	3.61	2.42	2.41	2.14	2.29	2.27	2.15	2.29	2.29	2.18
MG04	6.94	3.58	6.69	3.40	3.19	3.66	3.37	3.14	3.60	3.14	3.14	3.30
G5												
MG01	6.67	3.00	11.62	4.90	3.67	5.62	4.98	4.01	7.20	4.72	3.83	6.90
MG02	6.48	3.85	5.32	3.94	3.71	3.85	3.84	3.66	3.74	3.83	3.63	3.69
MG03	4.54	2.81	3.51	2.19	2.16	2.03	2.07	2.12	2.04	2.01	2.09	2.05
MG04	6.73	3.46	6.32	3.21	2.97	3.33	3.20	3.02	3.20	3.22	3.05	3.25
GT												
MG01	6.90	3.22	11.22	5.42	4.24	6.82	5.90	4.49	7.31	5.53	4.01	6.82
MG02	6.37	3.91	5.65	3.99	3.95	3.92	3.90	3.77	3.97	3.83	3.71	3.77
MG03	4.55	2.98	3.68	2.49	2.47	2.53	2.45	2.44	2.59	2.41	2.43	2.46
MG04	6.75	3.85	5.97	3.46	3.45	3.64	3.50	3.45	3.55	3.55	3.47	3.53

found close to each other: 6.82, 7.54 and 7.27 % for Hd1, Hd2 and Hd3 respectively. Indicating that the use of the height of only one dominant tree can generate networks with good estimation capacity.

It shows that, in addition to Hd, the simultaneous absence of the categorical variable Clone in the training process of networks negatively influenced the quality of the estimates. Among the ANN trained without Clone and without Hd as input variables, Bias values varied between -11.82 and 3.51 % and the maximum RMSE value was 12.55 %. There was a tendency to overestimate heights, especially in Clone MG01, where the average height of trees is lower. As networks did not have the information of maximum heights or information that differentiated Clones (Clone), the same pattern verified in the other Clones was applied, in which trees are bigger. In networks where

the Clone variable was used and Hd was not used in training, Bias values were between -4.24 and 2.55 % and the maximum RMSE verified was 9.19 %. The networks trained with Clone and Hd presented Bias between -3.74 and 2.43 % and maximum RMSE of 5.26 %.

With the use of continuous variables (DBH, DBHd, Gparc and Hd), it was possible to obtain even lower values of Bias and RMSE. Among the networks that used categorical variables and did not use continuous variables, except DBH, there were Bias values between -3.74 and 2.43 % and maximum RMSE of 6.42 %; while in the networks trained with continuous and categorical variables, Bias values were between -1.42 and 1.84 % and maximum RMSE of 4.49 %.

The ANN with all the trees used as a training sample resulted in estimates with lower values of Bias and RMSE, however, there is no significant difference between the va-

lues observed for these networks and those whose training samples are made up of smaller numbers of trees. For networks with a tree as a training sample, Bias values varied between -11.82 and 3.40 % and the maximum RMSE was 12.55 %. For networks with three trees in the training sample, Bias values varied between -11.55 and 2.44 % and the maximum RMSE was 12.50 %. Nets with five trees in the training sample showed Bias values between -11.00 and 2.93 % and maximum RMSE of 11.62 %. For networks with all trees in the training sample, Bias between -10.08 and 3.51 % and maximum RMSE of 11.22 %.

Considering the performance of networks (lowest values of Bias and RMSE), the best five were selected, whose minimum and maximum RMSE and Bias values are shown in table 3.

With the adjustment of the hypsometric model used as a reference in this study, four equations were obtained, one for each Clone. The coefficients of the equations and their determination coefficients ( $R^2$ ) are shown in table 4. In all adjusted equations, the parameters associated with the coefficients (DBH and Hd) were significant by the t test ( $P < 0.05$ ).

All equations showed lower values than those shown by ANN, when compared by the determination coefficient ( $R^2$ ).

The lowest value found in training the networks was 0.7661 (figure 1), while the highest value found in adjusted hypsometric models was 0.7655 (table 4). This result corroborates with Haykin (2001), who showed that ANN may have a higher estimation capacity than that of the regression models. The parameters and coefficients of determination ( $R^2$ ) were obtained by adjusting the volumetric model of Schumacher and Hall (1933), by Clone. In all adjusted equations, the parameters associated with the coefficients (DBH and Hd) were significant by the t test ( $P < 0.05$ ).

The volumes per hectare, for each sample plot, estimated by the adjusted models of Schumacher and Hall using, in addition to the DBH, the heights estimated by the five best ANN, indicated differences in the estimates. Considering the hypsometric model cited by Campos and Leite (2009), adjusted by Clone, as a reference for the height estimation and comparing the estimates of this with the height estimates by ANN, it can be observed, in general, a trend of Mean Relative Error (MRE %) less than 10 % (figure 2). In the ANN where Hd was used as an input variable in training, there is less dispersion of percentage errors around zero, indicating higher precision of the estimates. In the ANN where Hd was not used, despite having a low

**Table 3.** Artificial neural network (ANN) with the best performances and their minimum and maximum Bias values and average of Root mean square error (RMSE). G3 and G5 represent the number of trees used in the training sample. “Hd” differentiates networks according to the number of trees used as dominant height (S for none); 2 represents the variables used as input (Clone, diameter at 1.30 m from the ground (DBH), basal area (Gparc) and dominant diameter (DBHd)).

Red neuronal artificial (RNA) con los mejores rendimientos y sus valores de sesgo mínimo y máximo y el promedio del error cuadrático medio (RMSE). G3 y G5 representan el número de árboles utilizados en la muestra de entrenamiento. “Hd” diferencia las redes de acuerdo con el número de árboles utilizados como altura dominante (S para ninguno); 2 representa las variables utilizadas como entrada (Clon, diámetro a 1,30 m desde el suelo (DAP), área basal (Gparc) y diámetro dominante (DAPd)).

ANN	RMSE	Minimum bias (%)	Maximum bias (%)
G5-Hd1-2	3.13	-1.09	-0.58
G5-Hd3-2	3.15	-0.83	-0.56
G5-Hd2-2	3.20	-0.86	-0.55
G5-Hd2-2	3.21	-1.29	-0.85
G5-S-2	3.28	-0.37	-0.06

**Table 4.** Estimates of adjusted parameters ( $\beta_i$ ) for the hypsometric model, by Clone, and their respective determination coefficients ( $R^2$ ). All parameters were significant ( $P < 0.05$ ).

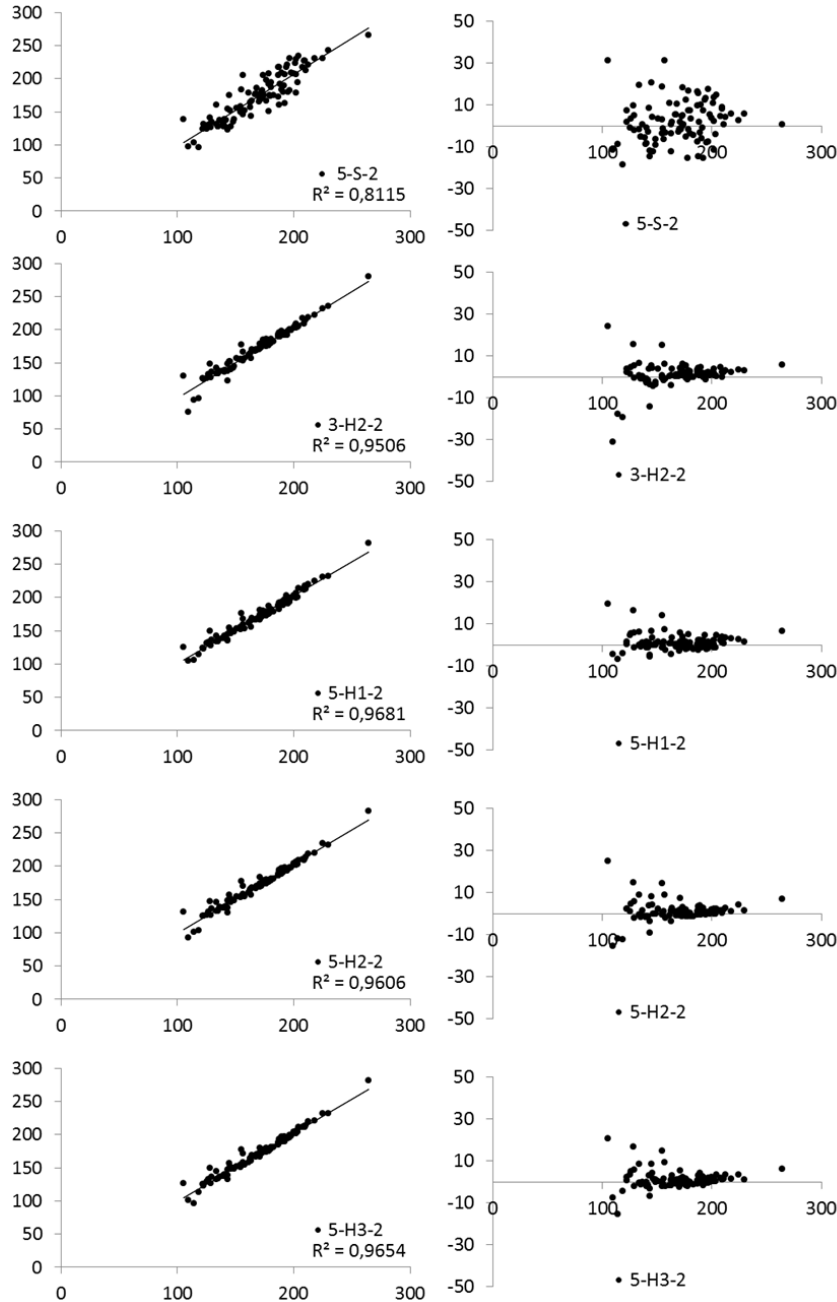
Estimaciones de los parámetros ajustados ( $\beta_i$ ) para el modelo hipsométrico, por clon, y sus respectivos coeficientes de determinación ( $R^2$ ). Todos los parámetros fueron significativos ( $P < 0,05$ ).

Clone	$\beta_0$	$\beta_1$	$\beta_2$	$R^2$
MG01	-13.76672	-59.31327	12.22367	0.6519
MG02	-16.70950	-92.29903	14.63143	0.7038
MG03	-17.45423	-98.43312	14.90976	0.7655
MG04	-0.85420	-113.46220	9.81136	0.6539

variation in the values of Bias and RMSE, there is a high dispersion of percentage errors (figure 2).

It is noted that the MRE trend was closer to zero in the networks trained with five trees in the training sample.

However, this superiority is not so significant as to compromise the use of the network trained with three trees in the training sample, since the MRE values in this network were, in general, below 5 %.



**Figure 2.** Observed (x) and estimated (y) volumes per hectare and their correlation coefficients ( $R^2$ ). Dispersion of percentage errors (y) as a function of total observed volumes (x) per hectare. Groups 3 and 5 represent the number of trees used in the training sample. “H” differentiates networks according to the number of trees used as dominant (S for none); 2 represents the variables used as input (Clone, diameter at 1.30 m from the ground (DBH), basal area (Gparc) and dominant diameter (DBHd)).

Volúmenes observados (x) y estimados (y) por hectárea y sus coeficientes de correlación ( $R^2$ ). Dispersion de errores porcentuales (y) en función de los volúmenes totales observados (x) por hectárea. Los grupos 3 y 5 representan el número de árboles utilizados en la muestra de entrenamiento. “H” diferencia las redes de acuerdo con el número de árboles utilizados como dominantes (S para ninguno); 2 representa las variables utilizadas como entrada (clon, diámetro a 1,30 m desde el suelo (DAP), área basal (Gparc) y diámetro dominante (DAPd)).

Considering the estimated volumes per hectare, for each plot, it is confirmed that Hd contributed significantly to obtain more accurate estimates (table 5).

In the 5-S-2 network, nine MRE values above 10 % were verified, in a total of 28 estimates, and the maximum MRE verified was 26 %. In 3-H2-2, 5-H2-2 and 5-H3-3 networks, only a value above 10 % was verified, for the same number of estimates. The highest MRE values are 12 % for the 3-H2-2 network, 13 % for the 5-H2-2 network,

and 11 % for the 5-H3-3 network. The 5-H1-2 network did not present a MRE value above 10 %, with 7 % being the maximum value. The lowest average of the MRE modules was also verified for this network (table 6).

#### DISCUSSION

Results show that the use of variables, both categorical and continuous, that manage to represent the characteris-

**Table 5.** Estimated volumes (Vol, m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) considering the heights estimated by the hypsometric model used as a reference, and by the five best Artificial neural network, as well as their mean relative error (MRE).

Volúmenes estimados (m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup>) considerando las alturas estimadas por el modelo hipsométrico utilizado como referencia, y por las cinco mejores redes neuronales artificiales, así como su error relativo medio (ERM).

Management unit	Model	3-H2-2		5-S-2		5-H1-2		5-H2-2		5-H3-2	
	Vol	Vol	MRE	Vol	MRE	Vol	MRE	Vol	MRE	Vol	MRE
1	126.9	132.0	4.0	130.6	2.9	130.2	2.6	130.6	2.9	130.0	2.4
2	204.1	208.9	2.3	217.4	6.5	206.9	1.4	205.9	0.9	206.7	1.3
3	166.8	176.5	5.8	192.4	15.3	171.0	2.5	170.8	2.4	170.0	1.9
4	233.1	244.1	4.7	236.4	1.4	243.9	4.6	246.2	5.6	244.5	4.9
5	187.7	192.0	2.3	211.4	12.6	191.2	1.9	189.9	1.2	191.6	2.1
6	176.7	176.5	-0.1	149.4	-15.5	175.5	-0.7	178.1	0.8	173.7	-1.8
7	106.6	93.6	-12.2	95.9	-10.1	100.6	-5.6	92.1	-13.4	94.3	-11.5
8	165.9	167.9	1.2	167.9	1.2	167.9	1.2	168.1	1.3	168.4	1.5
9	140.9	139.0	-1.4	132.9	-5.7	141.6	0.5	140.3	-0.5	140.9	0.0
10	159.0	164.7	3.6	171.4	7.8	163.9	3.1	164.2	3.3	164.5	3.5
11	177.5	178.5	0.6	168.2	-5.3	174.8	-1.6	177.5	0.0	176.1	-0.8
12	159.8	170.7	6.8	163.3	2.2	171.8	7.5	173.2	8.4	168.9	5.7
13	129.4	124.1	-4.1	119.5	-7.7	131.0	1.2	126.9	-2.0	131.8	1.8
14	133.7	133.3	-0.3	130.6	-2.3	134.9	0.9	134.6	0.7	134.2	0.4
15	169.5	170.5	0.6	192.0	13.3	175.3	3.4	168.4	-0.7	168.9	-0.4
16	192.5	191.1	-0.8	213.7	11.0	194.2	0.9	192.0	-0.3	194.1	0.8
17	167.6	172.6	2.9	178.0	6.2	167.9	0.2	168.3	0.4	168.0	0.2
18	175.6	180.9	3.0	187.7	6.9	176.2	0.3	175.2	-0.2	175.8	0.1
19	187.0	188.7	0.9	192.3	2.8	188.7	0.9	187.0	0.0	186.9	-0.1
20	153.4	153.8	0.3	154.0	0.4	152.3	-0.7	152.8	-0.4	151.8	-1.0
21	143.7	151.9	5.7	181.3	26.2	153.7	7.0	155.9	8.5	156.4	8.8
22	167.3	168.6	0.8	162.6	-2.8	164.0	-1.9	166.1	-0.7	164.7	-1.5
23	188.9	189.3	0.2	209.9	11.1	195.3	3.4	191.8	1.5	194.3	2.9
24	185.2	188.0	1.5	180.6	-2.5	185.2	0.0	187.0	1.0	184.5	-0.4
25	138.8	143.2	3.2	147.4	6.2	141.8	2.2	143.5	3.4	143.3	3.2
26	132.2	130.0	-1.7	122.8	-7.1	132.0	-0.2	130.9	-1.0	131.9	-0.3
27	183.5	187.1	2.0	167.1	-9.0	180.0	-2.0	185.4	1.0	182.6	-0.5
28	121.7	129.5	6.3	134.4	10.4	126.7	4.1	129.3	6.2	127.3	4.6



**Table 6.** Average, minimum and maximum mean relative error (MRE) values generated by the 5 Artificial neural networks, per management unit. G3 and G5 represent the number of trees used in the training sample. “Hd” differentiates networks by the number of trees used as dominant (S for none); 2 represents the variables used as input (Clone, diameter at 1.30 from the ground (DBH), basal area (Gparc) and dominant diameter (DBHd)).

Valores promedio, mínimo y máximo de error relativo medio (ERM) generados por las cinco Redes Neuronales Artificiales, por unidad de manejo. G3 y G5 representan el número de árboles utilizados en la muestra de entrenamiento. “Hd” diferencia las redes por el número de árboles utilizados como dominantes (S para ninguno); 2 representa las variables utilizadas como entrada (clon, diámetro a 1,30 m desde el suelo (DAP), área basal (Gparc) y diámetro dominante (DAPd)).

ANN	Minimum MRE (%)	Average MRE (%)	Maximum MRE (%)
G5 – Hd1 - 2	0.00	2.23	7.00
G5 – Hd3 – 2	0.00	2.29	11.00
G5 – Hd2 – 2	0.01	2.46	13.00
G3 – Hd2 – 2	0.13	3.26	12.00
G5 – S – 2	0.38	7.58	26.00

tics of the plots, especially the Clone variable, is important in the training of ANN to obtain estimates with better accuracy, since these variables provide information about the specificities of each Clone, field or project, reducing, for example, the generalization of characteristics observed in a given Clone to others with different behaviors. It is worth mentioning that in the data used, considering the categorical variables, only Clone information was available, the introduction of additional information, such as soil type, terrain preparation, precipitation, spatial arrangement, radiation, among others, can contribute to increase the quality of the estimates.

The use of the Hd variable contributed to the improvement of the estimates and the use of the height of the largest tree in the plot resulted in ANN with performances similar to those presented by the networks trained with Hd coming from the average height of more than one dominant tree in the plot.

The reduction in the number of trees used as a training sample did not significantly affect the performance of the networks. The use, for example, of five trees as a training sample can already provide a considerable gain of time and cost reduction in the forest inventory and the difference between the maximum RMSE of networks trained with all trees and networks trained with five trees was only 0.40 %.

In the case of the forest company, from which the data used were obtained, the number of Ht measured per plot, which is 25 (20 normal trees and five dominant trees), could be reduced to eight (seven normal trees, where five would be used in the training sample, one in the test and one in the validation; and one dominant tree). Enabling a reduction in the measurement time and, consequently, in the cost of the forest inventory, increasing the efficiency of the measurement team.

Binoti *et al.* (2013), in a study on the effect of reducing Ht measurements on the precision obtained by ANN, evaluated the estimates obtained by reducing the number

of plots with measured Ht and also concluded that it is possible to reduce the number of measurements without loss of accuracy. Still according to the authors, it is possible to reduce the cost of the forest inventory through the application of ANN in the estimation of the Ht of the trees.

According to Leite and Andrade (2003), the dominant height allows representing different productive capacities of the places where the plots are located. This is important since the relationship between total height and DBH of trees can differ among plots located in areas with lower, medium or higher productivity.

The networks with the highest precision were those with training samples composed of five trees per plot (however, the number of trees can be reduced to three without major losses in accuracy); use of the dominant height variable, regardless of how many trees are used in its calculation (1, 2 or 3); and categorical and continuous variables that differentiate the different extracts, such as the Clone, Gparc and DBHd variables.

More specifically, the best performance was presented by the 5-H1-2 network, in whose training five trees were considered as a training sample, one as a test sample and one as a validation sample; dominant height from the height of the highest tree in the plot, categorical variable Clone and continuous variables DBH, DBHd and Gparc (figure 3).

From the artificial neural network an equation system was extracted to predict the individual tree height of *Eucalyptus* spp., with coefficients resulting from the weights generated by the ANN. Model (4) expresses the relationship between the hidden layer and the response variable, where  $\beta_0$  is the bias, and the other coefficients are the weights related to each neuron. Model (5) represents the activation function used in each neuron of the hidden layer, derived from the logistic model. Finally, the model (5) is the result of the relationship between the input variables and the respective hidden layer neurons, generating a model for each neuron.

$$Ht' = \beta_0 + \beta_1 * z_1 + \beta_2 * z_2 + \beta_3 * z_3 + \beta_4 * z_4 + \beta_5 * z_5 \quad [4]$$

$$z_n = \left[ \frac{1}{1 + e^{-w_i}} \right] \quad [5]$$

$$w_i = \beta_{0,n} + \beta_{1,n} * DBH_i' + \beta_{2,n} * DBHd_i' + \beta_{3,n} * Gparc_i' + \beta_{4,n} * Clone_i + \beta_{5,n} * Hd_i' \quad [6]$$

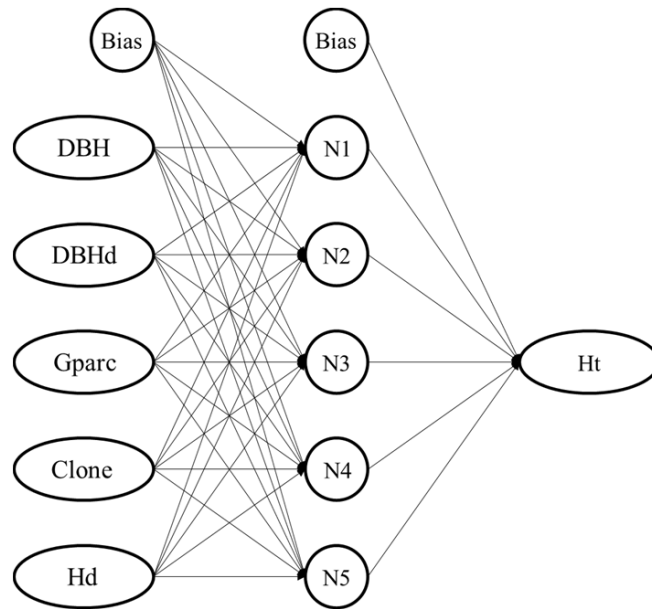
Where  $\beta_0$ : bias,  $\beta_n$ : coefficient of the model associated with neuron  $n$ ,  $\beta_{k,n}$ : coefficient of the model between input variable  $k$  and neuron  $n$ ,  $z_n$ : response of the  $n$ -th neuron of the hidden layer,  $w_i$ : sum of the products between the weights and the inputs.

The coefficients of the system of equations extracted from the artificial neural network are presented in table 7.

It can be inferred, therefore, that the ANN performed satisfactorily in estimating the total height of the trees studied, for later obtaining the individual volumes and per unit area. Therefore, this tool is applicable to the processes of estimating the total height of eucalyptus trees, allowing the reduction of the number of measurements required per plot without significant interference in the accuracy of the estimates obtained.

Another important aspect to be considered, due to the ease provided to the modeler, is that, unlike regression models, adjustments by extract are not necessary, since a single ANN is representative for all extracts (Haykin 2001).

Diamatopoulou (2005) reports that the quality of the estimates obtained through the ANN is due to their ability to model several variables and overcome certain problems found in forest data, such as non-linear relationships, non-Gaussian distributions, outliers and data failures.



**Figure 3.** Architecture of the best ANN, with five neurons in the hidden layer

Arquitectura de la mejor RNA, con cinco neuronas en la capa oculta.

**Table 7.** Parameters ( $\beta$ 's) of the artificial neural network. N represents the neuron.

Parámetros ( $\beta_i$ ) de la red neuronal artificial. N representa la neurona.

	$\beta_0$	$\beta_1$	$\beta_2$	$\beta_3$	$\beta_4$	$\beta_5$
RNA	0.8609	-0.7323	0.7619	0.6785	-1.7671	-1.6967
N1	-2.3277	2.0301	0.6158	2.5005	2.8092	-0.3280
N2	-1.3559	0.6158	2.3549	0.9111	0.6736	-2.8348
N3	-1.7104	2.3549	0.1538	0.5098	-1.6662	1.0934
N4	-0.0674	-2.5130	-1.2125	0.4046	-1.1707	0.2400
N5	2.5005	2.8092	-2.5130	0.6372	0.7235	-0.2786

## CONCLUSIONS

The present study considerably improves the modeling of the height and log volume of *Eucalyptus* spp. trees, using machine learning. The technique performed satisfactorily, and the models based on Artificial neural networks proposed in this study to estimate the total height of eucalyptus trees are efficient and their application is recommended due to the expressive reduction of the number of tree heights to be measured in the field.

The model that presents the best performance, according to the data used, consists of five trees as a training sample, one as a test sample and one as a validation sample; dominant height from the height of the highest tree in the plot; categorical variable Clone and continuous variables: diameter at 1.30 m in height from the base of the tree, dominant diameter and basal area of the plot.

## ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank the Postgraduate Program in Forestry Engineering at the Federal University of Lavras (PPGEF-UFLA) and the Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for the financial support in carrying out this study.

## REFERENCES

- Alvares CA, JL Stape, PC Sentelhas, G Moraes, J Leonardo, G Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 22:711-728. DOI: <https://dx.doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>
- Binoti DHB, MLMS Binoti, HG Leite. 2013. Redução dos custos em inventário de povoamentos equiâneos. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias* 8:125-129. DOI: <https://dx.doi.org/10.5039/agraria.v8i1a2209>
- Binoti MLMS, DHB Binoti, HG Leite, SLR Garcia, MZ Ferreira, R Rode, AAL Silva. 2014. Redes neurais artificiais para estimação do volume de árvores. *Revista Árvore* 38:283-288. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622014000200008>
- Binoti MLMS. 2012. Emprego de Redes Neurais Artificiais em Mensuração e Manejo Florestal. Tese (Doutorado em Engenharia Florestal). Viçosa –Minas Gerais, Brasil. Universidade Federal de Viçosa. 130 p.
- Braga AP, APLF Carvalho, TB Ludemir. 2007. *Redes Neurais Artificiais: Teoria e Aplicações*. Rio de Janeiro, Brasil. Editora LTC. 248 p.
- Campos JCC, HG Leite. 2009. Mensuração florestal: perguntas e respostas. 3. ed. Viçosa, Brasil. UFV. 636 p.
- Curtis R. 1967. Height-diameter and height-diameter-age equations for second-growth Douglas-fir. *Forest Science* 13:365-375. DOI: <https://doi.org/10.1093/forestscience/13.4.365>
- Dantas D, N Calegario, FWA Júnior, SPC Carvalho, MAI Júnior, EA Melo. 2020. Multilevel nonlinear mixed-effects model and machine learning for predicting the volume of *Eucalyptus* spp. trees. *CERNE* 26(1): 48-57. DOI: [10.1590/01047760202026012668](https://doi.org/10.1590/01047760202026012668)
- Diamantopoulou MJ. 2005. Artificial neural networks as an alternative tool in pine bark volume estimation. *Computers and Electronics in Agriculture* 10:235-244. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2005.04.002>
- Freitas CS, HN Paiva, JCL Neves, GE Marcatti, HG Leite. 2020. Modeling of eucalyptus productivity with artificial neural networks. *Industrial Crops and Products* 164:112149. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112149>
- Gorgens EB, A Montagni, LCE Rodriguez. 2015. A performance comparison of machine learning methods to estimate the fast-growing forest plantation yield based on laser scanning metrics. *Computers and Electronics in Agriculture* 116:221-227. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2015.07.004>
- Günther F, S Fritsch. 2010. Neuralnet: Training of neural networks. *The R journal*. 2(1):30-38. Accessed in sep. 2018. Available in <https://journal.r-project.org/archive/2010/RJ-2010-006/RJ-2010-006.pdf>
- Haykin S. 2001. *Redes neurais: princípios e prática*. 2. ed. Porto Alegre, Brasil. Bookman. 898 p.
- Inoue A, S Yoshida. 2004. Allometric model of the height-diameter curve for even-aged pure stands of Japanese cedar (*Cryptomeria japonica*). *Journal of Forest Research* 9:325-331. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10310-004-0085-z>
- Ker J, J Smith. 1957. Sampling for height-diameter relationships. *Journal of Forestry* 55:205-207. DOI: <https://doi.org/10.1093/jof/55.3.205>
- Leite HG, VCL Andrade. 2003. Importância das variáveis altura dominante e altura total em equações hipsométricas e volumétricas. *Revista Árvore* 27:301-310. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622003000300005>
- Leite HG, VCL Andrade. 2002 Um método para condução de inventários florestais sem o uso de equações volumétricas. *Revista Árvore* 26:321-328. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-67622002000300007>
- Schumacher FX, FS Hall. 1933. Logarithmic expression of timber-tree volume. *Journal of Agricultural Research* 47:719-734.
- Siipilehto J. 2000. A comparison of two parameter prediction methods for stand structure in Finland. *Silva Fennica* 34:331-349. DOI: <http://dx.doi.org/10.14214/sf.617>
- Statsoft. 2014. *Statistica (data analysis software system)*. Version 10. Accessed in May. 2020. Available in [www.statsoft.com.br](http://www.statsoft.com.br)

Recibido: 17/05/20  
Aceptado: 17/09/20

## Structural variations in remnants of Mixed Ombrophilous Forest in the extreme South of Brazil

Variaciones estructurales en remanentes de bosque umbrófilo mixto  
en el extremo sur de Brasil

**Daniele Guarienti Rorato<sup>a</sup>, Maristela Machado Araujo<sup>b</sup>, Adriana Maria Griebeler<sup>b\*</sup>,  
Cristina Gouvêa Redin<sup>c</sup>, Adriana Falcão Dutra<sup>b</sup>, Suelen Carpenedo Aimi<sup>b</sup>, Felipe Turchetto<sup>d</sup>**

<sup>a</sup>Parana State West University, Department of Agronomy, Marechal Candido Rondon, Brazil.

\*Corresponding author: <sup>b</sup>Federal University of Santa Maria, Department of Forest Sciences, Santa Maria, Brazil, tel.: +55 55 3220 8276, griebeleradriana@gmail.com

<sup>c</sup>Santa Catarina West University, Department of Forestry Engineering, Xanxerê, Brazil.

<sup>d</sup>Federal University of Santa Maria, Department of Forest Engineering, Frederico Westphalen, Brazil.

### SUMMARY

The study aimed at characterizing the arboreal-shrubby component in fragments of Mixed Ombrophilous Forest, in Rio Grande do Sul State, Brazil. The vegetation survey was performed in four sampled fragments in 57 plots. In the plots, the identification of the individuals and measurement of circumference at breast height (CAP) was carried out, according to the following classes of size: Class I) arboreal strata, individuals with  $CAP \geq 30$  cm (10 x 20 m); Class II) arboreal strata, individuals with  $15 \leq CAP < 30$  cm (10 x 10 m); Class III) established natural regeneration, individuals with  $3 \leq CAP < 15$  cm (5 x 5 m) and Class IV) bank of seedlings, individuals with height  $\geq 30$  cm and  $CAP < 3$  cm (2 x 2 m). The data of Class I constituted a matrix parcel x species, which was used in a multivariate analysis, allowing the classification of groups of plots that characterize microhabitats. The forest fragments presented low floristic richness of typical species of Mixed Ombrophilous Forest. From this environment highlight two main groups, one characteristic of riparian forest and the other from *capões*. In the riparian forests (GR1), highlighted *Eugenia uruguayensis* and *Gymnanthes klotzschiana*. In *capões* (GR2), the predominant species were *Araucaria angustifolia*, *Podocarpus lambertii* and *Myrceugenia cucullata*. The condition of species in different classes associated with their ecological characteristics allows identifying possible strategies for perpetuation of the arboreal-shrubby component of population and management of the fragments aiming at its conservation.

*Key words:* phytosociology, TWINSpan, floristic cluster, multivariate analysis.

### RESUMEN

El estudio tuvo como objetivo caracterizar el componente arbóreo-arbustivo en fragmentos de Bosque Umbrófilo Mixto. El relevamiento de la vegetación se realizó en cuatro fragmentos muestreados en 57 parcelas. Se identificaron los individuos y se midió la circunferencia a la altura del pecho (CAP), considerando las siguientes clases: Clase I) estrato arbóreo,  $CAP \geq 30$  cm (10 m x 20 m); Clase II) estrato arbóreo,  $15 \leq CAP < 30$  cm (10 m x 10 m); Clase III) regeneración natural establecida,  $3 \leq CAP < 15$  cm (5 m x 5 m) y clase IV) banco de plántulas, altura  $\geq 30$  cm y  $CAP < 3$  cm (2 m x 2 m). Los datos del estrato arbóreo (Clase I) constituyeron una matriz de parcela x especie, la cual fue utilizada en análisis multivariado, permitiendo la clasificación de grupos de parcelas que caracterizan a los microhábitats. Los fragmentos de bosque en cumbres de la sierra presentaron baja riqueza florística de especies típicas del Bosque Umbrófilo Mixto. De este ambiente típico, se destacan dos grupos principales, uno característico de bosques de galería y el otro de bosques en islas (*capões*). En los bosques de galería (GR1), destacaron *Eugenia uruguayensis* y *Gymnanthes klotzschiana*. En los bosques en islas (GR2), las especies predominantes fueron *Araucaria angustifolia*, *Podocarpus lambertii* y *Myrceugenia cucullata*. La condición de especies en las diferentes clases asociadas a sus características ecológicas permite identificar posibles estrategias para perpetuar el componente arbóreo-arbustivo de las poblaciones y de fragmentos buscando su conservación.

*Palabras clave:* fitosociología, TWINSpan, agrupación florística, análisis multivariado.

## INTRODUCTION

The Atlantic Forest Biome occupies 15 % of the Brazilian territory and presents a variety of formations, among them the Mixed Ombrophilous Forest or Araucaria Moist Forest, which is considered one of the main formations of the South Region of Brazil (Higuchi *et al.* 2012). Nevertheless, the constant anthropic action in these environments, caused by the expansion of areas with agriculture and livestock, as well as the planting of *Pinus* and *Eucalyptus* genera, resulted in the fragmentation and degradation of these ecosystems. As consequence, currently, this formation is considered one of the most threatened phytophysiognomies among the forest formations of the country, remaining only 7 % of the original cover (Vibrans *et al.* 2012).

The High Altitude Fields, also known as Campos de Cima da Serra, are found in the extreme South of Brazil, in the region of Brazilian South Plateau. This vegetation forms, frequently, mosaics with the Mixed Ombrophilous Forest, characterizing a forest-field transition system, strongly influenced by human activities (Pillar *et al.* 2009). In these places, studies are necessary, taking into account the phytosociological aspects of the forest community. This can be performed by means of multivariate techniques such as the cluster analysis, seeking to identify the groups of species that share similar environmental affinities and usually occupy the same places in a determined landscape (Adel *et al.* 2014). This way, these can be used to indicate environmental complexes, based on the presence and abundance of different indicator species (Goebel *et al.* 2001).

In this sense, identifying the formation of cluster of species constitutes itself in an important tool used to classify vegetation, as well as a source of information about the spatial distribution of the same (Pajares and Rosselo 1995). Therefore, the knowledge of the phytosociological behavior of natural populations, associated with the information about the structure, allows inferring about the conservation strategies of species, as well as subsidizing information for the ecosystem management, enrichment and/or recovering of changed areas (Dengler *et al.* 2008).

According to what exposed before, the aim of the study is to characterize the arboreal-shrubby component of remnants of Mixed Ombrophilous Forest. Sought to answer the following questions: a) what is the current situation of vegetation in the studied fragments? b) do these fragments form cluster in the arboreal component of vegetation? c) which species is responsible for the main existent formation(s)? d) is it possible to identify strategies of management by means of phytosociology in a catalogue of a single occasion?

## METHODS

The area of study is located in Sao Francisco de Paula, Rio Grande do Sul State, Brazil (29° 17' 56" S and 50° 34' 12" W), average altitude of 907 m (figure 1). The climate



**Figure 1.** Geographical location of the study area in the state of Rio Grande do Sul State, Brazil.

Localización geográfica del área de estudio en el estado de Rio Grande do Sul, Brasil.

of the region is classified as subtropical, of fundamental type Cfb (Alvares *et al.* 2013) and the dominant soils in the region were classified by Streck *et al.* (2008) as Cambisols and Neosols. The region is called as Campos de Cima da Serra, in which the fields form mosaics with the Mixed Ombrophilous Forest, characterizing systems of forest-field transition (Pillar *et al.* 2009).

The survey of vegetation was performed in four forest fragments, denominated as Fragment 1 (9 ha, with 17 plots), Fragment 2 (9 ha, with 14 plots), Fragment 3 (2 ha, with 7 plots) and Fragment 4 (9 ha, with 19 plots), totalizing 57 plots.

In the vegetation survey of the arboreal and shrubby component were established four classes of size: Class I – arboreal strata, individuals with  $CAP \geq 30$  cm, evaluated in plots of 10 m x 20 m; Class II – arboreal strata, individuals with  $15 \leq CAP < 30$  cm, in plots of 10 m x 10 m; Class III – established natural regeneration, woody individuals with  $3 \leq CAP < 15$  cm, in plots of 5 m x 5 m; Class IV – bank of seedlings, individuals with height  $\geq 30$  cm and  $CAP < 3$  cm, in plots of 2 m x 2 m.

The botanical material of all the species observed was herborized in the Forest Herbarium from Department of Forest Sciences, from Federal University of Santa Maria (UFSM). The species were classified in the botanical families recognized by Angiosperm Phylogeny Group IV (Chase 2016), and the scientific binomials were updated according to Forzza *et al.* (2020).

The data of the forest catalogue originated a matrix parcel x species, formed by 57 plots (lines) and 34 species



(columns), for the species with  $CAP \geq 30$  cm (Class I), excluding the rare, considered with less than five individuals. Afterwards, the matrix was used in a multivariate analysis by TWINSpan method (TWO-way INDicator SPecies ANalysis) (Gauch 1982), using the PC-ORD™ program for Windows, version 5.10. The use of this method allows the classification of groups of plots that characterize microhabitats, based on the density of individuals of the different species present. At each site, the indicator and preferred species of the environment are defined (Araujo *et al.* 2004). The method provides the explained variance, indicated by the division eigenvalue, which above 0.3 is considered to be of strong relevance in determining the data variation (Felfili *et al.* 2001). For attenuating the effects of the deviations provoked by very elevated values of abundance, there was the necessity of transformation of these ones, applying  $\ln(a+1)$ , where “a” represents the number of individuals in each parcel (Carvalho *et al.* 2005).

The levels of cutting to characterize the pseudo-species were determined based on the densities observed for the species in each parcel, where 0 (0 or 1 individual), 2 (2 to 4), 5 (5 to 7), 8 (8 to 9), and 10 (10 or more individuals), representing the pseudo-species 1, 2, 3, 4 and 5, respectively. The formed groups were analyzed in relation to the floristic composition and structure, using parameters as density, dominance and absolute frequency, besides the percentage importance value (Felfili and Rezende 2003), seeking to define structural differences present in each place, based on the classes of size evaluated. In addition, according to the same authors, the diversity of species in community level was obtained by Shannon Diversity Index ( $H'$ ) and the equability (J).

## RESULTS

Considering all the classes studied, 65 species were sampled, belonging to 49 genera and 30 botanical families. Nevertheless, analyzing the species belonging to the arboreal strata (Class I:  $CAP \geq 30$  cm), 755 individuals  $ha^{-1}$  of 51 species, 43 genera and 29 families were found. The Diversity Shannon index ( $H'$ ) was of 2.97, indicating low diversity associated with reduced equability (J) (0.44), in response to the predominance of few species.

The classification by the TWINSpan method divided the vegetation into three floristic groups. This way, the first division presented a self-value of 0.33, originating the Group 1 (GR1). The second division, with a self-value of 0.34, classified Groups 2 (GR2) and 3 (GR3). The group 1, although belonging to Mixed Ombrophilous Forest, presented higher number of species characteristic of riparian forest. The group 2 represents a remnant of Mixed Ombrophilous Forest under the influence of intensive use of fields in livestock, while the group 3 represents an atypical situation of the region, with the predominance of *Eucalyptus* spp., used in the recovery of slope after the flooding of the dam, and also the occurrence of species strongly influen-

ced by the depth of soil, as well as the hydric saturation in longer periods of time.

The groups formed in this study, with the respective plots, indicators and preferable species, can be visualized in figure 2. The indicator species of GR1 (formed by 34 plots) were *Eugenia uruguayensis* Cambess. and *Myrsine coriacea* (Sw.) R. Br. both represented by pseudo-species 1, occurring in 29 and 15 plots, respectively. In GR2 (formed by 21 plots), there was not indicator species, and the group was defined by the preferable species: *Blepharocalyx salicifolius* (Kunth) O. Berg, *Calypttranthes concinna* DC. and *Myrciaria delicatula* (DC.) O. Berg with the pseudo-species 1. *Myrceugenia cucullata* D. Legrand with the pseudo-species 2, *Araucaria angustifolia* (Bertol.) Kuntze (pinheiro-brasileiro) and *M. cucullata* with the pseudo-species 3 and *A. angustifolia* also with the pseudo-species 4. The indicator species of GR3 (2 plots) was *Symplocos uniflora* (Pohl) Benth. represented by pseudo-species 2 (figure 2).

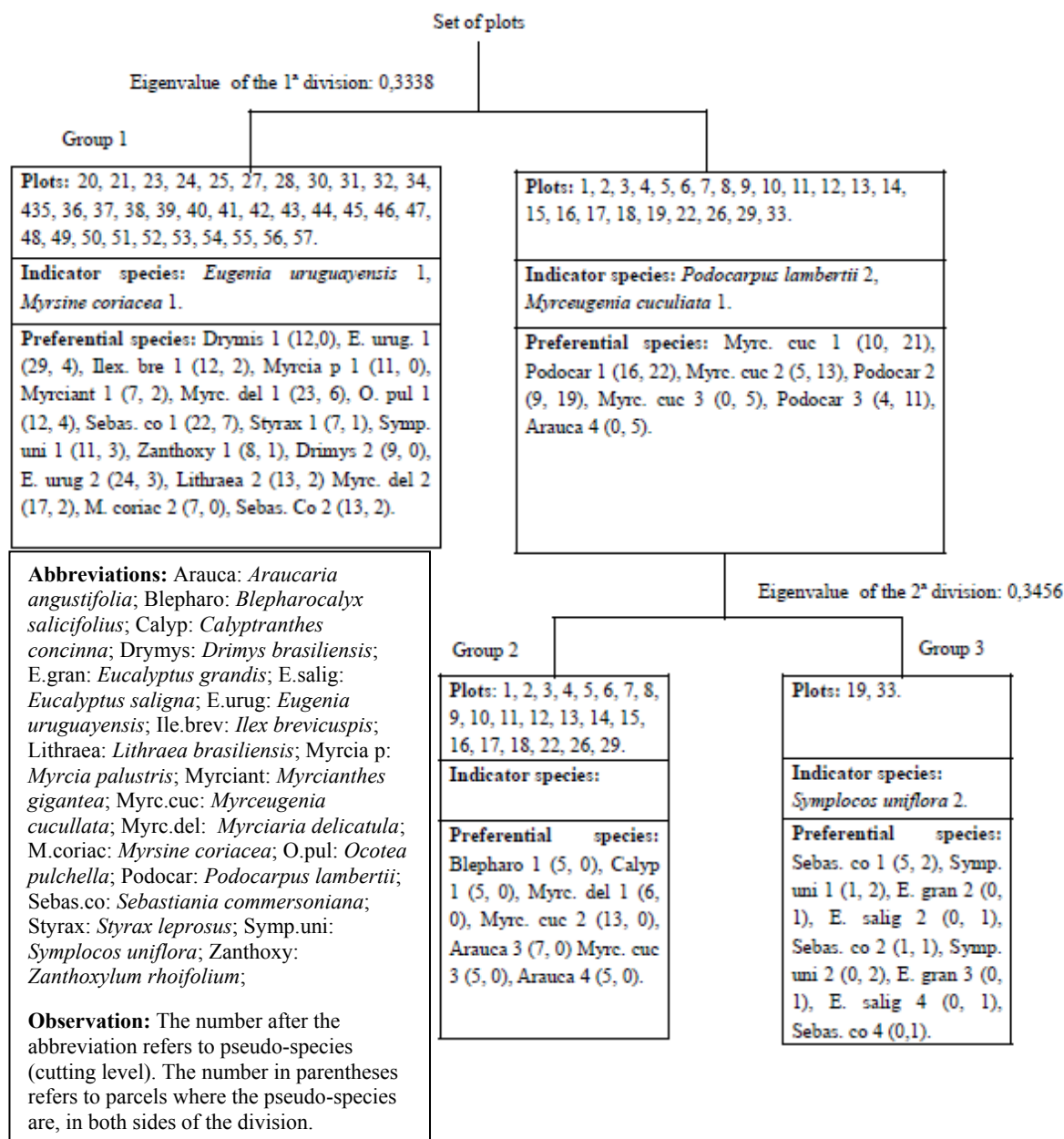
In the structure of GR1, approximately 815 individuals  $ha^{-1}$  belonging to 42 species, 36 genera and 24 botanical families were found. Among the species belonging to this group, considering the Class I ( $CAP \geq 30$  cm), the ones that presented the highest value of importance were *A. angustifolia*, *Gymnanthes klotzschiana* Müll.Arg., *E. uruguayensis*, *Podocarpus lambertii* Klotzsch ex Endl. and *Lithraea brasiliensis* Marchand, representing 51.6 % of the horizontal structure of this group (table 1).

In this study, *A. angustifolia* obtained superior prioritizing due to the elevated values of density (DA: 119.1 individuals  $ha^{-1}$ ), dominance (DoA: 6.9  $m^2 ha^{-1}$ ) and frequency (FA: 88.2 %) (table 1). While *G. klotzschiana* and *E. uruguayensis*, although the elevated values of density of 110.3 and 100 individuals  $ha^{-1}$  and frequency of 64.7 and 73.5 %, presented low dominance (3.3 and 2.1  $m^2 ha^{-1}$ ), respectively.

*Podocarpus lambertii* and *L. brasiliensis*, however, presented another behavior, given the intermediate value for all the parameters (DA: 64.7 and 55.9 individuals  $ha^{-1}$ ; DoA: 3.5 and 2.9  $m^2 ha^{-1}$ ; FA: 44.1 and 64.7 %, respectively). Despite the similar dominance in relation to the two species quoted before, *P. lambertii* and *L. brasiliensis* have a little more than half the number of individuals, proving their larger diametric size in the area of study.

In GR1, for the classes that represent the individuals of smaller dimensions (Classes II, III and IV) (table 1), *A. angustifolia* and *P. lambertii* are not present in the bank of seedlings (Class IV), besides being little represented in the established natural regeneration (Class III). Besides them, *L. brasiliensis* is absent in the classes of lower size (Classes III and IV).

For the species belonging to Group 2, 667 individuals  $ha^{-1}$ , belonging to 30 species, 26 genera and 17 families, were found. Among the species that presented the highest value of importance, there are *A. angustifolia*, *P. lambertii*, *M. cucullata*, *L. brasiliensis* and *G. klotzschiana*, representing 70.2 % of the structure of the forest (table 1).



**Figure 2.** Classification of sampled units in three floristic groups for Class I (CAP ≥ 30 cm), Mixed Ombrophilous Forest, RS, Brazil.  
Clasificación de las unidades muestreadas en tres grupos florísticos para Clase I (CAP ≥ 30 cm), Bosque Umbrófilo Mixto, RS, Brasil.

*Araucaria angustifolia* and *P. lambertii* presented similarity among the evaluated parameters (table 1). In relation to *M. cucullata*, it is highlighted its presence in all the classes of size (table 1). Similarly to what was observed in GR1, *L. brasiliensis* is not represented in the classes of lower size (established natural regeneration and bank of seedlings) and *G. klotzschiana*, was absent in Class II.

In GR2, besides *A. angustifolia* and *M. cucullata*, it is worth to highlight *Ocotea pulchella* (Nees) Mez, *Annona neosalicifolia* H. Rainer, *C. concinna*, *M. delicatula* and *Myrciaria floribunda* (West ex Willd.) O. Berg presented

as “Others” in table 1 and which are well represented in all the classes, which will probably support their perpetuation throughout time. Likewise, noteworthy are *Daphnopsis racemosa* Griseb., *Stillingia oppositifolia* ex Müll.Arg., *Rudgea parquoides* (Cham.) Müll.Arg. and *Rudgea jasminoides* (Cham.) Müll. Arg. (“Others”) as shrubby species, which are not found in Class I.

In Group 3, 675 individuals ha<sup>-1</sup> belonging to six species, five genera and four botanical families (table 1) were found. The species better prioritized were *P. lambertii*, *Eucalyptus saligna*, *A. angustifolia*, *G. klotzschiana* and *E-*

**Table 1.** Phytosociological parameters of species belonging to floristic groups, Mixed Ombrophilous Forest, RS, Brazil.  
Parâmetros fitosociológicos de espécies pertencentes a grupos florísticos, Bosque Umrófilo Mixto, RS, Brasil.

Species	Class I			Class II			Class III			Class IV				
	DA	DoA	FA	VI	DA	DoA	FA	VI	DA	DoA	FA	VI	DA	FA
<b>Group 1</b>														
<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze	119.1	6.91	88.2	15.7	32.4	0.11	20.6	4.9	11.8	0.006	2.9	0.4	-	-
<i>Gymnanthes klotzschiana</i> Müll.Arg	110.3	3.31	64.7	10.6	70.6	0.30	14.7	8.7	235.3	0.007	23.5	4.4	882.4	20.6
<i>Eugenia uruguayensis</i> Cambess	100	2.11	73.5	9.3	79.4	0.37	52.9	13.4	82.4	0.002	14.7	1.9	220.6	8.8
<i>Podocarpus lambertii</i> Klotzsch ex Endl	64.7	3.48	44.1	8.1	11.8	0.05	11.8	2.3	11.8	0.002	2.9	0.3	-	-
<i>Lithraea brasiliensis</i> Marchand	55.9	2.90	64.7	7.9	11.8	0.04	11.8	2.2	-	-	-	-	-	-
Others (52 species)	364.8	12.87	493.7	48.3	405.6	1.84	282	68.4	4965	0.16	479	93.0	13309	308
TOTAL	814.7	31.60	829.4	100	611.8	2.74	394	100	5306	0.17	524	100	14412	338
<b>Group 2</b>														
<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze	185.7	19.12	95.2	29.1	109.5	0.46	52.4	23.5	133.3	0.003	33.3	2.4	595.2	23.8
<i>Podocarpus lambertii</i> Klotzsch ex Endl	190.5	11.23	95.2	23.4	61.9	0.26	28.6	13.3	-	-	-	-	238.1	9.5
<i>Myrcogenia cucullata</i> D. Legend	59.5	1.58	66.7	8.0	161.9	0.51	76.2	31.5	476.2	0.05	119	12.3	1309.5	52.4
<i>Lithraea brasiliensis</i> Marchand	31	2.23	47.6	5.9	4.8	0.02	4.8	1.4	-	-	-	-	-	-
<i>Gymnanthes klotzschiana</i> Müll.Arg	19	1.97	23.8	3.8	-	-	-	-	285.7	0.02	71.4	6.9	238.1	9.5
Others (43 species)	180.9	8.01	257.4	29.6	114.4	0.53	95.4	30.4	3313	0.28	829	78.3	10952	438
TOTAL	666.7	44.16	585.7	100	452.4	1.79	257	100	4210	0.36	1052	100	13333	533
<b>Group 3</b>														
<i>Podocarpus lambertii</i> Klotzsch ex Endl	125.0	3.77	100.0	21.9	300.0	0.98	100.0	28.9	-	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus saligna</i> Sm	200.0	3.93	50.0	21.8	50.0	0.25	50.0	8.3	-	-	-	-	-	-
<i>Araucaria angustifolia</i> (Bertol.) Kuntze	75.0	5.30	50.0	18.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Gymnanthes klotzschiana</i> Müll.Arg	125.0	1.03	100.0	16.6	200.0	0.79	50.0	19.5	200.0	0.001	50.0	4.7	200.0	50.0
<i>Eucalyptus grandis</i> W. Hill ex Maiden	125.0	2.63	50.0	15.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Others (12 species)	25.0	0.20	50.0	5.8	350.0	1.11	250.0	43.3	4600	0.12	550.0	95.4	4600.0	550.0
TOTAL	675.0	16.89	400.0	100	900.0	3.15	450.0	100	4800	0.12	600.0	100	4800.0	600.0

Where: DA: absolute density (individuals ha<sup>-1</sup>); DoA: absolute dominance (m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>); FA: absolute frequency (%); VI: value of importance (%); Class I: CAP ≥ 30 cm; Class II: 15 ≤ CAP < 30 cm; Class III: 3 ≤ CAP < 15 cm; Class IV: height ≥ 30 cm and CAP < 3 cm.

*calyptus grandis* Hill (ex Maiden). These species together sum up 94.1 % of the horizontal structure, characterizing thus, the group under studying.

Among these species, the presence of *P. lambertii* and *A. angustifolia* (table 1) is characteristic of the formation in study (Mixed Ombrophilous Forest). Together with this, the presence of *G. klotzschiana* in all the classes confirms its environmental preference for riparian environments, with more important hydric saturation, as the situation found in this group.

## DISCUSSION

The diversity and equability in class I, associated with the floristic richness are low values when compared with Araujo *et al.* (2010), who, evaluating the arboreal strata (CAP  $\geq$  30 cm) of a forest remnant in National Forest of Sao Francisco de Paula (FLONA), observed the presence of 86 species belonging to 60 genera and 34 families. This divergence is possibly related to the occupation history of the area and to the state of preservation of the remnants, having in mind that FLONA is a unit of conservation, in which there is low intensity of alteration. This is corroborated by Li *et al.* (2012), who report that the human activities change the standards of the vegetation distribution.

When analyzing the floristic composition of Class I (CAP  $\geq$  30 cm) in GR1, values higher than those observed in GR2 were observed, both in structure and in floristic richness. In different clusters formed in vegetation of FLO-NA of Sao Francisco de Paula, Araujo *et al.* (2010) found in one of the groups, which was also characterized by the presence of species that are typical of riparian forest, 877 individuals.ha<sup>-1</sup>, 55 species, 42 genera and 23 families. These results demonstrate the similarity of the studied environments in relation to structure (density), corroborating with Pagano and Durigan (2000), who described that in humid soils occurs elevated density of arboreal vegetation, however with richness expressively lower, possibly determined by the fragmentation of the areas and the lower flow of the dispersing fauna.

The GR2, although presents lower number of individuals (DA: 666.7 individuals ha<sup>-1</sup>) in relation to GR1 (DA: 814.7 individuals ha<sup>-1</sup>), has higher total basal area (DoA: 44.2 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>) when compared to GR1 (DoA: 31.6 m<sup>2</sup> ha<sup>-1</sup>) (table 1). This fact indicates the presence of individuals with diameter expressively larger in GR2, possibly due to the lower influence of water and the lower competition of the regenerating individuals, characterizing a structural difference of these two environments. Despite the best prioritization of *A. angustifolia* in GR1 (15.7 %), this was not an indicator, a fact explained by its expressive representativeness also in GR2, condition that is different from that of *E. uruguayensis* and *M. coriacea*, which occurred, basically, in GR1.

In GR1, the absence of *A. angustifolia* in the bank of seedlings (Class IV) and its low representativeness in es-

tablished natural regeneration (Class III) diverge from the results found by Duarte *et al.* (2002) who observed the occurrence of this species in different levels of irradiance. *A. angustifolia* was classified as presenting pioneer behavior (Ferreira *et al.* 2013) until late secondary (Duarte *et al.* 2002), nevertheless, despite evincing this plasticity in its development in relation to the conditions of luminosity, this was not verified in the present study, considering the absence of the same in the low story.

*Podocarpus lambertii*, species classified as initial secondary and late secondary (Chami *et al.* 2011), also presented the same behavior as that seen in *A. angustifolia* in the classes of lower size (table 1). This confirms what described Backes (1983), when characterizing the stratification of vegetation of Mixed Ombrophilous Forest in four strata, being the second stratum formed predominately by *P. lambertii*, among other species.

Besides that, *L. brasiliensis* is not represented in the classes of smaller size (Classes III and IV) (table 1), however, in this case, this situation is attributed to the pioneer character of the species (Ferreira *et al.* 2013), indicating that in conditions of low light intensity, this species cannot thrive itself. Pioneer species emerge after disturbances that expose the soil to light, because their seeds, generally, present larger longevity (Swaine and Whitmore 1988).

This way, the absence of *L. brasiliensis* in the smaller classes indicates that without the canopy opening, this species has lower chance to remain in the forest. In the case of *A. angustifolia*, although it is also classified as pioneer (Ferreira *et al.* 2013), its presence only in the established natural regeneration allows inferring that the same does not have bank of seeds of soil, because it presents recalcitrant seeds (Araldi and Coelho 2015). Its perpetuation is assured by established natural regeneration; however, it depends on monitoring in the bank of seedlings.

On the other hand, *G. klotzschiana* and *E. uruguayensis* are well represented in all the studied classes, suggesting their higher possibility of conservation in the environment (GR1). This fact occurred probably due to their greater plasticity in relation to the conditions of luminosity, because they present behavior of heliophytic species, but also are considered pioneers to the late secondaries. Besides that, it is worth to highlight that both species present characteristics to occur in alluvial forests and gallery forests (Reitz *et al.* 1983), environments similar to the ones of GR1. Such phytosociological characteristics observed in *G. klotzschiana* and *E. uruguayensis* allow indicating them both to the enrichment of forests and to the recovery of areas of full sun, throughout the watercourses in the region.

In GR1, besides *G. klotzschiana* and *E. uruguayensis*, which are among the five ones better ranked and present in all the classes, it is worth to highlight *M. delicatula*, *O. pulchella*, *Drimys brasiliensis* Miers, *B. salicifolius*, *Cinnamomum amoenum* (Nees) Kosterm., *Styrax leprosus* Hook. et Arn., *M. cucullata*, *C. concinna*, *Myrcia palustris*



DC., *Zanthoxylum rhoifolium* Lam., *Roupala brasiliensis* Klotzsch, *Casearia decandra* Jacq. and *G. klotzschiana*, which are among the species represented as "Others" (table 1), and that also present favorable situation for their perpetuation in this environmental condition (GR1). *Daphnopsis racemosa*, *R. parquoides*, *Miconia hiemalis* A.St.-Hil. et Naudin ex Naudin and *Miconia cinerascens* Miq., cited as "Others", can also be highlighted as shrubby species, consequently, they were not found in the canopy of the forest. The elevated value of importance obtained in Class III (data not presented) is the best condition for these species, considering that they use different synusiae.

In GR2, absolute dominance was the main parameter that defined the hierarchy of *A. angustifolia* and *P. lambertii* (table 1). According to Carvalho (2003), the individuals of Brazilian-pine reach larger size, considering, besides the height, the diameter. Besides that, we highlight the fact that this species is presented in all the classes of size evaluated for this group. This fact was not verified for *P. lambertii* because it is absent in established natural regeneration (table 1). This fault occurred, probably, due to past events that were not explained by the punctual analysis, they can only be proven in studies of dynamics.

*Myrceugenia cucullata*, which was present in all the classes, belongs to the ecological group of initial secondaries to late secondaries (Chami *et al.* 2011), proven by the phytosociological parameters, which in Class II presented higher values in relation to Class I, indicating the best development of these individuals even under the canopy, a condition with more important intensity of shading. *Gymnanthes klotzschiana* was not sampled in Class II, which is possibly associated with wood extraction, since the species is an excellent producer of firewood and coal, with elevated calorific power (Carvalho, 2003), a fact confirmed by local residents who affirmed the removal of individuals of this species for this purpose.

However, when comparing the species in Class I with higher value of importance in GR1 and GR2, it was observed that, with exception of *E. uruguayensis* and *M. cucullata*, all the other species are among the most representative in both groups. Such fact indicates that the groups formed, although they present structural characteristics considerable peculiar, present similar floristic composition, representing the typical field-forest transition.

On the other hand, we observe in GR1, besides the larger total number of individuals, the larger proportion of species occurring in all the classes of size (8.7 %), in relation to GR2 (3.4 %), which indicates the negative influence of the presence of cattle in the classes of smaller size for this group.

Yet, GR3 is different from the others due to the presence of exotic species, besides the presence of species that are strongly influenced by the deepness of soil, characterized exclusively in these plots as Cambisol, as well as by the hydric saturation. The presence of exotic species, among the most representative ones, is worth to be highlighted,

because the process of dispersion of an exotic species can result in the expansion of the area of its occurrence. In this case, when the exotic species starts to dominate the environment provokes negative effects in the place, a fact that in the original condition was not evinced. This way, a possible eradication of this exotic species must be evaluated, because the bank of seeds under action of higher luminosity can germinate and thus increase the presence of the species in the area.

Although the High Altitude Fields and the few remnants of Mixed Ombrophilous Forest are being strongly pressured due to, mainly, the advance of cyclical cultures, pastures, livestock and cultivation of *Pinus* and *Eucalyptus* genera (Pillar *et al.* 2009), the catalogue did not show species of *Pinus* genera in none of the classes catalogued, indicating that the species, even being considered as invasive, is not compromising the vegetation of the areas under study. However, because it is a heliophytic species that needs high light intensity to develop similar to *Eucalyptus* spp., it is fundamental the maintenance of the forest fragments avoiding the entrance of seeds by anemochoric dispersion and its consequent germination and establishment in the interior of these fragments.

## CONCLUSIONS

The forest fragments about Campos de Cima da Serra presented low floristic richness of typical species of Mixed Ombrophilous Forest. From this typical environment we highlight two main groups, one characteristic of riparian forest and the other of *capões*<sup>1</sup>.

In riparian forests (GR1), *Eugenia uruguayensis* and *Gymnanthes klotzschiana* stand out. In *capões* (GR2), the predominant species were *Araucaria angustifolia*, *Podocarpus lambertii* and *Myrceugenia cucullata*.

In riparian forests, the mixture of species from different ecological groups demonstrates that the forest is in a dynamic process of succession. GR2 (*capões*) presents negative influence of cattle in its composition and structure.

The condition of species in different classes associated with their ecological characteristics allows identifying possible strategies for the perpetuation of the arboreal-shrubby component of population and management of fragments aiming at its conservation.

## REFERENCES

- Adel MN, H Pourbabaei, DC Dey. 2014. Ecological species group - Environmental factors relationships in unharvested beech forests in the north of Iran. *Ecological Engineering* 69: 1-7. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.03.008>
- Alvares CA, JL Stape, PC Sentelhas, JLM Gonçalves, G Sparovek. 2013. Köppen's climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift* 2: 1-18. DOI: <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>

<sup>1</sup> *Capões*: are true islands of shrub-tree vegetation that stand out in the landscape.



- Araldi CG, CMM Coelho. 2015. Establishment of post-harvest early-developmental categories for viability maintenance of *Araucaria angustifolia* seeds. *Acta Botânica Brasileira* 29(4): 524-531. DOI: <https://doi.org/10.1590/0102-33062015abb0061>
- Araujo MM, SJ Longhi, DA Brena, PLC de Barros, S Franco. 2004. Análise de agrupamento a vegetação de um fragmento de Floresta Estacional Decidual Aluvial, Cachoeira do Sul, RS, Brasil. *Ciência Florestal* 14(1): 133-147.
- Araujo MM, L Chami, SJ Longhi, AL de Avila, DA Brena. 2010. Análise de agrupamento em remanescente de Floresta Ombrófila Mista. *Ciência Florestal* 20(1): 1-18. DOI: <https://doi.org/10.5902/198050981755>
- Backes A. 1983. Dinâmica do pinheiro brasileiro. *Iheringia* 30(1): 49-84.
- Carvalho DA, ATF Oliveira, EA Vilela, N Curi, EVD Berg, MAL Fontes, L Botezelli. 2005. Distribuição de espécies arbóreo-arbustivas ao longo de um gradiente de solos e topografia em um trecho de floresta ripária do Rio São Francisco em Três Marias, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 28(2): 329-345. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-84042005000200013>
- Carvalho PER. 2003. Espécies arbóreas brasileiras. Brasília, Brasil. Embrapa Informações Tecnológicas. 1039 p.
- Chami LB, MM Araujo, SJ Longhi, P Kielsei, AD Lúcio. 2011. Mecanismos de regeneração natural em diferentes ambientes de remanescente de Floresta Ombrófila Mista, São Francisco de Paula, RS. *Ciência Florestal* 41(2): 251-259. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0103-84782011000200012>
- Chase MW. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 2016: 181(1): 1-20. DOI: <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Dengler J, M Chytrý, J Ewald. 2008. Phytosociology. In Jorgensen SE and BD Fath eds. *Encyclopedia of Ecology*. Oxford, UK. Elsevier. p. 2767-2779.
- Duarte LS, LR Dillenburg, LM Rosa. 2002. Assessing the role of light availability in the regeneration of *Araucaria angustifolia* (Araucariaceae). *Australian Journal of Botany* 50(1): 741-751. DOI: <https://doi.org/10.1071/BT02027>
- Felfili JM, AC Sevilha, MC da Silva Júnior. 2011. Comparação entre as unidades fisiográficas Chapada Pratinha, Veadeiros e Espigão Mestre do São Francisco. In Felfili JM, MC da Silva Júnior eds. *Biogeografia do Bioma Cerrado: estudo fitofisionômico na Chapada do Espigão Mestre do São Francisco*. Brasília, Brasil. UNB. p. 80-94.
- Felfili JM, RP Rezende. 2003. Conceitos e métodos em fitossociologia. Brasília, Brasil. Comunicações Técnicas Florestais. 68 p.
- Ferreira PI, JP Gomes, F Batista, AP Bernardi, NCF Costa, RLC Bortoluzzi, A Mantovani. 2013. Espécies potenciais para recuperação de áreas de preservação permanente no Planalto Catarinense. *Floresta e Ambiente* 20(6): 172-182. DOI: <http://dx.doi.org/10.4322/floram.2013.003>
- Forzza RC, AF Costa, BMT Walter, C Bicudo, CWN Moura, DF Peralta, D P da Costa, F de Barros, HCe de Lima, J Prado, JR Stehmann, JFA Baumgratz, JR Pirani, LS Sylvestre, LC Maia, LG Lohmann, L Paganucci, M Nadruz, MCH Mamede, ML Soares, MR Barbosa, M Menezes, MP Morim, N Roque, PHL Evangelista, PL Viana, R Goldenberg, R Secco, T Cavalcanti, V Mansano, VC Souza. 2020. Flora do Brasil 2020. Assess mar. 2020. Available from: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/PrincipalUC/PrincipalUC.do?jsessionid=99EBD3DA3ED8523FE621D580EDD95759>
- Gauch HG. 1982. *Multivariate analysis in community ecology*. Cambridge, UK. Cambridge University Press. 180 p.
- Goebel PC, BJ Palik, LK Kirkman, MB Drew, L West, DC Pederson. 2001. Forest ecosystems of a Lower Gulf Coastal Plain landscape: multifactor classification and analysis. *Journal of Torrey Botanical Society* 128(1): 47-75. DOI: <https://doi.org/10.2307/3088659>
- Higuchi P, AC Silva, TS Ferreira, ST Souza, JP Gomes, KM Silva, KF Santos, C Linke, PS Paulino. 2012. Influência de variáveis ambientais sobre o padrão estrutural e florístico do componente arbóreo, em um fragmento de Floresta Ombrófila Mista Montana em Lages, SC. *Ciência Florestal* 22(1): 79-90. DOI: <https://doi.org/10.5902/198050985081>
- Li J, S Dong, Z Yang, M Peng, S Liu, X Li. 2012. Effects of cascade hydropower dams on the structure and distribution of riparian and upland vegetation along the middle-lower Lancang-Mekong River. *Forest Ecology and Management* 284: 251-259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2012.07.050>
- Pagano SN, G Durigan. 2000. Aspectos da ciclagem de nutrientes em matas ciliares do Oeste do Estado de São Paulo, Brasil. In Rodrigues RR, HF Leitão Filho eds. *Matas ciliares: conservação e recuperação*. São Paulo, Brasil. EDUSP/FA-PESP. p. 109-123.
- Pillar VP, SC Müller, ZMS de Castilhos, AVA Jacques. 2009. *Campos Sulinos - conservação e uso sustentável da biodiversidade*. Brasília, Brasil. Ministério do Meio Ambiente. 409 p.
- Pajares PR, RE Rosselo. 1995. Natural black pine (*Pinus nigra* subsp. *salzmannii*) forest of Iberian eastern mountains: development of the phytoecological basis for their site evaluation. *Annals of Forest Science* 52: 589-606. DOI: <https://doi.org/10.1051/forest:19950606>
- Reitz R, RM Klein, A Reis. 1983. Projeto Madeira do Rio Grande do Sul. Itajaí, Brasil. Sellowia. 525 p.
- Streck EV, N Kämpf, RSD Dalmolin, E Klamt, PC do Nascimento, P Scheneider, E Giasson, LFS Pinto. 2008. Solos do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, Brasil. EMATER/RS-ASCAR. 222 p.
- Swaine MD, TC Whitmore. 1988. On the definition of ecological species groups in tropical rain forests. *Vegetation* 75: 81-86. DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/BF00044629>
- Vibrans AC, AL Gasper, JJV Müller. 2012. Para que inventariar florestas? Reflexões sobre a finalidade do inventário florístico florestal de Santa Catarina. *Revista de Estudos Florestais* 14 (1): 6-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.7867/1983-1501.2012v14n1p6-13>

Recibido: 20/04/20  
Aceptado: 17/09/20

NOTAS

***Ficus enormis* cuttings rooting:  
concentrations of indole butyric acid and seasonal variations**

Enraizamiento de esquejes de *Ficus enormis*:  
concentraciones de ácido indol butírico y variaciones estacionales

**Rosimeri de Oliveira Fragoso <sup>a\*</sup>, Carlos André Stuepp <sup>a</sup>, Antonio Aparecido Carpanezzi <sup>b</sup>,  
Ivar Wendling <sup>b</sup>, Katia Christina Zuffellato-Ribas <sup>c</sup>, Henrique Soares Koehler <sup>c</sup>**

<sup>a</sup>Corresponding author: <sup>a</sup>State University of Ponta Grossa, Ponta Grossa, Paraná, Brazil,  
tel.: 55-42-32203126, meri\_ol@yahoo.com.br

<sup>b</sup>Embrapa Forest, Colombo, Paraná, Brazil.

<sup>c</sup>Federal University of Paraná, Curitiba, Paraná, Brazil.

SUMMARY

Plants producing fruits for many months of the year, or at times when few species bear fruits, are highly valuable for restoration of degraded ecosystems due to their ability to attract and support dispersing fauna. An example of this are native fig trees such as *Ficus enormis*. Thus, in view of the difficulties for *F. enormis* seedlings production, we aimed at developing a method of cuttings propagation by evaluating the rooting and root vigor of cuttings from a field clonal garden. The experiment was established between June/2015 and May/2016 at Laboratory of Forest Species Propagation of Embrapa Florestas, in Colombo-PR. We evaluated collection of cuttings during three seasons (winter, spring and summer) and application of concentrations of indole-3-butyric acid - IBA (0, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 mg L<sup>-1</sup>). After 45 days of cuttings establishment in an acclimatized greenhouse, the best results for rooting, number of roots, average length of the three largest roots per cutting and maintenance of leaves and shoots were found in spring and summer. Using plant regulator did not influence the rooting or root vigor of propagules; the time of the year was the predominant factor to induce rooting. The results show that the cuttings technique with propagules from a clonal garden is efficient for producing *F. enormis* plants and can serve as a basis for the species propagation.

*Key words:* epicormic shoots, native species of Brazil, plant propagation, root vigor, vegetative propagation.

RESUMEN

Las plantas que producen frutos durante muchos meses del año, o en momentos en que pocas especies dan frutos, son de gran valor para la restauración de ecosistemas degradados debido a su capacidad para atraer y apoyar la fauna dispersora. Un ejemplo de esto son las higueras nativas como *Ficus enormis*. Por las dificultades para la producción de plántulas de *F. enormis*, fue evaluada la propagación de esquejes mediante enraizamiento y vigor de sus raíces de un jardín clonal de campo. El experimento se estableció entre junio/2015 y mayo/2016 en el Laboratorio de Propagación de Especies Forestales de Embrapa Florestas, en Colombo-PR. Se evaluó la recolección de esquejes durante tres estaciones (invierno, primavera y verano) y la aplicación de concentraciones de ácido indol-3-butírico - IBA (0, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 mg L<sup>-1</sup>). Después de 45 días de establecimiento de esquejes en un invernadero climatizado, los mejores resultados para el enraizamiento, el número de raíces, la longitud promedio de las tres raíces más grandes por corte, el mantenimiento de las hojas y los brotes se encontraron en primavera y verano. El uso del regulador de la planta no influyó en el enraizamiento y el vigor de las raíces de los propágulos, y la época del año fue el factor predominante para inducir el enraizamiento. Los resultados muestran que la técnica de esquejes con propágulos de un jardín clonal es eficiente para producir plantas de *F. enormis* y puede servir como base para la propagación de esta especie.

*Palabras clave:* brotes epicórmicos, especies nativas de Brasil, propagación de plantas, vigor de raíz, propagación vegetativa.

INTRODUCTION

In Brazil, degraded ecosystems have often been restored by planting mixed plots of tree species and by phy-

sically protecting the area (Rodrigues *et al.* 2009). When well designed and executed, mixed plots can help restore such areas. In this case, species are chosen to favor natural succession (Carpanezzi and Nicodemo 2009). In ge-

neral, plants that produce fruits for many months of the year, or in times when few species bear fruits, are highly valuable. Thus, an important step to increase the chances of successful restoration of degraded areas is choosing the species to be used (Volis 2016). However, many important species are not available in nurseries, which is frequently an obstacle. Such absence is due to the lack of information about the collection, processing, storage and germination of seeds, caused by the high heterogeneity and complexity of ecophysiological strategies that native species present (Pilon and Durigan 2013).

One example of this are the native fig trees of the *Ficus* genus, such as *Ficus enormis* Mart. ex Miq., which are considered important components in ecosystem dynamics as they attract dispersing fauna (Carpanezzi and Nicodemo 2009). *Ficus enormis* (family Moraceae) is an early secondary, evergreen species (Marmontel *et al.* 2013) that naturally occurs in the Northeast, Midwest, Southeast and Southern regions of Brazil, and is found in Caatinga, Cerrado and Atlantic Forest Biomes (REFLORA 2019). Adult trees are large, commonly reaching 25 m in height and up to 1.80 m in diameter at breast height (Pelissari and Romaniuc Neto 2013). Despite its importance in restoration, this species is frequently not found in nurseries due to its small sized seeds and the difficulty in processing and handling them.

Due to the difficulties in *F. enormis* seedlings production, rooted cuttings appear as a viable and relatively fast alternative of asexual reproduction, becoming more efficient as propagation protocols are established. Including vegetatively propagated seedlings is justified by the importance of including functional groups in restoration works, and the genetic basis of the species can be supplied by collecting cuttings from many matrices (Carpanezzi and Carpanezzi 2006). The factors responsible for successful rooting cuttings, as substrates, rooting environment, type of propagule and use of plant regulators, vary for each species (Santos *et al.* 2011), and it is essential to obtain viable propagules with good rooting capacity.

The maturation of propagules (ontogenetic ageing) is a determining factor in the adventitious rhizogenesis process. Propagules with a higher degree of juvenility tend to have superior rooting and root vigor (Stuepp *et al.* 2018). One technique used to maintain the juvenility of propagules is continuous pruning of the stock plants aiming at the induction of epicormic shoots (Heide 2018). However, few studies have evaluated the effect of this in native tree species of Brazil. Environmental influences, promoted by the different seasons, can also act on the endogenous levels of auxin of mother plants, influencing the cuttings rooting (Tombesi *et al.* 2015). For some species that have low endogenous concentrations of plant hormones linked to rhizogenesis, the application of synthetic auxins may contribute to increase the amount of free auxins in the propagules, favoring the process of root induction, and thus, the success of vegetative propagation (Pacurar *et al.* 2014). The addition of auxin has been verified in many

species and the necessary concentrations vary from species to species (Santos *et al.* 2011).

Thus, aiming at developing an efficient protocol for *F. enormis* rooted cuttings production, the objective of this study is to evaluate the effect of different concentrations of the synthetic auxin indole-3-butyric acid (IBA) on rooting and root vigor of stem cuttings from epicormic shoots derived from a clonal field garden, during three different seasons.

## METHODS

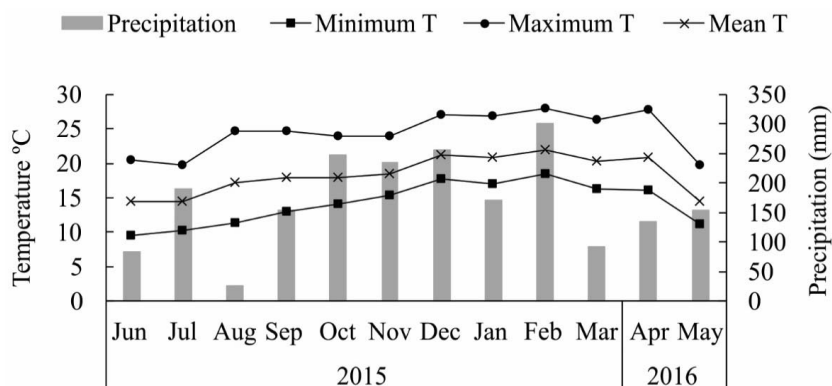
The experiment was established between June/2015 and May/2016 at Laboratory of Forest Species Propagation of Embrapa Florestas, in Colombo-PR (25°20' S and 49°14' W, 950 m). The local climate is Cfb type (Köppen classification), with average annual temperature of 16.6°C and average annual rainfall of 1596 mm, without water deficit and with frosts occurring in autumn and winter (figure 1).

The cuttings were obtained from stock plants established in 2001 in a field clonal garden, with 2 m x 1 m spacing, in the city of Colombo-PR, Brazil. To reinvigorate the stock plants, they were drastically pruned in March/2015, lowering them to an average height of 0.3 m from the soil to induce the emission of epicormic shoots. From this, shoots were collected for cuttings preparation and rooting in winter/2015, spring/2015 and summer/2016. Stem cuttings with 8±1 cm in length and diameter ranging from 0.4 ± 0.2 mm were made, maintaining two leaves in the terminal portion, reduced to 1/3 of their original surface area.

Cuttings received phytosanitary treatment with sodium 0.5 % hypochlorite solution for 10 minutes (bactericidal action) and were washed in running water for 10 minutes. Subsequently, the cuttings base was treated with indole-3-butyric acid (IBA) at concentrations of 0, 1000, 2000, 3000, 4000 and 5000 mg L<sup>-1</sup>, diluted in hydroalcoholic (1:1 v/v) solution for 10 seconds. Rooting was carried out in 110 cm<sup>3</sup> tubes, filled with medium-sized vermiculite and partially carbonized rice husk (1:1, v/v). Afterwards, the cuttings were established in a greenhouse, with intermittent misting and controlled temperature (20 °C to 30 °C) and relative humidity over 90 %.

After forty-five days, we evaluated: percentage of rooted cuttings, number of roots/cutting, length of the three largest roots/cutting (cm), percentage of cuttings with calluses, percentage of cuttings with roots and calluses, percentage of living cuttings that did not present root induction or callus formation, percentage of dead cuttings with necrotic tissues, percentage of cuttings with original leaves (living cuttings that maintained original leaf) and percentage of cuttings with shoots.

The experiment was set in a completely randomized design, with a factorial arrangement of 3 x 6 (3 seasons x 6 IBA concentrations), with four replications. Each replication consisted of 20 cuttings. The homogeneity of variances was verified using the Bartlett test and, when the ANOVA test showed statistical significance ( $P < 0.05$ ), the Tukey



**Figure 1.** Maximum, minimum and average temperatures and accumulated rainfall in Colombo-PR, Brazil region between March/2015 and May/2016 (SIMEPAR/PR).

Temperaturas máximas, mínimas y medias y precipitaciones acumuladas en la región de Colombo-PR, Brasil, entre marzo/2015 y mayo/2016 (SIMEPAR/PR).

test was used to determine significant differences ( $P < 0.05$ ) between individual means. To verify the relationship between percentage of rooted cuttings and the variables leaf maintenance and shoot emission, as well as with average temperatures of the region (figure 1), a Pearson's correlation analysis ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ ) was performed.

## RESULTS

The ANOVA revealed a significant interaction between season and plant regulator factors for number of roots per cutting and percentage of cuttings with shoots. However, regarding factors individual analyses, seasons significantly affected all variables analyzed. For IBA application, there was a significant difference for number of roots per cutting and percentages of cuttings with calluses and with shoots.

In general, the variables that responded to the interaction between season and plant regulator presented higher values in spring and summer, under the concentrations of  $4000 \text{ mg L}^{-1}$  and  $5000 \text{ mg L}^{-1}$  (table 1).

These results are confirmed by the individual analysis of the factors. These revealed higher rooting percentages, number of roots and average length of the three largest roots per cutting and percentages of leaf maintenance and shoot emission in the warmer seasons (figure 2). On the other hand, we observed the highest percentages of cuttings with calluses, living cuttings without roots or calluses and dead cuttings in winter, however with values below 20 %.

The correlation analysis between average temperatures of each season and rooting percentages showed a positive correlation of 0.95. Cuttings rooting presented positive correlations of 0.70 and 0.60 in relation to leaf maintenance and shoot emission, respectively.

Another important result refers to high callus formation in rooted cuttings, especially in spring and summer

(figure 3). In these seasons, more than 80 % of the rooted cuttings presented callus formation.

## DISCUSSION

Studies indicate that during the hottest periods of the year, many plants experience intense vegetative growth, thus, produce higher amounts of auxins, carbohydrates and rooting cofactors (Salmi and Hesami 2016). High temperatures, along with higher precipitation and radiation, directly interfere in growth and development of apical meristems, which are the main sites for auxin synthesis in plants (Zhao 2018). However, during the winter, when temperatures are lower, woody plants become dormant to protect their meristems by reducing exchange rate activities and increasing concentrations of phenolic compounds and inhibitors, which temporarily ceases their growth (Ding and Nilsson 2016). Thus, the highest concentrations of endogenous auxins, possibly present in the parent plants during spring and summer, and lowest concentration of inhibitors may have been responsible for the production of more vigorous shoots, favoring the highest rooting percentages. In fact, the correlation analysis between average temperatures of each season and rooting percentages showed a positive correlation close to 1.00, which has also been verified in other studies (Fragoso *et al.* 2015). Similarly, the higher number of roots values and average length of the three largest roots per cutting demonstrate the high root vigor of the cuttings collected in these seasons, which may reflect on the stability, survival and development of seedlings in the field (Stuepp *et al.* 2017).

Nevertheless, even the lowest rooting percentages obtained in winter were higher than 60 %, regardless of the IBA application, which is possibly related to the vigor of the used cuttings (Nascimento *et al.* 2018). As already mentioned, materials with a higher degree of juvenili-



**Table 1.** Averages of number of roots per cutting and percentage of cuttings with shoots in *F. enormis* cuttings, installed in three seasons under six concentrations of indole-3-butyric acid (IBA).

Promedios de número de raíces por esqueje y porcentaje de esquejes con brotes en esquejes de *F. enormis*, instalados en tres estaciones bajo seis concentraciones de ácido indol-3-butírico (IBA).

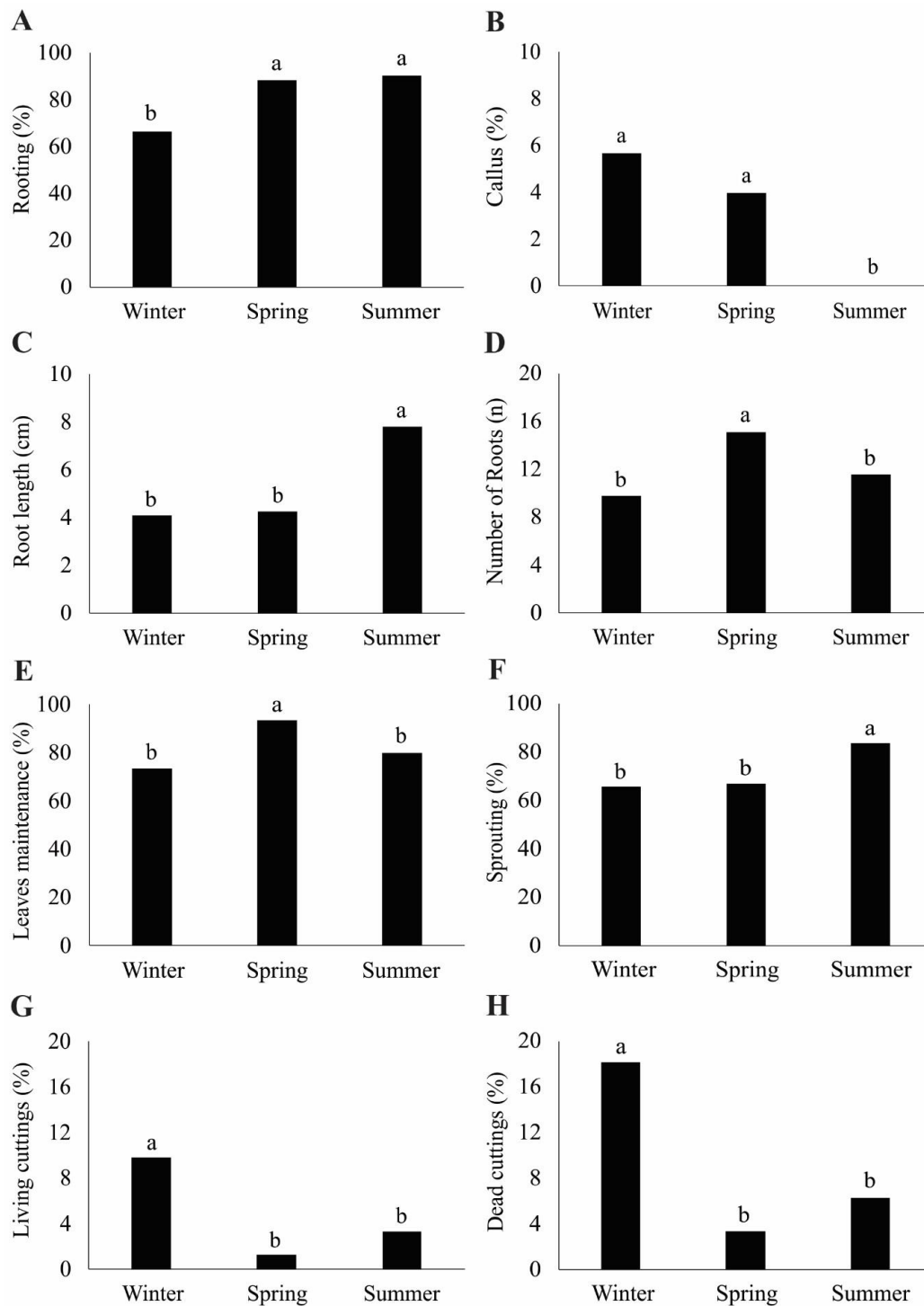
Number of roots per cutting						
IBA (mg L <sup>-1</sup> )	Winter		Spring		Summer	
0	6.28	a A	10.91	c A	10.43	a A
1000	7.89	a B	12.16	bc AB	13.54	a A
2000	9.04	a A	12.38	bc A	12.14	a A
3000	12.49	a A	13.50	bc A	11.80	a A
4000	11.70	a B	18.22	ab A	11.55	a B
5000	11.30	a B	23.53	a A	10.00	a B
Coefficient of variation = 24.83 %						
Percentage of cuttings with shoots (%)						
IBA (mg L <sup>-1</sup> )	Winter		Spring		Summer	
0	62.50	a AB	45.00	bc B	87.50	a A
1000	60.71	a AB	41.25	c B	77.50	a A
2000	69.64	a A	66.25	abc A	81.25	a A
3000	66.07	a B	92.50	a A	77.50	a A
4000	58.93	a B	83.75	a AB	91.25	a A
5000	76.79	a A	72.50	ab A	87.50	a A
Coefficient of variation = 20.51 %						

Averages followed by the same lower case letter in column and capital letter on the line do not differ among them at  $P < 0.05$  using Tukey test.

ty tend to have higher concentrations of free auxins and, consequently, superior rooting and root vigor (Stuepp *et al.* 2018). In *F. enormis*, the high rooting percentages, regardless of the IBA application, suggest that the presence of auxins was not a limiting factor. The high concentration of free auxins in propagules with a higher degree of juvenility may be related to the reduced activity of peroxidase enzymes in these materials, which would be responsible for the degradation of endogenous auxins (Wendling *et al.* 2014). Studies also suggest that different auxin transport mechanisms may be involved in the larger availability of this hormone in juvenile propagules, favoring the high rooting percentages of these materials compared to propagules with a higher degree of maturity (Nakhooda *et al.* 2011, Stuepp *et al.* 2017). In the present study, the high vigor of the material used also demonstrates the efficiency of continuous pruning of *F. enormis* stock plants established in a field clonal garden to provide propagules with a higher degree of juvenility and good aptitude for adventitious rooting. Nonetheless, in the Mixed Ombrophilous Forest, frosts can affect *F. enormis* shoots in a clonal garden. Therefore, it is often not possible to obtain cuttings in the coldest autumn-winter period, usually from May 15 to the end of August.

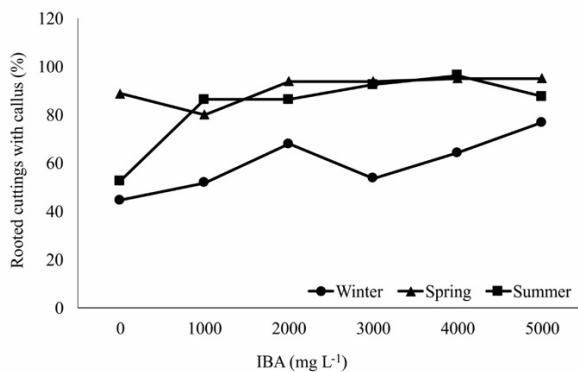
Similarly, the variables leaf maintenance and shoot emission were high (above 60 %) during all three seasons, although, significantly higher values were obtained in spring and summer when compared to winter (figure 2). As observed in other species (Fragoso *et al.* 2015, Tombesi *et al.* 2015), these results show a positive relationship between the variables leaf maintenance and cutting rooting, which presented a 70 % correlation. This relationship is, possibly, due to the supply of carbohydrates and hormones present in leaves, demonstrating the importance of maintaining them as essential metabolites for the rooting process (Tombesi *et al.* 2015). Similarly, regarding the emission of shoots, the positive correlation with rooting suggests that the process of shoot formation was not harmful to root system induction in *F. enormis* during any of the evaluated seasons. In some species, the emission of shoots prior to rooting can lead to the depletion of carbohydrates and auxins present in the propagules that would be required in the rhizogenesis process, making it difficult to form adventitious roots (Hartmann *et al.* 2011). In *F. enormis*, however, the rooting of the cuttings started very early, about 2-3 weeks after installation, favoring the formation of roots prior to the shoots emission.





**Figure 2.** Averages of rooting (A), callus formation (B), average length of the three largest roots per cutting (C), number of roots per cutting (D), leaf maintenance (E), shoot emission (F), living cuttings without roots or calluses (G) and dead cuttings (H) in *F. enormis* cuttings installed in three seasons.

Promedios de enraizamiento (A), formación de calos (B), longitud promedio de las tres raíces más grandes por esqueje (C), número de raíces por esqueje (D), mantenimiento de hojas (E), emisión de brotes (F), esquejes vivos sin raíces o callosidades (G) y esquejes muertos (H) en esquejes de *F. enormis* instalados en tres estaciones.



**Figure 3.** Percentage of cuttings with roots and calluses for *F. enormis*, installed in three seasons and under six concentrations of indole-3-butyric acid (IBA).

Porcentaje de esquejes con raíces y callosidades para *F. enormis*, instalados en tres estaciones y bajo seis concentraciones de ácido indol-3-butírico (IBA).

The analysis of callus formation revealed values below 6% in all seasons. However, the high presence of calluses in rooted cuttings, especially in spring and summer (> 80%), indicates possible indirect root formation (Rasmussen and Hunt 2010). The presence of calluses is undesirable for plant propagation, as their presence in the vascular connection region may limit the appropriate rhizogenesis process, compromising root functionality (Monder *et al.* 2017). However, this relationship varies depending on the species. The indirect formation of the root system is common during the regeneration of many plant species and has been considered a consequence of the maturation of vegetative propagules (Wendling *et al.* 2014). For *F. enormis*, however, more in-depth studies are needed to understand these changes and their consequences on the vegetative propagation of the species.

The lowest percentages of living cuttings without roots or calluses and dead cuttings in spring and summer are related to the highest percentages of cuttings rooted in these seasons. These results show the efficiency of the cuttings technique for vegetative propagation of *F. enormis* from epicormic shoots and the importance of using suitable propagules for rooting, particularly regarding the vigor and juvenility of the stock plants. It is important to highlight that there was no nutritional intervention in the stock plants in the field. The adequate supply of macro and micronutrients can favor the increase of the vegetative vigor of the stock plants and provide propagules with better morphophysiological and anatomical qualities (Zerche and Druge 2009). Non-nutritional replacement under long periods of management, however, can lead to the exhaustion of the stock plants, making their ability to supply propagules unfeasible.

The results found here consolidate the best options regarding the time of the year and support that IBA is not ne-

cessary for rooting of *F. enormis* cuttings maintained in a field clonal garden. Along with results about other aspects, such as substrates, phases and environments (Fragoso *et al.* 2016), a guide for the daily production of *F. enormis* cuttings could be established in commercial nurseries.

## CONCLUSIONS

Under the conditions in which the present work was carried out, it is possible to conclude that the vegetative propagation of *F. enormis* from epicormic shoots from clonal field garden is a viable method for this species seedlings production, without any plant regulator needed.

The use of plant regulator has no influence on rooting and root vigor of cuttings, being the time of the year the preponderant factor for root induction in cuttings of *F. enormis*.

## REFERENCES

- Carpanezi AA, OTB Carpanezi. 2006. Espécies nativas recomendadas para recuperação ambiental no Estado do Paraná, em solos não degradados. Colombo, Brasil. Embrapa Florestas. 52 p.
- Carpanezi AA, MLF Nicodemo. 2009. Recuperação de mata ciliar e reserva legal florestal no noroeste paulista. São Carlos, Brasil. Embrapa Pecuária Sudeste. 35 p.
- Ding J, O Nilsson. 2016. Molecular regulation of phenology in trees - because the seasons they are a-changin'. *Current Opinion in Plant Biology* 29:73-79. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2015.11.007>.
- Fragoso RO, CA Stuepp, KC Zuffellato-Ribas, G Macanhão, HS Koehler. 2015. Propagação vegetativa de *Juniperus chinensis*. *Comunicata Scientiae* 6(3):307-316. DOI: <https://doi.org/10.14295/CS.v6i3.825>.
- Fragoso RO, CA Stuepp, AA Carpanezi, I Wendling, KC Zuffellato-Ribas, HS Koehler. 2016. Substratos renováveis na produção de mudas de *Ficus enormis* proveniente de jardim clonal. *Pesquisa Florestal Brasileira* 36(88):537-541. DOI: <https://doi.org/10.4336/2016.pfb.36.88.1246>.
- Hartmann HT, DE Kester, FT Davies JR, RL Geneve. 2011. Hartmann & Kerster's plant propagation: principles and practices. New Jersey, United States. Prentice Hall. 915 p.
- Heide OM. 2019. Juvenility, maturation and rejuvenation in plants: adventitious bud formation as a novel rejuvenation process. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 94(1):2-11. DOI: <https://doi.org/10.1080/14620316.2018.1482795>.
- Marmontel CVF, VA Rodrigues, TM Martins, R Starzynski, JL Carvalho. 2013. Caracterização da vegetação secundária do bioma Mata Atlântica com base em sua posição na paisagem. *Bioscience Journal* 29(6):2042-2052. <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/18116>
- Monder MJ, P Kozakiewicz, A Jankowska. 2017. Effect of anatomical structure of shoots in different flowering phase on rhizogenesis of once-blooming roses. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 45(2):408-416. DOI: <https://doi.org/10.15835/nbha45210854>.
- Nakhoda M, MP Watt, D Mycock. 2011. Auxin stability and

- accumulation during in vitro shoot morphogenesis influences subsequent root induction and development in *Eucalyptus grandis*. *Plant Growth Regulation* 65:263-271. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10725-011-9597-7>.
- Nascimento B, ACS Sá, LBD Lemos, DPD Rosa, MDO Pereira, MC Navroski. 2018. Three epicormic shoot techniques in *I. paraguariensis* mother trees and its cutting according to the material rejuvenation degree. *Cerne* 24(3):240-248. DOI: <https://doi.org/10.1590/01047760201824032584>.
- Pacurar DI, I Perrone, C Bellini. 2014. Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. *Physiologia Plantarum* 151(1):83-96. DOI: <https://doi.org/10.1111/pp1.12171>.
- Pelissari G, S Romaniuc Neto. 2013. *Ficus* (Moraceae) da Serra da Mantiqueira, Brasil. *Rodriguésia* 64(1):91-111. DOI: <https://doi.org/10.1590/S2175-78602013000100009>.
- Pilon NAL, G Durigan. 2013. Critérios para indicação de espécies prioritárias para a restauração da vegetação de cerrado. *Scientia Forestalis* 41(99):389-399. <https://www.ipef.br/publicacoes/scientia/nr99/cap10.pdf>
- Rasmussen A, MA Hunt. 2010. Ageing delays the cellular stages of adventitious root formation in pine. *Australian Forestry* 73(1):41-46. DOI: <https://doi.org/10.1080/00049158.2010.10676308>.
- REFLORA. 2019. *Ficus enormis* Mart. ex Miq. In Plantas do Brasil: Resgate Histórico e Herbário Virtual para o Conhecimento e Conservação da Flora Brasileira. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Accessed 27 Nov. 2019. Available in <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB10160>.
- Rodrigues RR, RAF Lima, S Gandolfi, AG Nave. 2009. On the restoration of high diversity forests: 30 year experience in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Conservation* 142:1242-1251. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.12.008>.
- Salmi MS, M Hesami. 2016. Time of collection, cutting ages, auxin types and concentrations influence rooting *Ficus religiosa* L. stem cuttings. *Journal of Applied Environmental and Biological Sciences* 6(1):124-132.
- Santos JP, AC Davide, LAF Teixeira, AJS Melo, LA Melo. 2011. Enraizamento de estacas lenhosas de espécies florestais. *Cerne* 17(3):293-301. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0104-77602011000300002>.
- Stuepp CA, I Wendling, SJ Trueman, H Koehler, KC Zuffellato-Ribas. 2017. The use of auxin quantification for understanding clonal tree propagation. *Forests* 8:27. DOI: <https://doi.org/10.3390/f8010027>.
- Stuepp CA, I Wendling, A Xavier, KC Zuffellato-Ribas. 2018. Vegetative propagation and application of clonal forestry in Brazilian native tree species. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 53(9):985-1002. DOI: <https://doi.org/10.1590/s0100-204x2018000900002>.
- Tombesi S, A Palliotti, S Poni, D Farinelli. 2015. Influence of light and shoot development stage on leaf photosynthesis and carbohydrate status during the adventitious root formation in cuttings of *Corylus avellana* L. *Frontiers in plant science* 6(973):1-13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00973>.
- Volis S. 2016. Conservation-oriented restoration—how to make it a success? *Israel Journal of Plant Sciences* 63(4):276-296. DOI: <https://doi.org/10.1080/07929978.2016.1255020>.
- Wendling I, SJ Trueman, A Xavier. 2014. Maturation and related aspects in clonal forestry-Part I: concepts, regulation and consequences of phase change. *New Forests* 1:1-23. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11056-014-9421-0>.
- Zerche S, U Druege. 2009. Nitrogen content determines adventitious rooting in *Euphorbia pulcherrima* under adequate light independently of pre-rooting carbohydrate depletion of cuttings. *Scientia Horticulturae* 121:340-347. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.02.012>.
- Zhao Y. 2018. Essential roles of local auxin biosynthesis in plant development and in adaptation to environmental changes. *Annual Review of Plant Biology* 69:417-435. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040226>.

Recibido: 21/04/20  
Aceptado: 07/07/20



## Stone pine (*Pinus pinea*) growth and cone yield as a function of planting density in Chile

Crecimiento y producción de piñas de pino piñonero (*Pinus pinea*) en Chile en función de la densidad de plantación

Verónica Loewe Muñoz <sup>a\*</sup>, Rodrigo Del Río <sup>a</sup>, Mónica Balzarini <sup>b</sup>

Corresponding author: <sup>a</sup> Chilean Forest Institute (INFOR), Metropolitan Office, Sucre 2397, Santiago, Chile, tel.: 56-2-23667111, vloewe@infor.cl

<sup>b</sup> Universidad Nacional de Córdoba, College of Agriculture, CONICET Biometry Unit, Córdoba, Argentina.

### SUMMARY

*Pinus pinea* (stone pine) is an important species for its delicious seeds –the pine nuts–, the most expensive dry fruit worldwide. In native habitats, planting density is a key silvicultural tool in this highly heliophile species due to its impact on growth and cone yield. In Chile, the densities of adult plantations are medium and high. The goal of this study was to assess the impact of density on growth and cone yield in established plantations. Thirty plantations, 15 at high density (1,667 trees ha<sup>-1</sup>) and 15 at medium density (500 trees ha<sup>-1</sup>), were matched into 15 pairs of similar plantations regarding age and site characteristics. Planting density had a significant impact on *P. pinea* growth and cone yield. The medium density was associated with 46 % higher diameter-at-breast-height (DBH) and 2.8 times higher cone yield than those presented by a high-density plantation scheme. However, at 500 trees ha<sup>-1</sup>, average tree height might turn cone harvesting difficult and expensive. In humid areas (Chilean South macrozone), the medium planting density had a more important effect on cone yield than on growth. Our study confirms previous research in stone pine native habitats and highlights the need to find an optimum planting density to favor cone yield and harvest.

*Key words:* vegetative growth, cone yield, intensive silviculture, plantation spacing.

### RESUMEN

El pino piñonero (*Pinus pinea*) es una especie importante por sus deliciosas semillas (piñones), el fruto seco más caro del mundo. En su hábitat nativo, la densidad de plantación es una decisión silvicultural clave en esta especie heliófila debido a su impacto en el crecimiento y producción de piñas. En Chile, las densidades de plantaciones adultas son medias y altas. El objetivo de este estudio fue evaluar el impacto de la densidad en el crecimiento y producción de piñas en plantaciones establecidas. Treinta plantaciones, 15 con alta densidad (1.667 árboles ha<sup>-1</sup>) y 15 con densidad media (500 árboles ha<sup>-1</sup>) se agruparon en pares de plantaciones de similar edad y características del sitio. La densidad de plantación tuvo un impacto significativo en el crecimiento y producción de piñas de *P. pinea*. La densidad media estuvo asociada con 46 % mayor diámetro a la altura del pecho y 2,8 veces mayor producción de piñas que en el esquema de alta densidad. No obstante, en la densidad de 500 árboles ha<sup>-1</sup>, la altura media puede dificultar y encarecer la cosecha de piñas. En áreas húmedas (macrozona sur de Chile), la densidad media de plantación tuvo un efecto mayor en la producción de piñas que en el crecimiento. Este estudio confirma investigaciones previas realizadas en hábitats nativos del pino piñonero y subraya la necesidad de encontrar una densidad de plantación óptima para favorecer la producción de piñas y la cosecha.

*Palabras clave:* crecimiento vegetativo, producción de piñas, silvicultura intensiva, efecto del espaciamiento.

### INTRODUCTION

*Pinus pinea* Linneo (stone pine) is important for its delicious and expensive seeds, the pine nuts. The species has shown a good adaptation in Chile (Loewe *et al.* 2016, 2017a), where it is considered an emerging fruit crop, with over 2,000 hectares planted in the last years. In Argentina, the species has been planted mainly in coastal areas for dune stabilization, covering about 300 hectares. As a pioneer species, it is highly heliophile and very sensitive to intra- or interspecific competition, which determines

its crown shape. Therefore, planting density is an important factor to be considered for maximizing cone production (Piqué 2013). On the other hand, height growth can be controlled by pruning or using an adequate spacing to maintain the crown low and large enough to facilitate harvesting. Moreover, mechanized cone harvesting is easier and significantly more cost-effective in sparse than in denser stands, where manual harvesting may be required (Pasalodos-Tato *et al.* 2016).

Information about the effects of stand density is determinant for a good planting design, particularly in intensive



silviculture; the effects on cone yield were studied for the species in the main producer countries (Piqué *et al.* 2011, Moreno-Fernandez *et al.* 2013). The desirable final density in plantations oriented to cone production was determined in 100 trees ha<sup>-1</sup> (10'10 m) in Portugal (Correia *et al.* 2010) and Spain (Mutke *et al.* 2012); density was found to boost tree cone production (Montero *et al.* 2008)

*Pinus pinea* is a promising species for intensive silviculture in Chile and Argentina in a context of climate change due to its low hydric requirement (Loewe *et al.* 2020). Therefore, this paper addresses the key question of the impact of medium and high-density schemes on cone yield in adult plantations. This study is complementary to a previous work by Loewe *et al.* (2019), which analyzed the initial impact of low-density schemes (204 to 400 trees ha<sup>-1</sup>) on growth and fruiting of young plantations, by including adult plantations established and managed at higher density. In fact, *P. pinea* plantations established with non-productive purposes (erosion control and cattle shadowing) have medium density (500 trees ha<sup>-1</sup>, 4x5 m) to high density (1,667 trees ha<sup>-1</sup>, 2x3 m or even higher), a pattern that could be inappropriate for cone production, and that also induces excessive height growth (Loewe and Delard 2016).

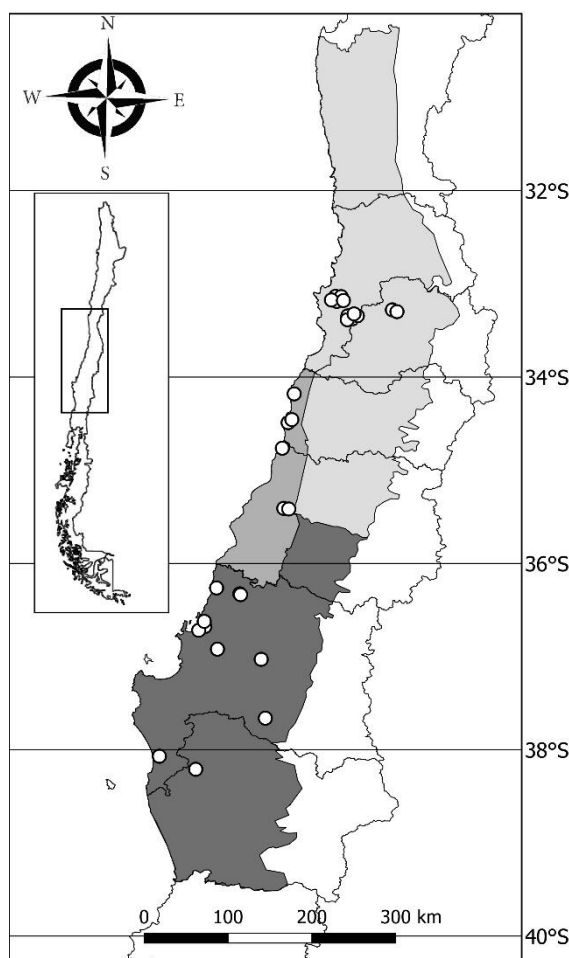
Management techniques for *P. pinea* cropping for cone production were proposed (Loewe *et al.* 2017b), including techniques commonly used in horticulture, such as fertilization and irrigation. Considering that the vegetative growth of the species across the species macrozones in Chile (Loewe *et al.* 2015) is higher than in its native area, we hypothesize that the highest density reduces diameter growth and cone yield. The main goal of this study is to evaluate the effect of medium and high *P. pinea* planting density on (1) diameter and height growth, and (2) cone yield across three macrozones of Chile. This information may be useful for the establishment of new plantations and management of already established ones.

## METHODS

**Observational study.** Over the past decade, given the interest in *P. pinea* cultivation, the Chilean Forest Institute (INFOR) has conducted a long-term, large-scale national research to gather data from Chile, covering a wide area between Coquimbo (30.8 S°) and Araucanía (39.0 S°) Regions. Inventories of *P. pinea* populations were performed, including plantations established for commercial and environmental purposes. A survey was conducted in 41 plantations, where all *P. pinea* trees were measured for diameter-at-breast-height (DBH) at 130 cm above the ground with a caliper, and height with a hypsometer. Annual growth in DBH and height was estimated by dividing the measured DBH and height by the plantation age. All 3-year-old mature cones per tree were counted from a standing position on the ground. However, given the high density and tree sizes, cone counting might have been bia-

sed, and, consequently, the true cone number may have been underestimated, since the upper third of the crown was not always totally visible from the standing position. Cone yield was estimated as the total cone production per hectare. Plantation age, as reported by the owners, ranged from 12 to 50 years. According to Loewe *et al.* (2016), plantations aged 8 years and older are considered productive in Chile.

A total of 30 plantations from the above-described survey (see their description in table 1) were matched in 15 pairs of similar age and site characteristics and different planting density: high density (on average 1,667 trees ha<sup>-1</sup>) and medium density (on average 500 trees ha<sup>-1</sup>). Considering the regional differences in cone yield reported by Calama *et al.* (2016), the 15 pairs were distributed across the three macrozones delimited for the species in Chile by Loewe *et al.* (2015) (figure 1).



**Figure 1.** *Pinus pinea* plantation sites included in the study in Chile. Light grey: North, Grey: Dry Coast, Dark grey: South macrozones, as described in Loewe *et al.* (2015).

Distribución de plantaciones de *Pinus pinea* incluidas en el estudio en Chile. Macrozonas Norte: gris claro; Secano costero: gris; Sur: gris oscuro.

**Table 1.** Pairs of similar *Pinus pinea* plantations with a different number of trees per hectare.  
 Pares de plantaciones de *Pinus pinea* con diferente cantidad de árboles por hectárea.

Plantation pairwise	Plantation age (years)	High density ††		Medium density ††		Macrozone
		Diameter at breast height (cm)	Dominant height † (m)	Diameter at breast height (cm)	Dominant height † (m)	
1-2	25	13.8±0.8	6.0±0.0	17.3±0.3	7.8±0.1	Dry Coast
3-4	26	16.9±0.7	11.2±0.4	20.2±0.4	9.4±0.2	Dry Coast
5-6	23	11.4±1.4	5.1±0.0	33.6±0.7	14.6±0.2	Dry Coast
7-8	25	10.3±0.8	6.3±0.6	25.7±0.5	12.8±0.2	North
9-10	30	14.1±0.9	8.8±0.4	37.1±2.0	16.5±0.7	North
11-12	30	21.8±1.3	12.4±0.3	32.9±1.1	14.9±0.5	North
13-14	35	30.9±1.9	13.8±0.3	30.7±1.1	13.9±0.5	North
15-16	25	8.5±0.7	6.8±0.1	27.4±0.5	12.5±0.1	North
17-18	23	15.8±1.6	5.9±0.0	37.0±1.7	16.2±0.7	North
19-20	50	44.2±1.7	14.6±0.4	54.0±3.2	36.6±1.6	South
21-22	12	21.9±0.6	7.8±0.0	21.3±1.4	10.6±0.7	South
23-24	40	55.2±0.9	25.3±0.8	38.5±2.9	11.6±0.9	South
25-26	17	23.6±1.4	9.0±0.1	24.0±1.7	13.2±0.6	South
27-28	50	40.6±1.3	17.3±0.4	82.6±1.9	28.9±1.2	South
29-30	50	44.1±1.6	16.9±0.6	62.3±3.6	17.0±0.6	South

† Dominant height was obtained as the mean height of the 100 largest diameter trees per hectare (Soares *et al.* 2013) and is used as an expression of the site index. †† Medium density: 500 trees ha<sup>-1</sup>, High density: 1,667 trees ha<sup>-1</sup>.

Plot size for this study was determined by an average of 65 trees per plot, totaling 1,950 *P. pinea* trees. The climate of the North macrozone is characterized by the most challenging variables, with annual average temperature of 14.1 °C, annual maximum average temperature of 21.9 °C, thermal oscillation of 14.3 °C, and annual rainfall of 383.7 mm. In the South macrozone, the coldest and most humid one, climate is characterized by annual average temperature of 13.2 °C, annual maximum average temperature of 19.8 °C, thermal oscillation of 12.3 °C, and annual rainfall of 1,047 mm. The transition Dry Coast macrozone is characterized by intermediate values (average temperature 13.6 °C, maximum average temperature 21.0 °C; thermal oscillation 14 °C; rainfall 648.3 mm) (Lutz *et al.* 2017).

*Statistical analyses.* An ANOVA model including density, macrozone and plantation pair effects was fitted. The plantation age was used as covariate. Annual DBH and height growths as well as cone yield means were compared between densities using Fisher LSD test ( $\alpha = 0.05$ ). Statistical analyses were performed using the software InfoStat (Di Rienzo *et al.* 2020) and their interface with R 3.5.3 (R Development Core Team 2019).

## RESULTS

Average growth and cone yield for each planting density are presented in table 2. Plantations showed significant differences in DBH and height growth ( $P < 0.004$  and  $P = 0.01$ , respectively). The medium density resulted in 46 % higher DBH growth and 2.8 times higher cone yield than in the high-density scheme. The macrozone effect was statistically significant for annual DBH growth ( $P = 0.004$ ) and cone yield ( $P < 0.001$ ). Because of the plantation pairing, plantation age was not significant for any of the variables (height,  $P = 0.273$ ; DBH,  $P = 0.228$ ; cone yield,  $P = 0.210$ ).

Across macrozones (table 3), significant differences between densities were found for growth and cone yield in the North macrozone, and for cone yield in the North and South macrozones.

DBH and height growth, as well as cone yield, were negatively affected under the high-density scheme in the North macrozone, the one of highest annual average temperature and thermal oscillation, and lowest rainfall. In the South macrozone, in the medium density cone yield was 3.6 times higher than the high density.

**Table 2.** Current annual growth rate and cone yield in *Pinus pinea* stands for each planting density.

Tasa de crecimiento corriente y producción de piñas en plantaciones de *Pinus pinea* según densidad.

Level	Density	Diameter at breast height**	Height*	Cone yield*
	trees ha <sup>-1</sup> †	cm year <sup>-1</sup>	cm year <sup>-1</sup>	cones ha <sup>-1</sup>
High	1,667	0.81 ± 0.09 b	34.8 ± 0.5 b	892 ± 563 b
Medium	500	1.18 ± 0.09 a	51.0 ± 0.5 a	2,511 ± 563 a

† Average across 15 *P. pinea* plantations at high density and 15 plantations at medium density.

Mean ± standard error. By column, same letter indicates non-statistical differences between densities.

\* =  $P < 0.05$ ; \*\* =  $P < 0.01$ .

**Table 3.** Annual growth rate per tree and cone yield in *Pinus pinea* plantations established at medium and high densities across macrozones.

Tasa de crecimiento anual y producción de piñas en plantaciones de *Pinus pinea* establecidas a densidad media y alta en diferentes macrozonas.

Variable	Macrozone	Medium density (500 trees ha <sup>-1</sup> )	High density (1,667 trees ha <sup>-1</sup> )
Annual average diameter at breast height growth (cm year <sup>-1</sup> )	North***	1.32 ± 0.07 a	0.49 ± 0.07 b
	Dry Coast	0.75 ± 0.02 a	0.63 ± 0.02 a
	South	1.39 ± 0.06 a	1.28 ± 0.06 a
Annual average height growth (cm year <sup>-1</sup> )	North***	0.57 ± 0.03 a	0.20 ± 0.03 b
	Dry Coast	0.37 ± 0.03 a	0.31 ± 0.03 a
	South	0.52 ± 0.06 a	0.49 ± 0.06 a
Cone yield (cones ha <sup>-1</sup> )	North*	739 ± 185 a	0 ± 0 b
	Dry Coast	2,628 ± 334 a	1,546 ± 334 a
	South*	3,997 ± 1,118 a	1,096 ± 1,118 b

Average across *P. pinea* plantations at high density and medium density by macrozone.

Mean ± standard error. By row, same letter indicates non-statistical differences between densities.

\* =  $P < 0.05$ ; \*\*\* =  $P < 0.001$

## DISCUSSION

Our results confirm our working hypothesis of a reduction of diameter growth and cone yield at the highest planting density, confirming the importance of silviculture in *P. pinea* crop development and cone yield. Both high and medium density levels tested in this study correspond to high and medium density levels used to establish *P. pinea* plantations in the species native habitat (Spain) (Montero 2004).

Cone and seed production in any given year are conditioned by vigor, health and size of trees (Calama and Montero 2007), especially by DBH (Moreno-Fernandez *et al.* 2013, Loewe *et al.* 2016). DBH and height growth of *P. pinea* trees was higher in the medium density plantation; Piqué *et al.* (2011) reported a similar effect of planting density on DBH growth.

Loewe and Delard (2016) found that high density plantations in Chile (1.5x1.5 to 3x3 m) induced excessi-

ve height growth. In this study, the medium density also induced high height growth, evidencing that this density makes cone harvesting difficult. This is in agreement with findings reported by Correia *et al.* (2010) and Mutke *et al.* (2012), who stated that a density of 500 trees ha<sup>-1</sup> is too high for the species, since it stimulates height growth.

The lowest planting density (500 trees ha<sup>-1</sup>) induced a higher cone yield than that presented by the denser one (1,667 trees ha<sup>-1</sup>) in most of the species production area in Chile (North and South macrozones). This is in agreement with results of Calama *et al.* (2008) and Montero *et al.* (2008), who indicated that lower density stands in Spain yield larger fruit production than do stands of higher density. Similarly, pine nut production of *Pinus resinosa* Ait., a species comparable to *P. pinea* in its long fruit development cycle, was found to decrease at high stand density (Stiell 1971). A density of 400 trees ha<sup>-1</sup> in seed orchards of *Pinus sylvestris* L., which is lower than the medium

density here studied, was reported as appropriate for cone production (Jonsson *et al.* 1976).

Accordingly, medium to low densities (5x5 to 10x10 m) have been recommended to enhance cone production and facilitate harvesting (Costa and Evaristo 2008), allowing tree crown development and light interception (Piqué 2013). In fact, Boutheina *et al.* (2013) observed that bigger trees bear more cones, with crown development being more important in determining cone production than age, suggesting that spacing is an important factor to improve *P. pinea* cone yield. Loewe *et al.* (2019) also observed that a density of 204 trees ha<sup>-1</sup> (7x7 m spacing) was associated with higher crown diameter and earlier and higher female strobili production than those presented by a 400 trees ha<sup>-1</sup> density (5x5 m spacing); both densities are within the most common ranges in new specialized plantations in Chile. This is in agreement with findings of Mutke *et al.* (2012), who reported that low density plantations (278 trees ha<sup>-1</sup> or even less) have higher cone yield than that shown by high density plantations (1,111 trees ha<sup>-1</sup>), allowing mechanical harvesting and tilling at the same time.

The impact of planting density on tree growth and cone yield in the North macrozone, the most arid and warm environment, would be caused by higher water availability to trees in the medium density plantations, since the water supply is shared by a lower number of trees, improving stand growth rates and cone yield, as reported by Mazza *et al.* (2011) and Gonçalves and Pommerening (2012); in fact, no cones were recorded in the high-density plantations in that macrozone. In the South macrozone, the coldest and most humid environment, the medium density increased cone yield 3.6 times compared to that from the high density, indicating that a wider spacing favors tree fruiting, even in less challenging hydric environments.

This study highlights the impact of planting density on tree growth, especially under arid and warm conditions. Stands growing at medium density may be benefited by less water deficit, improving plantation resilience under a climate change scenario. Considering the expected increases in frequency and duration of drought periods, especially in Mediterranean areas (Quintana-Seguí *et al.* 2016), our findings may help in the adoption of adequate silvicultural schemes in *P. pinea* plantations. Furthermore, cone yield in high-density plantations is lower than that observed in less dense ones. The fact that production is concentrated in fewer trees also implies a lower cost, higher harvest yield and higher profitability (Montero *et al.* 2008).

Considering that planting density is a key factor in cone yield, further controlled experimental studies on the effects of spacing on growth and cone yield are necessary to improve the species management in South America.

## CONCLUSIONS

Our study confirms, in different environments of Chile, previous researches in native habitats with *P. pinea* re-

lated to the influence of planting density on growth and cone yield. Cone yield negatively correlates with density; although, the lowest density studied (500 trees ha<sup>-1</sup>) is still too high to limit height growth, hindering cone harvest. In future research works, it would be important to identify the optimum planting density to enhance cone yield and facilitate harvest.

## ACKNOWLEDGEMENTS

Measurements used for this article were funded by Fondo de Fomento al Desarrollo Científico Tecnológico (FONDEF), Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT), Chilean Ministry of Education (grant code D11I1134). The analyses were performed through the program “Advances for the use of high value forest and fruit-forest species for Chile” funded by the Chilean Ministry of Agriculture.

## REFERENCES

- Boutheina A, M Hedi El Aouni, P Balandier. 2013. Influence of stand and tree attributes and silviculture on cone and seed productions in forests of *Pinus pinea* L., in northern Tunisia. *Options Méditerranéennes. Série A : Séminaires Méditerranéens* 105: 9-14.
- Calama R, J Gordo, S Mutke, G Montero. 2008. An empirical ecological-type model for predicting Stone pine (*Pinus pinea* L.) cone production in the Northern Plateau (Spain). *Forest Ecology and Management* 255(3-4): 660-673. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2007.09.079>
- Calama R, G Montero. 2007. Cone and seed production from Stone pine (*Pinus pinea* L.) stands in Central Range (Spain). *European Journal of Forest Research* 126(1): 23-35. <https://doi.org/10.1007/s10342-005-0100-8>
- Calama R, J Gordo, G Madrigal, S Mutke, M Conde, G Montero, M Pardos, M. 2016. Enhanced tools for predicting annual stone pine (*Pinus pinea* L.) cone production at tree and forest scale in Inner Spain. *Forest Systems* 5(3): e079. <https://doi.org/10.5424/fs/2016253-09671>
- Correia A, M Tomé, C Pacheco, S Faias, A Dias, J Freire, P Carvalho, J Pereira. 2010. Biomass allometry and carbon factors for a Mediterranean pine (*Pinus pinea* L.) in Portugal. *Forest Systems* 19(3): 418-433. <https://doi.org/10.5424/fs/2010193-9082>
- Costa R, I Evaristo. 2008. Condução de Povoamentos de Pinheiro Manso e características Nutricionais do pinhao. In Costa R, I Evaristo eds. Lisboa, Portugal, Instituto Nacional dos Recursos Biológicos.
- Di Rienzo JA, F Casanoves, M Balzarini, L Gonzalez, M Tablada, CW Robledo. 2020. InfoStat version 2020. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. Accessed 31 Jan. 2020. Available in <http://www.infostat.com.ar>
- Gonçalves AC, A Pommerening. 2012. Spatial dynamics of cone production in Mediterranean climates: a case study of *Pinus pinea* L. in Portugal. *Forest Ecology and Management* 266: 83-93.
- Jonsson A, I Ekberg, G Eriksson. 1976. Flowering in a seed orchard of *Pinus sylvestris* L. *Studia forestalia Suecica* 135.



- Loewe MV, M Balzarini, R Del Río, C Delard. 2019. Effects of stone pine (*Pinus pinea* L.) plantation spacing on initial growth and conelet entry into production. *New Forests* 50(3): 489-503. <https://doi.org/10.1007/s11056-018-9672-2>
- Loewe MV, M Balzarini, C Delard, A Álvarez, RM Navarro-Cerrillo. 2017a. Growth of Stone pine (*Pinus pinea* L.) European provenances in central Chile. *iForests* 10: 64-69. <https://doi.org/10.3832/ifor1984-009>
- Loewe MV, A Alvarez, M Balzarini, C Delard, RM Navarro-Cerrillo. 2017b. Mineral fertilization and irrigation effects on fruiting and growth in stone pine (*Pinus pinea* L.) crop. *Fruits* 72(5): 281-287. <https://doi.org/10.17660/th2017/72.5.3>
- Loewe MV, M Balzarini, A Álvarez, C Delard, RM Navarro-Cerrillo. 2016. Fruit productivity of Stone pine (*Pinus pinea* L.) along a climatic gradient in Chile. *Agricultural and Forest Meteorology* 223: 203-216. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2016.04.011>
- Loewe MV, C Delard, M Balzarini, A Álvarez, RM Navarro-Cerrillo. 2015. Impact of climate and management variables on stone pine (*Pinus pinea* L.) growing in Chile. *Agricultural and Forest Meteorology* 214-215: 106-116. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.08.248>
- Loewe MV, C Delard. 2016. Producción de piñón mediterráneo (*Pinus pinea* L.). Manual N° 48. Santiago, Chile. INFOR. 108 p.
- Mazza G, E Amorini, A Cutini, M Manetti. 2011. The influence of thinning on rainfall interception by *Pinus pinea* L. in Mediterranean coastal stands (Castel Fusano-Rome). *Annals of Forest Science* 68(8): 1323-1332. DOI: [10.1007/s13595-011-0142-7](https://doi.org/10.1007/s13595-011-0142-7)
- Montero G. 2004. El pino piñonero (*Pinus pinea* L.) en Andalucía: Ecología, Distribución y Selvicultura. Sevilla, Spain. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía. 261 p.
- Montero G, R Calama, R Ruiz. 2008. Selvicultura de *Pinus pinea* L. In Montero G, R Serrada, J Reque eds. Compendio de selvicultura de especies. Madrid, Spain. INIA-Fundación Conde del Valle de Salazar. p. 431-470.
- Moreno-Fernández D, I Cañellas, R Calama, J Gordo, M Sánchez-González. 2013. Thinning increases cone production of Stone pine (*Pinus pinea* L.) stands in the Northern Plateau (Spain). *Annals of Forest Science* 70(8): 761-768. DOI: [10.1007/s13595-013-0319-3](https://doi.org/10.1007/s13595-013-0319-3)
- Mutke S, R Calama, S González, G Montero, J Gordo, D Bono, L Gil. 2012. Mediterranean Stone Pine: Botany and Horticulture. In Janick J ed. Horticultural Reviews 39. Wiley-Blackwell. p. 153-201. <https://doi.org/10.1002/9781118100592.ch4>
- Pasalodos-Tato M, T Pukkala, R Calama, I Cañellas, M Sánchez-González. 2016. Optimal management of *Pinus pinea* stands when cone and timber production are considered. *European Journal of Forest Research* 135(4): 607-619. DOI: [10.1007/s10342-016-0958-7](https://doi.org/10.1007/s10342-016-0958-7)
- Piqué M. 2013. Gestion des forêts de pin parasol pour la production de pignons. *Forêt Méditerranéenne* 34(1): 59-62.
- Piqué M, M Del-Rio, R Calama, G Montero. 2011. Modelling silviculture alternatives for managing *Pinus pinea* L. forest in North-East Spain. *Forest Systems* 20(1): 3-20
- Quintana-Seguí P, E Martín, E Sánchez, M Zribi, M Vennetier, S Vicente-Serrano, JP Vidal. 2016. Drought: observed trends, future projections. In Moatti J-P, S Thiébaud eds. The Mediterranean Region Under Climate Change: A scientific update. Marseille, France. IRD Éditions. p. 123-131. <https://doi.org/10.4000/books.irdeditions.23157>
- R Development Core Team. 2019. R: A language and environment for statistical computing. Vienna. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. Accessed 31 Jul. 2019. Available in <https://www.r-project.org/>.
- Soares JR, R Maestri, A Ferraz, J de Mello, A De Oliveira, A de Assis. 2013. Dominant height model for site classification of *Eucalyptus grandis* incorporating climatic variables. *International Journal of Forest Research*. <https://doi.org/10.1155/2013/139236>
- Stiell W. 1971. Comparative cone production in young red pine planted at different spacings. *Canadian Forestry Service* 1306: 1-8.

Recibido: 19/04/20

Aceptado: 17/09/20



# 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<sup>a</sup>, Nombre2 Apellido2<sup>b\*</sup>, Nombre3 Apellido3<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Universidad Uuu, Facultad Ffff, Departamento de Dddd, Ciudad, País.

\*Autor de correspondencia: <sup>b</sup>Instituto 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, CO<sub>2</sub> 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](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 remitidos por correo electrónico a [revistabosque@uach.cl](mailto: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](mailto:revistabosque@uach.cl)) o revisar la información adicional de nuestra página web [www.revistabosque.cl](http://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>, 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**