



UNIVERSIDAD DE CASTILLA-LA MANCHA
ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIEROS AGRÓNOMOS
Departamento de Producción Vegetal y Tecnología Agraria

Componentes de biodiversidad y producción de biomasa en masas naturales y artificiales del género *Pinus* en España

Memoria presentada por

Enrique José Hernández Tecles

para optar al grado de Doctor por la Universidad de Castilla-La Mancha
en Ciencia e Ingeniería Agrarias

Directores: **Jorge de las Heras Ibáñez**

Ricardo Alía Miranda

Albacete, 2013



ÍNDICE

ÍNDICE

	<u>Página</u>
1. RESUMEN	3
2. INTRODUCCIÓN	7
2.1. El género <i>Pinus</i> en el Mediterráneo y su relación con la biodiversidad	7
2.2 Ecología del pino carrasco en el Mediterráneo y en España	8
2.3. Regiones de Procedencia y el género <i>Pinus</i> en España	10
2.4. Repoblaciones forestales en España: historia, características y contexto actual	13
2.5. Los conceptos de biodiversidad y biomasa. Relaciones entre ambos	14
2.6. Bibliografía	17
3. OBJETIVOS	23
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	27
4.1. Estimación y comparación de la diversidad de vegetación entre masas naturales y artificiales de <i>P. halepensis</i> en el sureste de la Península Ibérica	29
4.1.1. INTRODUCTION	33
4.1.2. MATERIAL AND METHODS	34
4.1.3. RESULTS	36
4.1.4. DISCUSSION	38
4.1.5. CONCLUSIONS	42
BIBLIOGRAPHY	42
FIGURES	46
TABLES	51
4.2. Comparación de la producción y asignación de biomasa entre masas naturales y artificiales de <i>P. halepensis</i> en el sureste de la Península Ibérica	59
4.2.1. INTRODUCCIÓN	61
4.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS	62
4.2.3. RESULTADOS	65
4.2.4. DISCUSIÓN	66

	<u>Página</u>
4.1.5. CONCLUSIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	68
FIGURAS	71
TABLAS	74
4.3. Diferenciación en producción de biomasa y su relación con la diversidad genética en tres especies del género <i>Pinus</i> en España	77
4.3.1. INTRODUCCIÓN	79
4.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS	80
4.3.3. RESULTADOS	83
4.3.4. DISCUSIÓN	84
4.3.5. CONCLUSIONES	86
BIBLIOGRAFÍA	86
FIGURAS	90
TABLAS	96
INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA	100
4.4. Estimación de la diversidad genética entre poblaciones naturales de pinos mediterráneos en España para poder asignar el origen a poblaciones de origen desconocido	103
4.4.1. INTRODUCTION	106
4.4.2. MATERIAL AND METHODS	108
4.4.3. RESULTS	110
4.4.4. DISCUSSION	110
4.4.5. CONCLUSIONS	111
BIBLIOGRAPHY	112
FIGURE	117
TABLES	118
SUPPLEMENTARY INFORMATION	124
5. DISCUSIÓN GENERAL	131
5.1. Discusión	131
5.2. Bibliografía	136
6. CONCLUSIONES	139



RESUMEN

1. RESUMEN

En España las especies del género *Pinus* son muy importantes dentro de los ecosistemas forestales. Así mismo han sido ampliamente utilizadas en repoblaciones, resultando un conglomerado de masas de distintos orígenes. En la actualidad aspectos como biodiversidad y fijación de carbono son evaluados en los distintos ecosistemas a nivel mundial. Por ello se pretende evaluar la diversidad de vegetación, así como la producción de biomasa y sus posibles relaciones en *Pinus halepensis* Mill., como especie modelo de ecosistemas mediterráneos. Un componente de biodiversidad, a menudo olvidado, es la diversidad genética, y cuál es la función del origen a la hora de moldear las estructuras de las masas naturales y artificiales. Para comprender esta relación se comprueba la utilidad de un método para identificar el origen de los materiales forestales de reproducción del género *Pinus*, de cara a incorporar este aspecto en estudios futuros y permitir relacionar con otros componentes fundamentales de biodiversidad.

En el presente trabajo, la hipótesis de partida sería comprobar si existen diferencias entre masas naturales y repoblaciones adultas de *P. halepensis* a pequeña escala, en cuánto a diversidad y estructura de vegetación así como producción de biomasa. Así como estimar si las diferencias existentes en niveles de diversidad genética en *P. halepensis* y otras 4 especies de pinos autóctonos (*Pinus pinaster* Aiton, *Pinus nigra* Arnold, *Pinus sylvestris* L., and *Pinus uncinata* Ramond ex A. DC.) permite identificar el origen del material de reproducción y por tanto determinar de forma precisa este componente de biodiversidad a nivel poblacional.

En primer término, el análisis de diversidad de vegetación y producción de biomasa el área de estudio se centra en masas forestales (naturales y repoblaciones adultas) de pino carrasco en tres localidades de las provincias de Albacete (Yeste y Liétor) y Murcia (Calasparra), atendiendo a un gradiente de precipitación. Las masas naturales y repoblaciones estudiadas presentaron diferencias significativas en términos de diversidad de vegetación y producción de biomasa para todas las zonas de estudio, incrementándose con el gradiente de precipitación considerado. Los mayores stocks de biomasa, así como riqueza de especies estuvieron presentes en las masas naturales. Estas diferencias fueron atribuidas tanto a características estructurales de las masas, así como densidad, edad y madurez. Sin embargo no se pudo

constatar el origen del material utilizado en la repoblación, de cara a atribuir su influencia en los resultados obtenidos.

Por ello, se analizaron datos de un ensayo de procedencias en ambiente común para ver si realmente hay diferencias significativas en función del origen de la semilla en cuanto a producción de biomasa se refiere. Para ello, se utilizó una muestra de poblaciones naturales en España de *P. halepensis*, así como de poblaciones de *P. pinaster* y *P. sylvestris*, abarcando todo el rango de distribución de las especies en España. Se comprobó que realmente existían diferencias significativas entre las producciones para las distintas procedencias evaluadas.

Finalmente, en el análisis de la diversidad genética el área de estudio se amplió de cara a comprobar la posibilidad de identificar el origen del material para una amplia muestra de poblaciones naturales de pinares en España. Esto se debe a que la escala de variación encontrada en *P. halepensis* es baja y obliga a considerar grandes regiones y la comparación con otras especies de *Pinus* permite generalizar los patrones encontrados. El método utilizado fue válido para casi todas las especies de pinos examinadas, pero los peores ratios de asignación correcta se presentaron en *P. halepensis*. El método permitió asignar correctamente el origen a una muestra de repoblaciones de origen conocido.



INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1. El género *Pinus* en el Mediterráneo y su relación con la biodiversidad

El género *Pinus* es uno de los más amplios y extendidos dentro de las coníferas a nivel mundial con 109 especies nativas y presencia en la mayoría de biomas del hemisferio Norte (Farjon, 2008), siendo los ecosistemas mediterráneos unos de las más ricos, con 28 especies de pinos (11 en la cuenca Mediterránea y 17 en California) (Fady and Medail, 2004). La importancia del género en el Mediterráneo contrasta con el menor número de estudios respecto a América del Norte (Fady, 2012). Los pinos en la cuenca Mediterránea han jugado un papel fundamental en la ecología y la economía humana durante milenios. Los antiguos egipcios, fenicios, griegos, romanos y otras civilizaciones utilizaban los pinares de maneras y por motivos muy diversos (Barbero et al., 2000). Hoy en día, la importancia económica de los pinos mediterráneos continúa en la producción de madera, así como fuente de biomasa y alimento, sin olvidar su papel dentro de la restauración. Los pinos mediterráneos comparten muchos caracteres de historia vital, presentan áreas de distribución y estructuras similares por lo que estudios de riqueza de especies, ecología y otros aspectos relacionados con la biodiversidad son muy interesantes en este género en el Mediterráneo.

La biodiversidad o diversidad biológica se puede evaluar a distintos niveles, incluyendo genes, especies, paisaje a ecosistema (Noss, 1990). Los bosques juegan un papel fundamental en el mantenimiento de la biodiversidad global. La diversidad, genética y de especies, de la cuenca Mediterránea son altas; viven cerca del 20% de las plantas de la Tierra cuando su superficie es inferior al 2% del total del planeta (Medail and Quezel, 1999). Este hecho unido al elevado número de endemismos hacen que la cuenca Mediterránea sea reconocida como uno de los “puntos calientes” de biodiversidad del planeta (Fabbio et al., 2003) y España, en concreto, posee unos niveles de diversidad vegetal que se sitúa entre los mayores de la Unión Europea (Myers et al., 2000). La Península Ibérica y las Canarias se incluyen entre los 25 principales “hotspots” de biodiversidad en el mundo, ocasionado principalmente por su riqueza en plantas (Myers et al., 2000).

2.2 Ecología del pino carrasco en el Mediterráneo y en España

Un modelo característico de pinos mediterráneos lo presentan *Pinus halepensis* Mill. (Pino carrasco) y *Pinus brutia* Ten. (Pino brutia). Los pinos del complejo brutia-carrasco presentan la mayor cobertura de especies arbóreas en la cuenca Mediterránea, con cerca de 7.5 millones de ha, y con una gran importancia ecológica y económica (Quézel, 2000). Estas especies pueden crecer sobre todos casi todos los sustratos y bioclimas de la región Mediterránea, dónde muchas veces son la única fuente de madera y cubierta forestal (Fady, 2012). En el límite superior de su distribución a menudo forman una etapa de pre-bosque colonizador o forman parte de bosques mixtos de especies de los géneros *Pinus* y *Quercus*. Al mismo tiempo, es una especie muy resistente a la sequía, siendo a menudo la última especie forestal arbórea en los límites de los desiertos y de las estepas. El pino carrasco, en concreto, presenta su distribución mayoritariamente en el mediterráneo occidental: España, Francia, Italia, Croacia, Albania, Grecia, Marruecos, Argelia, Túnez, Libia y Malta (Ruiz de la Torre, 2006). No obstante, también se lo puede encontrar formando pequeñas poblaciones, tanto naturales como artificiales, al este del Mediterráneo en Turquía, Siria, Israel, Jordania y Líbano. La superficie total ocupada se estima en 3.5 millones de ha (Figura 2.1.).

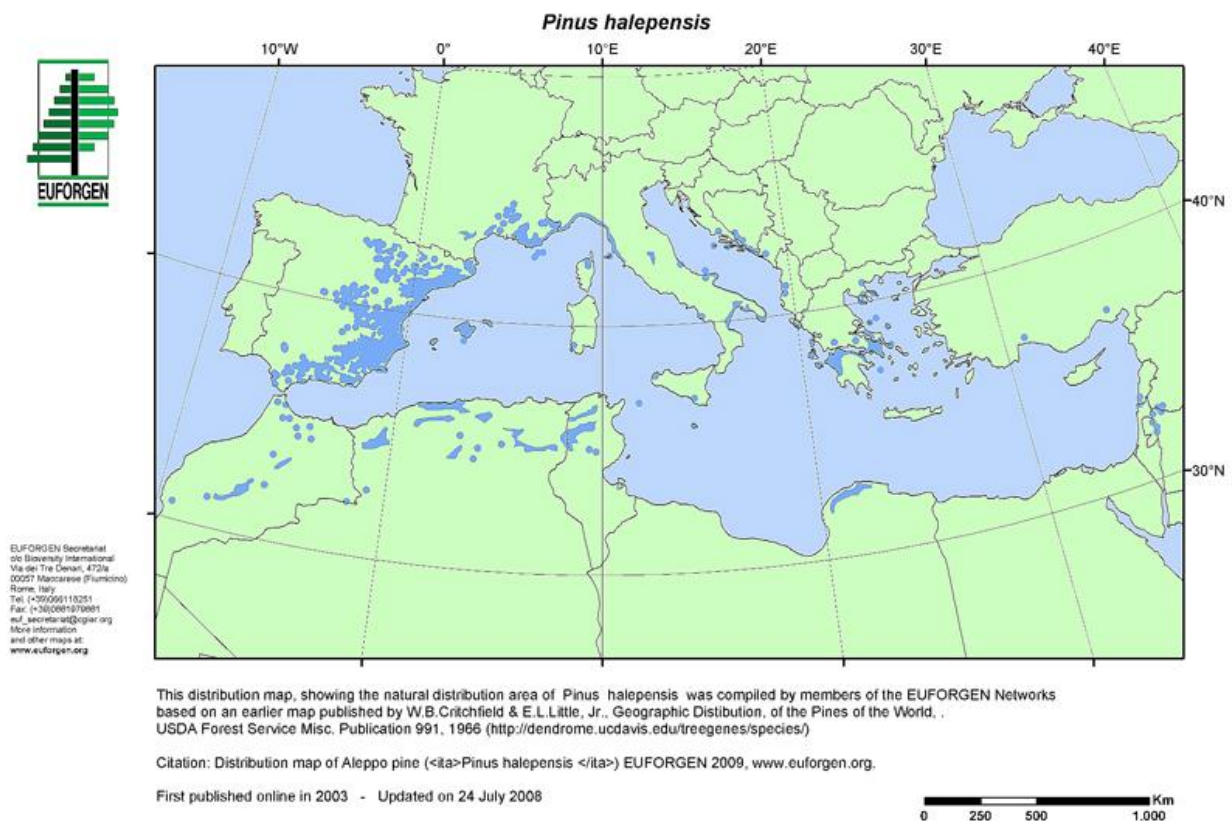


Figura 2.1. Distribución del pino carrasco en el mundo (Fady et al., 2008)

El óptimo de los bosques de *P. halepensis* tiene lugar con precipitaciones entre 350 y 700 mm, así como con una temperatura media de las mínimas entre -2 y +10 °C (bioclimas semiárido y subhúmedo). El cambio climático y sus modificaciones colaterales sobre las precipitaciones pueden afectar drásticamente a su rango de distribución (Fady et al., 2008).

En España, el pino carrasco es, tras la encina (*Quercus ilex* L.), la segunda especie arbórea por superficie ocupada en España (1,770,000 ha). Se distribuye en las Islas Baleares y en las provincias del litoral mediterráneo, desde Gerona hasta Málaga, adentrándose hacia el interior por la cuenca del Ebro, La Mancha, La Alcarria y el Sistema Bético. Aunque no muestra preferencia por un determinado tipo de sustrato, es frecuente encontrarlo sobre suelos pobres, calizos o margosos, desde el nivel del mar hasta los 1.000 m, llegando puntualmente a los 1.600 m (Prada, 2008).

La principal amenaza a la que están sometidos los pinares de carrasco es el fuego, sobre todo por el aumento de su frecuencia debido a causas de origen antrópico, tanto en España como en la cuenca Mediterránea. El pino carrasco presenta un carácter de adaptación al fuego, la serotinia, donde algunas piñas permanecen en la copa de los árboles durante uno o varios años sin abrirse (Herranz, 2000). La serotinia es muy variable entre zonas geográficas, pero el componente genético de esta variación es aún poco conocido. La reiteración de incendios en un intervalo escaso de tiempo puede dar lugar a la desaparición de muchas poblaciones debido a la imposibilidad de una efectiva regeneración natural por falta de semillas.

El pino carrasco es una especie muy idónea para los futuros escenarios de cambio climático, considerando su frugalidad y caracteres adaptativos, de ahí la importancia a los estudios de diversidad en la especie para poder desarrollar estrategias de manejo de recursos forestales (Prada, 2008).

2.3. Regiones de Procedencia y el género *Pinus* en España

La delimitación de Regiones de Procedencia en España comienza a principios de 1990 como resultado de la aplicación de las sucesivas directivas europeas sobre comercialización de semillas forestales (Directivas 66/1104/CEE y 71/161/CE del Consejo). Posteriormente, los Reales Decretos 1356/1998 y 1989/2003 establecieron las normas aplicables a la producción, comercialización y utilización de los materiales forestales de reproducción de especies con interés forestal en nuestro país no recogidas anteriormente en la normativa comunitaria (Alía et al., 2009).

Las Regiones de Procedencia sirven para la planificación, gestión y evaluación sostenible de los recursos forestales, siendo necesaria la disposición de materiales de reproducción adecuados para la creación de poblaciones futuras con garantía de crecimiento, adaptación y supervivencia así como una adecuada reproducción. Por ello deben constituirse mecanismos similares en todo el territorio nacional que posibiliten una identificación sencilla y rápida del material. Se establecen unidades básicas de comercialización de material forestal de reproducción (frutos, semillas, plantas, partes de plantas) para cada una de las especies (categorías identificada y seleccionada).

La Región de Procedencia es, << para una especie o subespecie determinadas, la zona o el grupo de zonas sujetas a condiciones ecológicas suficientemente uniformes en el que se encuentran fuentes semilleras o rodales que presentan características fenotípicas o genéticas semejantes, teniendo en cuenta límites de altitud, cuando proceda>> (Art. 2.f (BOE, 2003)).

Las regiones de procedencia de las especies autóctonas del género *Pinus* en España se encuentran delimitadas mediante el método aglomerativo (Alía et al., 2009). En el presente trabajo se presenta como especie modelo a *P. halepensis*, para la que se han establecido 18 regiones de procedencia incluyendo masas autóctonas, y una región de procedencia de origen no autóctono en repoblaciones de la meseta norte (Figura 2.2). El Catálogo Nacional de Materiales de Base cuenta con fuentes semilleras de todas las regiones de procedencia y por tanto abundantes materiales de la categoría identificada. Las repoblaciones de pino carrasco en España son normalmente de carácter protector por lo que se recomienda el uso de la procedencia local, con material recogido a partir de semillas recolectadas de un elevado número de pies, como garantía de adaptabilidad y para promover la conservación de las poblaciones locales. Esta pauta debería ser especialmente considerada en procedencias de escasa superficie o con un alto grado de aislamiento, como pueden ser las insulares, el sur peninsular o algunas poblaciones de las procedencias continentales.

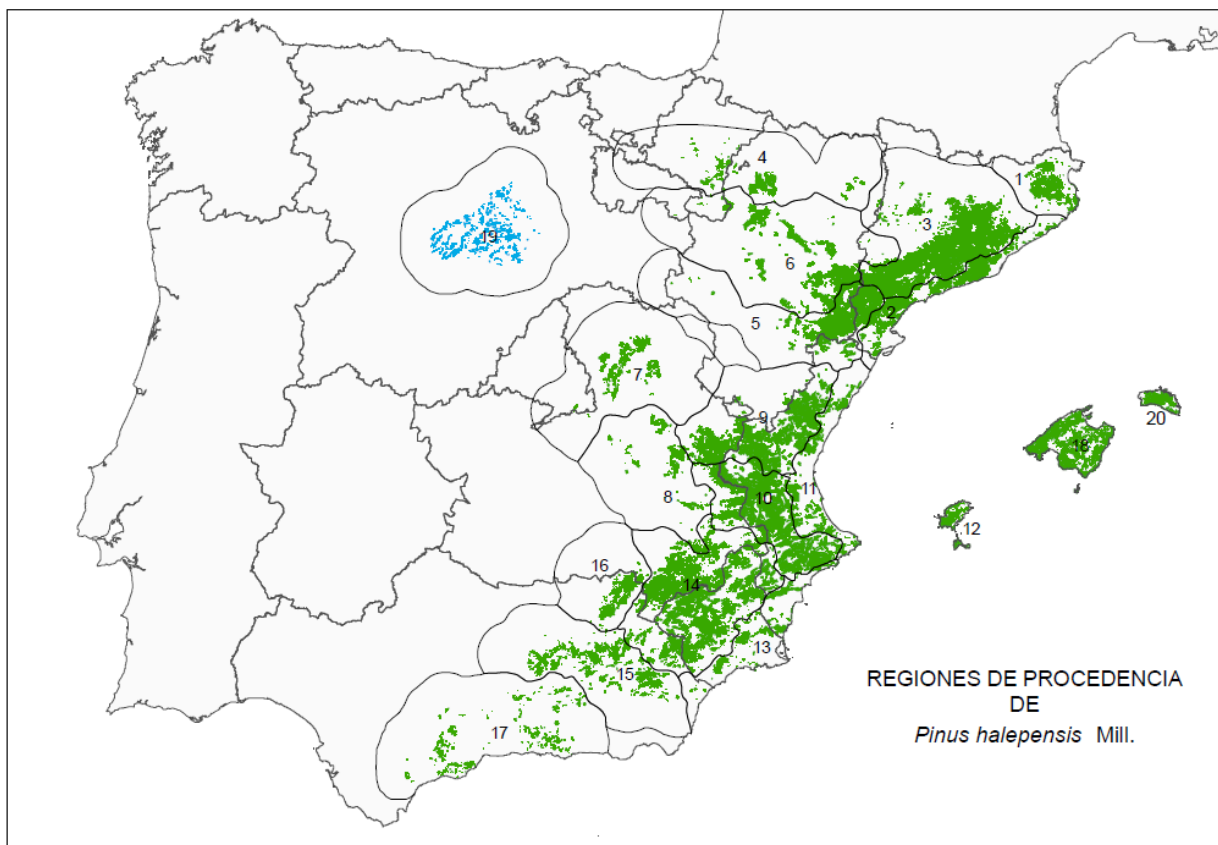


Figura 2.2. Distribución en España del pino carrasco y Regiones de Procedencia (Alía et al., 2009)

El flujo genético procedente de las extensas repoblaciones efectuadas en el área de distribución natural de la especie con material de origen, calidad y variabilidad genética desconocidos también podría ser un factor de amenaza sobre los recursos genéticos de ciertas poblaciones locales de reducido tamaño y para su adaptabilidad. De manera indirecta, la normativa sobre comercialización de materiales de reproducción (RD 289/2003) puede ser una herramienta para la conservación de los recursos genéticos cuando se efectúan reforestaciones, pues permite la trazabilidad del material hasta su uso final en las repoblaciones.

En la actualidad se están tomando medidas de carácter estático; la más extendida es la conservación de lotes de semillas recolectadas en poblaciones localizadas en comarcas con alta frecuencia de incendios o en regiones de procedencia con áreas reducidas. De manera indirecta, dentro de las medidas estáticas ex situ se pueden integrar a los huertos semilleros y ensayos de procedencias y progenies establecidos en diferentes puntos del territorio español, aunque se debe tener en cuenta que estas plantaciones cuentan en general con bajo número

de genotipos conservados por población. No se han definido todavía unidades de conservación in situ, pero existen poblaciones bajo alguna figura de protección (4% de la superficie total de la especie), aunque sin planes específicos sobre el manejo de los recursos genéticos. Se debería promover el establecimiento de una red de unidades de conservación dinámica que cubra el espectro ecológico de la especie, con un alto grado de coordinación entre los responsables de su gestión.

2.4. Repoblaciones forestales en España: historia, características y contexto actual

La cuenca Mediterránea es una de las zonas mundiales con mayor proporción de bosques plantados (FAO, 2010). En España, la actividad humana ha colaborado en los intensos procesos de deforestación, normalmente por procesos ligados a la necesidad del uso del territorio. La deforestación implica una disminución de los recursos forestales. La habilidad de plantar árboles ha existido durante dos mil años, pero no es hasta la Edad Media cuando empieza a haber referencias sobre la actividad restauradora del monte, ya que nace la sensibilidad y la necesidad de restaurar el arbolado desaparecido. En Europa se empiezan a extender las repoblaciones en el siglo XVIII y en España se dicta la primera legislación repobladora en el último cuarto del siglo XIX (Montero, 1997). A principios del siglo XX, en plena guerra civil, se aprueba el Plan Nacional de Repoblación Forestal, por los ingenieros de montes Ceballos y Ximénez de Embún (Ortuño Medina, 1990). Dicho Plan estaba incluido dentro de un programa de planificación territorial de cara a evitar en el futuro repoblaciones uniformes y monoespecíficas, fomentando la biodiversidad y facilitando la evolución de la vegetación hacia su clímax. Dicha actuaciones en etapas posteriores a la repoblación inicial, no se llevaron a cabo en la mayoría de los casos (Madrigal, 1998). En el período de 1940-1984 la superficie repoblada asciende a más de 3.3 millones de ha, mayormente con utilización de especies del género *Pinus* (Figura 2.3). Tras un descenso de la actividad repobladora en los años 80, se vuelve a retomar la actividad en los años 90 a partir del Programa de Forestación de Tierras Agrarias, donde la política de repoblaciones de pináceas monoespecíficas se repite. Esta actividad repobladora ha sido resultado de distintos programas con objetivos muy diferentes (restauración hidrológico-forestal, reforestación de terrenos agrícolas abandonados, plantaciones productivas, etc.). Como resultado tenemos un conglomerado de masas naturales y de plantaciones de origen usualmente desconocido.

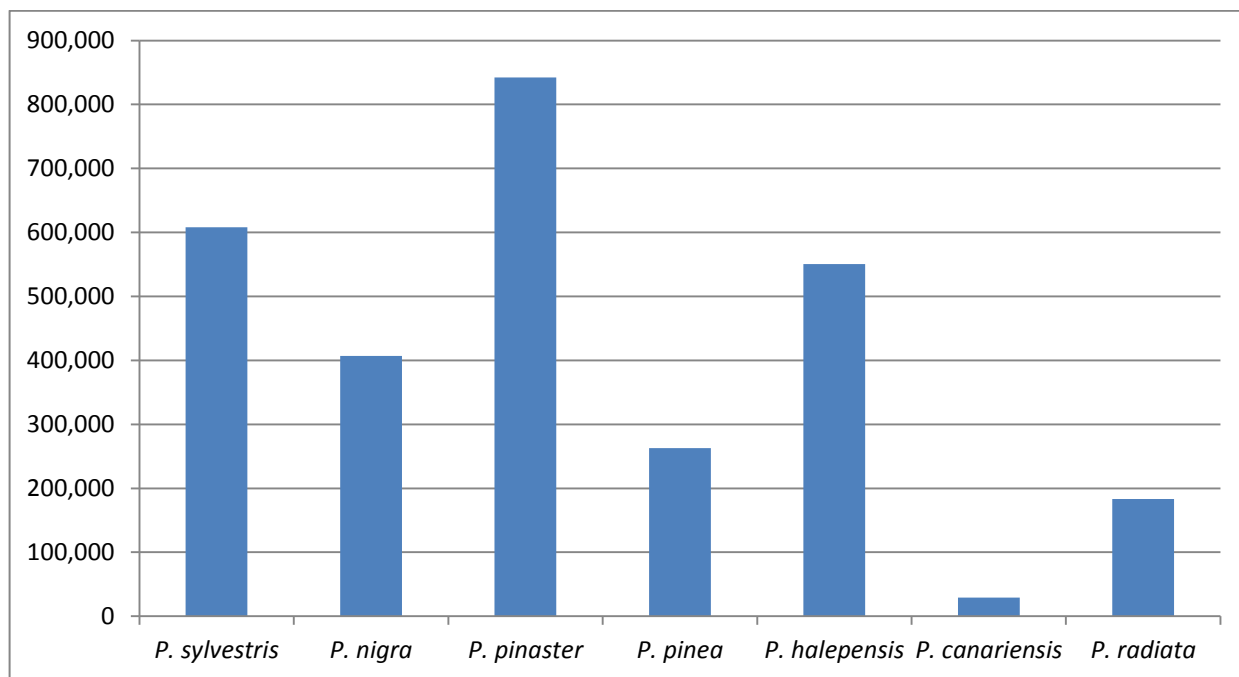


Figura 2.3. Especies de Pinus empleadas en la repoblación y superficie (ha) (1940-1984) (Pemán and Navarro, 1998)

La actual amenaza en cuanto al aumento de las temperaturas y la disminución de las precipitaciones que provocan el alargamiento de la duración de las sequías estivales junto con la existencia de gran cantidad de suelos pobres, se recomienda la utilización del pino carrasco para llevar a cabo repoblaciones, con el fin de conservar en un futuro la superficie forestal.

2.5. Los conceptos de biodiversidad y biomasa. Relaciones entre ambos

La biodiversidad es un concepto muy amplio, desde el punto de vista de los ecosistemas forestales, y en concreto los pinares, integrando conceptos como la diversidad de vegetación (Paquette and Messier, 2010) y la diversidad genética (Fady, 2012). En la Península Ibérica, los bosques naturales y las plantaciones (forestaciones o reforestaciones) se entremezclan de ahí que ambos tipos de masas deban ser consideradas a la hora de caracterizar estos ecosistemas. Cada vez tiene mayor interés la multifuncionalidad de los bosques y el integrar

distintas aproximaciones a la hora de analizar los mismos, como la capacidad de fijar carbono por parte de los mismos (Canadell and Raupach, 2008). Existe una mayor conciencia con respecto al manejo sostenible, la restauración y la multifuncionalidad de los bosques plantados, especialmente en la Cuenca Mediterránea donde las especies de pinos han sido ampliamente utilizadas. Repoblaciones maduras pueden ser evaluadas tanto en sus objetivos iniciales (reducir erosión, mejorar condiciones suelos, etc.) como consideraciones actuales (fijación de carbono, diversidad de plantas, diversidad genética, etc.). Las repoblaciones antiguas suelen ser monoespecíficas, siguiendo una distribución regular que en la mayoría de casos no mimetizan la estructura de edades, especies acompañantes y cobertura de suelo de los bosques próximos establecidos naturalmente. Por ello hoy en día existe una urgente necesidad desarrollar estrategias para incrementar la capacidad de las repoblaciones de manera que estén más próximas a las masas naturales del lugar en términos de biodiversidad y función ecosistémica (Evans, 2009).

La diversidad de plantas puede evaluarse desde distintos puntos de vista pero normalmente se toman datos de riqueza de especies, índices de diversidad (Shannon), y estimadores de vegetación como cobertura de especies (Osem et al., 2008). La diversidad genética se puede estudiar a distintos niveles, desde la población a los individuos, y utilizando distintos tipos de aproximaciones. La más inmediata es la derivada de las regiones de procedencia de las principales especies forestales. En el caso de no conocerse la procedencia o el origen de las poblaciones artificiales, la diversidad genética se puede evaluar mediante marcadores moleculares, como microsatélites que en el caso de especies del género *Pinus* presentan distintos niveles en función de la especie en cuestión (Soto et al., 2010). Otro apartado interesante y poco estudiado es la relación de los dos componentes de biomasa estudiados y su relación con la producción de biomasa. En masas naturales de centro Europa, tomando como referencia otras especies arbóreas, se ha demostrado un bajo nivel de relación entre diversidad de especies y producción de biomasa aérea (Szwagrzyk and Gazda, 2007).

En ecosistemas tropicales las plantaciones suelen recuperarse más rápidamente de la producción en biomasa que de la riqueza de especies, en comparación con el bosque maduro autóctono (Letcher and Chazdon, 2009). Eso sí aunque las diferencias en cuanto a diversidad y composición de especies sean muy altas entre plantaciones y masas naturales, las primeras pueden proporcionar al ecosistema depósito de carbono (Grace, 2004), protección del suelo frente a la erosión (Fearnside and Guimaraes, 1996), zonas de refugio para la biodiversidad en

ecosistemas fragmentados (Chazdon, 2003), además de fuentes de madera y otros recursos forestales (Chazdon and Coe, 1999).

2.6. Bibliografía

Alía R, et al. Regiones de procedencia de especies forestales en España. (2009) Madrid: OA Parques Nacionales.

Barbero M, Loisel R, Quezel P, Richardson DM, Romane F. 8 Pines of the Mediterranean Basin. In: Ecology and biogeography of Pinus (2000) Cambridge: Cambridge University Press. 153.

BOE. Real Decreto 289/2003, de 7 de marzo, del Ministerio de la Presidencia sobre comercialización de los materiales forestales de reproducción (2003): BOE núm. 58, de 8 de marzo.

Canadell JG, Raupach MR. Managing forests for climate change mitigation. Science (2008) 320:1456-1457.

Chazdon RL. Tropical forest recovery: legacies of human impact and natural disturbances. Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics (2003) 6:51-71.

Chazdon RL, Coe FG. Ethnobotany of woody species in second-growth, old-growth, and selectively logged forests of northeastern Costa Rica. Conservation Biology (1999) 13:1312-1322.

Evans J. Planted forests: uses, impacts and sustainability. (2009): Food and Agriculture Organization of the United Nations and CAB International. 224 p. Rome.

FAO. Global forest resources assessment 2010. (2010) Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO).

Fabbio G, Merlo M, Tosi V. Silvicultural management in maintaining biodiversity and resistance of forests in Europe - the Mediterranean region. Journal of Environmental Management (2003) 67:67-76.

Fady B. Biogeography of neutral genes and recent evolutionary history of pines in the Mediterranean Basin. Annals of Forest Science (2012) 69:421-428.

Fady B, Medail F. Mediterranean forest ecosystems. In: Encyclopedia of forest science--Burley JE, J; Youngquist, JA., ed. (2004) London: Elsevier. 1403-1414.

- Fady B, Semerci H, Vendramin GG. Technical guidelines for genetic conservation and use for Aleppo pine (*Pinus halepensis*) and Brutia pine (*Pinus brutia*). In: International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy (2008). 6.
- Farjon A. A natural history of conifers. (2008): Time Press, Portland.
- Fearnside PM, Guimaraes WM. Carbon uptake by secondary forests in Brazilian Amazonia. *Forest Ecology and Management* (1996) 80:35-46.
- Grace J. Understanding and managing the global carbon cycle. *Journal of Ecology* (2004) 92:189-202.
- Herranz JM. Aspectos botánicos y ecológicos del pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.) Cuaderno Sociedad Española Ciencias Forestales (2000) 10:13-17.
- Letcher SG, Chazdon RL. Rapid Recovery of Biomass, Species Richness, and Species Composition in a Forest Chronosequence in Northeastern Costa Rica. *Biotropica* (2009) 41:608-617.
- Madrigal A. Problemática de la ordenación de masas artificiales en España. Cuaderno de las Sociedad Española de Ciencias Forestales (1998) 6:13-20.
- Medail F, Quezel P. Biodiversity hotspots in the Mediterranean basin: Setting global conservation priorities. *Conservation Biology* (1999) 13:1510-1513.
- Montero G. Breve descripción del proceso repoblador en España (1940-1995). *Legno Celulosa Carta* (1997) 4:35-42.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* (2000) 403:853-858.
- Noss RF. Indicators for monitoring biodiversity- A hierarchical approach. *Conservation Biology* (1990) 4:355-364.
- Ortuño Medina F. El Plan para la Repoblación Forestal de España del año 1939. Análisis y comentarios. *Ecología* (1990) Fuera de Serie 1:373-392.
- Osem Y, Ginsberg P, Tauber I, Atzmon N, Perevolotsky A. Sustainable management of Mediterranean planted coniferous forests: An Israeli definition. *Journal of Forestry* (2008) 106:38-46.

Paquette A, Messier C. The role of plantations in managing the world's forests in the Anthropocene. *Frontiers in Ecology and the Environment* (2010) 8:27-34.

Pemán J, Navarro R. *Repoblaciones Forestales*. (1998): Edicions de la Universitat de Lleida.

Prada A. Guía técnica para la conservación genética y utilización del pino carrasco (*Pinus halepensis*) en España. In: *Foresta* (2008) Madrid. 2.

Quézel P. Taxonomy and biogeography of Mediterranean pines (*Pinus halepensis* and *P. brutia*). In: *Ecology, biogeography and management of Pinus halepensis and P. brutia forest ecosystems in the Mediterranean Basin*--Ne'eman G, Trabaud L, eds. (2000). 1-12.

Ruiz de la Torre J. *Flora mayor*. (2006) Madrid: Organismo Autónomo Parques Nacionales, Dirección General para la Biodiversidad, Ministerio de Medio Ambiente.

Soto A, Robledo-Arnuncio JJ, Gonzalez-Martinez SC, Smouse PE, Alia R. Climatic niche and neutral genetic diversity of the six Iberian pine species: a retrospective and prospective view. *Molecular Ecology* (2010) 19:1396-1409.

Szwagrzyk J, Gazda A. Above-ground standing biomass and tree species diversity in natural stands of Central Europe. *Journal of Vegetation Science* (2007) 18:555-562.



OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

El objetivo general de esta Tesis Doctoral es comprobar si existen diferencias entre masas naturales y repoblaciones adultas de *Pinus halepensis* en cuánto a biodiversidad y producción de biomasa. Así como estimar si las diferencias existentes en niveles de diversidad genética en poblaciones naturales del género *Pinus* permiten identificar el origen a repoblaciones y por tanto determinar de forma precisa este componente de biodiversidad a nivel poblacional. Para conseguir este objetivo general, se plantearon los siguientes objetivos específicos:

Objetivo 1. Estimación y comparación de la diversidad de vegetación entre masas naturales y artificiales de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica.

Objetivo 2. Comparación de la producción y asignación de biomasa entre masas naturales y artificiales de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica

Objetivo 3. Diferenciación en producción de biomasa y su relación con la diversidad genética en tres especies del género *Pinus* en España

Objetivo 4. Estimación de la diversidad genética entre poblaciones naturales de pinos mediterráneos en España para poder asignar el origen a poblaciones de origen desconocido.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El presente apartado de la Tesis Doctoral reúne los cuatro trabajos de investigación realizados estructurados en 4 capítulos. A continuación, se indica el título y el estado de los trabajos en el proceso de publicación:

- El capítulo 1 titulado “Estimación y comparación de la diversidad de vegetación entre masas naturales y artificiales de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica” ha sido enviado a la revista *New Forests*.
- El capítulo 2 titulado “Comparación de la producción y asignación de biomasa entre masas naturales y artificiales de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica” será enviado a la revista *European Journal of Forest Research*.
- El capítulo 3 titulado “Diferenciación en producción de biomasa y su relación con la diversidad genética en tres especies del género *Pinus* en España” será enviado a la revista *Forest Systems*.
- El capítulo 4 titulado “Identificación de acervos genéticos mediante CpSSR para actividades de conservación y restauración de especies del género *Pinus* en España” está siendo revisado en la revista *Tree Genetics & Genomes*.

[Escriba texto]

[Escriba texto]

4.1. Estimación y comparación de la diversidad de vegetación entre masas naturales y artificiales de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica

Resumen:

La Cuenca Mediterránea es una de las regiones del mundo con mayor proporción de bosques plantados. Las plantaciones maduras deben compararse con masas naturales cercanas en términos de biodiversidad y composición de especies para evaluar a largo plazo la eficiencia de los programas de reforestación. En este estudio, seleccionamos masas de *Pinus halepensis* naturales y plantadas en el sureste de la Península Ibérica con condiciones climáticas contrastadas (precipitación), donde comparamos las características de la estructura de las masas y parámetros de vegetación. Las masas naturales presentaron significativamente mayores coberturas y áreas basimétricas que las repoblaciones cercanas, así como menores densidades de pino. Así mismo, las masas naturales tenían mayor cobertura de sotobosque, riqueza de especies e índice de Shannon, especialmente para las formas de vida de árboles y arbustos, siendo estas diferencias más acusadas con el aumento de la precipitación. Las principales causas atribuidas han sido la densidad de la especie principal, así como la madurez de las masas y la heterogeneidad espacial. Este estudio proporciona información valiosa para evaluar programas de reforestación de cara a satisfacer objetivos ecosistémicos del siglo XXI, como biodiversidad, así como pone de manifiesto la urgente necesidad de intervención en repoblaciones antiguas.

Palabras clave: pino carrasco, plantaciones, masas naturales, ecosistemas mediterráneos, diversidad de plantas, composición de especies.

[Escriba texto]

[Escriba texto]

Research paper

New Forests

Title: "Natural vs. planted Aleppo pine forests in south-eastern Spain: comparison of stand structure and vegetation diversity"

Enrique Hernández-Tecles^{1*}, Yagil Osem², Raquel Alfaro-Sánchez¹, Jorge De las Heras¹.

¹*Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad de Castilla-La Mancha. Campus Universitario s/n. 02071 Albacete, Spain.*

²*Department of Natural Resources, Agricultural Research Organization, Volcani Center. P.O. Box 6, 50250 Bet-Dagan, Israel.*

***Author for correspondence:**

Enrique Hernández Tecles

E-mail: enrique.hernandez.tecles@gmail.com

Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Universidad de Castilla-La Mancha. Campus Universitario s/n. 02071 Albacete, Spain.

Phone: 0034 967 599 200

Fax: 0034 967 599 238

[Escriba texto]

Abstract

The Mediterranean Basin is one of the world regions with the largest proportion of planted forests. Mature plantations should be compared to nearby natural woodlands in vegetation structure and diversity terms to provide management guidelines and improve the effectiveness of reforestation programmes. In the current study, we selected natural and nearby planted stands of *Pinus halepensis* Mill. in south-eastern Spain along a climatic (precipitation) gradient, where we compared stand structure characteristics and understory vegetation parameters. Natural stands presented lower pine tree densities but significantly greater basal area than nearby planted stands. Canopy cover was similar among the two. Natural stands had higher values of understory plant cover, species richness and diversity, especially for tree and shrub life form groups. These differences enlarged with increasing precipitation and were attributed, mainly, to stand density and spatial arrangement, in addition to system maturity. This study provides valuable information for evaluating reforestation programmes in order to face 21st century objectives, such as biodiversity, concluding that urgent intervention measures (e.g. thinning) should be considered.

Keywords: (4-6) Aleppo pine, plantations, natural stands, Mediterranean ecosystems, plant diversity, species composition

4.1.1. INTRODUCTION

Planted forests are expanding worldwide, while natural forests are declining and becoming increasingly fragmented (FAO 2010). Throughout the 20th century, planted forests were managed generally for timber and fibre production, and a gradually increasing tendency towards protective and/or recreational purposes was seen (Evans 2009). Nowadays, management goals are becoming more ambitious as new aspects, such as biodiversity (Paquette and Messier 2010) and carbon sequestration (Canadell and Raupach 2008), are being considered. At a worldwide level, planted forests are often highly controversial, and have even been proposed as “green deserts” (Bremer and Farley 2010) or “novel ecosystems” (Hobbs et al. 2009), which cannot provide the biodiversity and ecosystem services achieved by natural forests (Rey Benayas et al. 2009). Forest plantations have increasingly become the object of ubiquitous land use, with sharp debates on the extent to which these anthropogenic systems encourage and sustain biodiversity (Brockhoff et al. 2008).

Forest plant diversity and composition are among the main forest management policy concerns. Nowadays, there is an urgent need to develop management strategies to increase the capacity of planted forests so that they become more like natural forest

systems in terms of their biodiversity and ecosystem functioning (Evans 2009).

The Mediterranean Basin is one of the world regions with the largest proportion of planted forests (FAO 2010). For example in Spain, a vast reforestation programme from 1940 to 1995 involved around 3.5 million ha of planted forests (Montero 1997) for mainly protective purposes. Autochthonous *Pinus* species were used mainly for their fast-growing pioneer performance to provide rapid ground coverage and to eventually facilitate the establishment of late successional hardwoods (Chirino et al. 2006; Zavala and Zea 2004). Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) was one of the dominant trees species used in Spanish dry and semiarid regions. In these areas, Aleppo pine can be considered to be a pioneer species, when ecological conditions are favourable, or a climax species (Gil et al. 1996; Maestre and Cortina 2004).

According to the Spanish Forest Inventory from 1986-96 (the second inventory interval) to 1997-2007 (the third interval), Aleppo pine forests have increased woodland areas in south-eastern Spain by more than 90% (the provinces of Murcia and Albacete), covering an area around 0.5 million ha.

Monitoring and assessing afforestation actions are a costly process (Holl and Howarth 2000) and priorities may have changed since the beginning of this enterprise (Maestre and Cortina 2004). Such assessment should be based on

[Escriba texto]

updated long-term objectives. For example, lack of post-planting operations -due to high treatment costs and low timber values- has often resulted in overly dense stands with arrested regeneration and succession. It is necessary to examine mature Aleppo pine plantations, and to assess their structure and function in relation to coetaneous natural Aleppo pine woodlands. Furthermore, understanding the interactive relationships between silvicultural variables (e.g., tree density, overstory canopy cover) and environmental variables (e.g., precipitation) in determining forest vegetation diversity and composition is important. Such understanding may help prescribe management strategies that will lead Aleppo pine plantations towards higher biodiversity and increased provision of ecosystem services.

The vast majority of vegetation diversity studies in Spain have been conducted through large-scale forest inventories, which provide a very important source of information on this scale (Ruiz-Benito et al. 2012; Martin-Queller et al. 2011). Other medium-small scale studies conducted in dry and semiarid Mediterranean regions (Chirino et al. 2006; Bellot et al. 2004; Maestre et al. 2003) have focused mainly on comparing Aleppo pine plantations with natural shrublands or grasslands, but not on comparing plantations with natural Aleppo pine woodlands. Therefore, studies that compare planted vs. natural Aleppo pine stands, including overstory and understory

vegetation structure and composition, could prove extremely useful for certain silvicultural and environmental aspects. To the best of our knowledge, no such attempt has been made in south-eastern Spain or in any other nearby Mediterranean region.

Our general research aim was to compare vegetation in natural vs. planted Aleppo pine forests, and to identify possible environmental and silvicultural causes for variation. We addressed the following specific objectives: 1) to compare stand characteristics in natural vs. planted mature Aleppo pine forests; 2) to compare understory plant diversity and composition in natural vs. planted forests; 3) to assess patterns in plant species diversity and composition related to climatic conditions and stand characteristics.

4.1.2. MATERIAL AND METHODS

Study area

Three study sites were chosen in south-eastern Spain: 1) close to the villages of Yeste, 2) Liétor and, 3) Calasparra (the provinces of Murcia and Albacete). The chosen sites are representative of the Mesomediterranean bioclimatic belt (Rivas-Martínez et al. 1987) and cover all the subdivisions: Low for Calasparra (Low, hereafter), Medium for Liétor (Medium, hereafter) and High for Yeste (High, hereafter) (Fig. 1). Climatic variables were extracted from a 1 km² spatial resolution map (Gonzalo 2008), showing that altitude,

[Escriba texto]

mean annual precipitation (precipitation, hereafter) and average temperature correlated strongly. The amount of precipitation was selected as a representative continuous variable for site climatic differentiation. The three precipitation levels are in accordance with bioclimatic nomenclature; e.g., Low, Medium and High. Natural potential vegetation (Blanco et al. 1997) varied from a mixed pine-oak forest of *Pinus halepensis*, *Pinus pinaster* Ait. and *Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp.) at the High site to an Aleppo pine woodland with kermes oak (*Quercus coccifera* L.) at the Medium and Low sites. In these study areas, with adverse environmental conditions (e.g., poor soils, severe droughts, fire recurrence), natural potential vegetation appeared in reduced microsites of north-facing slopes. Topographic aspect, slope, soil and bed-rock type were homogeneous among the three sites (see Table 1).

Experimental design and sampling

For each site, two Aleppo pine stand origins were selected: natural and planted. This was done for *P. halepensis* according to the Spanish Regions of Provenance for Forests Species, considering all stands within the same provenance region and a similar genetic background (Alía et al. 2009). Planted stands were characterised by evenly spaced rows of trees and a consistent mechanical site preparation

protocol. Three square plots of 400 m² were randomly set to represent every two stand origins, with a total of 18 plots distributed among the three sites and two origin types. The line distance between natural and planted stands per site was less than 1 km. The stand overstorey was composed of unmanaged monospecific mature Aleppo pines of ca. 40 and 70 years old for planted and natural stands, respectively.

The variables measured at each study plot were: number of mature pine trees; pine stem diameter at breast height; crown diameter measured along two perpendicular directions. The overlapping between tree crowns was also considered. For each stand, the following were calculated: pine tree density (number of trees ha⁻¹); pine stem basal area (m² ha⁻¹); canopy cover (%) deducting (Table 2).

Understorey species cover was measured using the line-intercept method (Boyd et al. 2007) with six equidistant linear transects of 15 m measured in Spring and Autumn 2011 in each plot. All the understorey plants intercepting each transect were recorded. For each plot, total vegetation cover and two diversity indices were calculated; e.g., species richness and the Shannon-Weaver Diversity Index. In order to obtain life form spectra, plant species were classified according to life form categories (Castroviejo 1986-2012; Tutin et al. 1986-1993), where each species was assigned to its higher potential life form. Understorey

[Escriba texto]

woody vegetation (UWV, hereafter) and herbs were distinguished, with the former including trees, shrubs and dwarf-shrubs, and the latter including perennial and annual herbs.

Statistical analysis

Multifactorial analyses of variance (Two-way ANOVA) were used to evaluate the effects of the *Origin* (planted, natural) and *Precipitation* level (High, Medium, Low) on stand characteristics, vegetation cover, species richness, Shannon index and life form abundance. Each response variable was examined for the normal distribution of errors using the Shapiro-Wilk statistics, and for homogeneity of variance using the Levene's and Bartlett's tests. If the assumptions of ANOVA were not met, not even after common mathematical transformations, then ANOVAs using rank-transformed data were conducted, as outlined in Conover et al. (1981 #861). The Tukey-Kramer HSD test was used for *post-hoc* comparisons.

Ordination analyses were applied to examine the variation in the species composition among forest stands. The species cover data were log-transformed ($\log x + 1$) to minimise the skewness of abundant species, and linear models were chosen according to the protocol described by (ter Braak and Smilauer 2012). Firstly, a principle component analysis (PCA) was carried out to observe the unconstrained ordination of species composition in the

various forest plots. Secondly, we did a redundancy analysis (RDA) to investigate the relationship between *Origin* and *Precipitation* on the one hand, and species composition on the other. The significance of these effects was determined by means of the Monte Carlo permutation tests.

The statistical packages used were JMP 9 (SAS Institute, Cary, NC, US) and Canoco v5 (ter Braak and Smilauer 2012).

4.1.3. RESULTS

Overstory stand characteristics

Pine stand density was significant for *Origin* (Table 2) as natural stands presented significantly lower densities than planted ones (average values of 372 and 710 trees ha^{-1} for natural and planted, respectively). The stem basal area, however, was significantly higher in natural stands (ca. 12 vs. 8 $\text{m}^2 \text{ha}^{-1}$ for natural and planted, respectively), and significantly increased with *Precipitation* in both origins (Tables 2 and 3). Density, as well as pine stem basal area, presented no significant *Origin* \times *Precipitation* interaction. No *Origin* effect was found for pine canopy cover, instead we found a significant *Origin* \times *Precipitation* interaction (Table 2). In general, the canopy cover values were very close in the planted and natural stands at the High and Medium sites, while the natural stands at the Low site presented higher cover values than planted stands (Table 3). The pine canopy

[Escriba texto]

cover values increased significantly with increasing *Precipitation* (Table 3).

Understory vegetation cover and diversity

Total understory vegetation and woody understory vegetation (UWV) cover exhibited a significant *Origin* × *Precipitation* interaction (Table 4). Both cover parameters were significantly higher on natural stands than on planted ones for all three study sites (ca. 1.5- to 15-fold, Fig. 2). The biggest differences between natural and planted stands were found for UWV cover at the High site (ca. 105 to 7%, respectively; Fig. 2), while the smallest differences were observed for the total cover values at the Low site (ca. 130 to 95%, respectively; Fig. 2). Total vegetation cover increased with decreasing *Precipitation*, while no such a relationship was found for UWV cover. The total number of understory species recorded across the entire experimental setup was 78, where woody species were represented by 34 species. Total species richness was significantly higher in natural stands than in planted ones (ca. 17 vs. 10 species, respectively; Table 4), and increased significantly with rising *Precipitation*. UWV species richness was significantly affected by *Origin* (Table 4), with a consistently greater woody richness (ca. 3-fold) observed in natural stands than in planted ones. The Shannon Diversity Index patterns for both total and woody vegetation were

similar to those observed for richness (Table 4, Fig. 2).

Life forms

UWV life forms (e.g., trees, shrubs and dwarf shrubs) and perennial herbs considering cover, species richness and the Shannon Index (Table 5), exhibited a significant *Origin* × *Precipitation* interaction. The trees and shrubs cover and diversity values were significantly higher in natural than in planted stands (Table 5), and they increased significantly across the *Precipitation gradient* (except for shrubs cover). The biggest differences among the *Origins* stands were found at the High site, e.g., the number of tree species found was 4 vs. 1, while the number of shrub species was 6 vs. 1, for natural and planted stands, respectively (Table 6). The dwarf shrubs cover and diversity values were also significantly higher in natural stands than in planted ones, and showed higher values and more pronounced differences among the *Origin* stands at the Medium site (Table 6).

The perennial herbs cover values were significantly higher (ca. 2-fold) in natural stands than in planted ones, while no *Origin* effect was detected for the richness and Shannon values. The perennial herbs cover values were significant for *Precipitation*, and they increased with decreasing *Precipitation*, while the opposite trend was seen for the Shannon values (Table 5). Regarding annual herbs, a significant *Origin*

[Escriba texto]

× *Precipitation* interaction was observed for species richness and the Shannon Index, which obtained higher values in planted stands than in natural stands (Tables 5 and 6), with significant differences noted at the Medium site. Annual herbs cover increased significantly with *Precipitation* level (Table 5), but no differences were found among the *Origin* stands.

Species composition

Understory woody species composition showed better discrimination among stands than the entire understory species composition. Therefore, perennial and annual herbs were removed from the ordination analyses. In the unconstrained linear ordination method (PCA), the first two axes explained 62.10% of the variation in the woody species composition between the studied forest stands. Natural stands were clearly separated from planted ones on the ordination matrix. Separation among sites on the ordination matrix was also evident within both origins. However this separation was much more pronounced in natural stands than in planted ones indicating that planted stands were more homogeneous than natural ones (Fig. 3).

In a constrained ordination analysis (RDA) of UWV composition, and by considering *Origin* and *Precipitation* as the main factors, the two factors significantly accounted for nearly 80% of the variation explained by the first two axes in the unconstrained analysis (Fig. 4). Two tree species, *P. halepensis*

seedlings and *Juniperus oxycedrus* L., and two shrubs species, *Cistus clusii* Dunal in DC. and *Rosmarinus officinalis* L., showed the closest association with natural stands. Among the natural stands, several tree and shrub species, e.g., *Cistus albidus* L., *Q. ilex subsp. ballota* and *Q. Coccifera*, were clearly associated with the higher *Precipitation* level (High site), while other species, e.g., *Thymus vulgaris* L. (dwarf shrub, also in planted stands) and *Coronilla juncea* L. (shrub), associated greatly with the lower *Precipitation* level (Low site). In the planted stands, one dwarf shrub species -*Sedum sediforme* (Jacq.) Pau- was closely associated with the High site. Another dwarf shrub -*Staehelina dubia* L.- was not particularly related to any of the stand origins, but was associated with the High site.

4.1.4. DISCUSSION

Overstory stand characteristics

Aleppo pine stand characteristics related strongly to *Origin* (natural or planted) and to the site climatic differentiation represented through the *Precipitation* gradient. In general, planted stands presented significantly higher stand densities, whereas natural stands gave higher basal area values. Thus, overstory Aleppo pine trees in natural stands were significantly larger and achieved higher stand performance per unit area with fewer trees. This fact could be the result of natural stands being older than

[Escriba texto]

planted ones (ca. 70 vs. 40 years, respectively), or owing to the interspecific competition in natural stands being less pronounced than in the more dense planted stands. It may have also been influenced to some extent by specific site conditions. Although not directly measured, the two origins differed strongly in terms of their tree spatial arrangement, which was much more heterogeneous in natural than in planted stands.

The average tree densities reported in this study for the mature *P. halepensis* planted stands (~700 trees ha⁻¹) did not differ that much from the common planting densities, over 1,000 trees ha⁻¹, applied to semiarid regions of Spain (Maestre and Cortina 2004). This fact indicates lack of thinning treatments, but also the relatively moderate natural mortality rate (ca. 30% over 40 years). Lack of thinning operations was commonplace in the plantations resulting from the vast reforestation programme carried out in Spain in the second half of the 20th century (Montero 1997). This was the outcome of the changes made in management policies associated with low timber values and scarce public funding (Madrigal 1998). There may be several explanations for the fact that natural *P. halepensis* stands were significantly less dense than planted ones: the natural stands originating from natural regeneration or spontaneous colonization may have been less dense from the very beginning in comparison with plantations. Additionally,

as they are older than the planted stands (ca. 70 years old), they may have undergone more advanced self-thinning to become less dense over the years. This, and more traditional silvicultural practices, may have been applied to these natural stands in the past by combining timber production with rangelands for domestic grazing, which could have led to the more open and less homogenous spatial distribution of trees observed.

Understory vegetation structure

The cover and diversity (richness and Shannon) of the total understory vegetation (woody and herbaceous), as well as woody vegetation alone (dwarf shrubs, shrubs, broadleaved trees and pines), were all significantly related to *Origin*; e.g., they were higher in natural than in planted stands. In general, a larger portion of variation in the understory vegetation structure was explained by *Origin* rather than by *Precipitation*. Regarding the woody species composition of natural stands, trees and shrubs were more characteristic of the High site (*Quercus* spp. and *Cistus albidus*), whereas shrubs and dwarf shrubs were more representative of the Medium and Low sites. *Quercus* spp. have been previously reported in the understory of natural Aleppo pine stands in similar mesic areas such as at the High site of the present study (Lookingbill and Zavala, 2000). Greater system maturity of natural stands as compared to planted ones could

[Escriba texto]

explain the prevalence of later successional species (such as *Juniperus oxycedrus* or *Quercus sps*), as well as higher potential life forms (e.g., woody vegetation in general, and trees in particular) in the former than in the latter. Nevertheless other factors, such as history of land use in relation to human interference and specific habitat conditions, may have contributed to the differences observed in understory characteristics. Understanding the importance of all these factors may contribute greatly to the management of both natural and planted *P. halepensis* woodlands.

Total understory vegetation cover (including woody and herbaceous) was found to be negatively related to *Precipitation*, while understory diversity was related positively to *Precipitation*. Higher understory vegetation cover at the Low (natural and planted stands) and Medium (natural stands only) sites have most likely resulted from the presence of esparto grass (*Macrochloa tenacissima*), which was extensively planted mainly for fibre harvesting and grazing purposes in these areas early in the 20th century (Cortina et al. 2009). This has resulted in increased herbaceous vegetation cover, but also in reduced woody vegetation cover and overall species diversity (Alados et al. 2006; Ramirez et al. 2006).

In previous studies conducted in other regions of Spain, higher woody richness has also been reported in natural vs.

planted *P. halepensis* stands (Ruiz-Benito et al. 2012). In a close semiarid area of south-eastern Spain, Chirino *et al.* (2006) reported poorer vegetation cover and species richness in the understory of Aleppo pine plantations. These authors made a comparison with adjacent natural grasslands and shrublands, but not with nearby Aleppo pine natural stands.

A cover-diversity relationship occurred in natural stands where total vegetation cover and, to a greater extent, woody cover were linearly and positively related to total and woody species diversity. Such a relationship has also been reported in nearby naturally regenerated Aleppo pine stands (Gonzalez-Ochoa et al. 2004; Moya et al. 2009). However in the planted stands of the present study, understory vegetation cover and diversity were not related. This may have resulted from the fact that very few species were actually present in the planted stands, which led to high vegetation cover, but also to low diversity.

Finally, the understory vegetation in mature natural *P. halepensis* is well-developed with a high species diversity of variable life forms. Yet in plantations, the understory was dominated by a homogeneous herbaceous cover and showed low species diversity. In the present study, we found woody vegetation structure to be a sensitive indicator for ecosystem status, as found in previous studies in other Mediterranean forests (Osem et al. 2012; Ruiz-Benito et al. 2012).

Overstory-understory relationship

When looking at the entire research setup, a positive overstory-understory relationship emerged which revealed greater understory development (vegetation cover, diversity and later successional species), with an increased stand basal area and a tree crown diameter, both of which characterized natural stands and higher precipitation. However when observing the overstory canopy cover, a more complex overstory-understory relationship appeared in which natural stands presented a positive overstory-understory relationship, whereas planted stands showed a negative relationship. A negative overstory-understory relationship, as found in planted stands, is commonly attributed to light interception (shading) and to competition for below-ground resources. A positive overstory-understory relationship, however, may be attributed to system maturity and complexity, as expected in well-developed natural forest systems. Uneven tree distribution and low well-developed trees density are typical of the studied natural stands, and should likely result in a high spatial heterogeneity in the availability of above- and below-ground resources to understory vegetation, including completely unshaded gaps (Broncano et al. 1998). These gaps would have favoured the establishment of the different light-demanding species present as seeds and/or seedlings (Pausas and Austin 2001).

Thus, in simply-structured dense forest systems with homogeneous tree size and distribution, understory development should be expected to be negatively affected by increasing overstory development due to intensified competitive pressure. However in heterogeneously structured forest systems, increased overstory development should not be necessarily associated with diminished understory as this development reflects increased system maturity and complexity.

Future management considerations

By observing the main differences between natural and planted stands, management practices should focus primarily on reducing mature plantation tree densities. This has also been proposed for nearby natural regenerated areas after forest fires and having considered various aspects (De las Heras et al. 2002; Moya et al. 2009). Additionally, thinning strategies should strive to create an uneven tree distribution, including completely unshaded gaps of variable sizes. This should result in a more natural-like forest structure, and ought to contribute largely to forest diversity and complexity. The introduction of seed sources through planting towards late successional woody species (mainly trees and shrubs) should be considered a means by which to enhance forest understory development (diversity and cover) (Ruiz-Benito et al. 2012).

[Escriba texto]

One key question to consider is the age at which *P. halepensis* plantation interventions should be applied to most efficiently direct these system towards increased complexity, diversity and sustainability. Given the financial limitations to intensive care in such systems with a low commercial value, this question is certainly not a trivial one. Further research is required to develop such management guidelines by taking into account environmental variability.

4.1.5. CONCLUSIONS

Lower tree density with larger tree dimensions and higher stand performance, as found in the studied natural stands, is likely desirable for several forestry aspects apart from plant diversity, such as carbon storage, fire hazard reduction, tree longevity and forest aesthetic values. Planted stands need urgent intervention in order to achieve a similar status on plant diversity, species composition and stand structure to those in nearby natural Aleppo pine woodlands. Unmanaged plantations have proven less effective in biodiversity terms as compared to natural stands.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to José María Herranz for his valuable help with the plant inventories, and to Javier Hedo and Daniel Moya for their field assistance. We thank Helen Warburton for reviewing the language.

FUNDING

The study has been funded by P01109-0096-3367 and PO110-0112-7316, of the Regional Council of Castilla-La Mancha, and CONSOLIDER-INGENIO 2010: MONTES (CSD 2008-00040) of the Spanish Ministry of Science and Innovation.

BIBLIOGRAPHY

Alados CL, Gotor R, Ballester P, Navas D, Escos JM, Navarro T, Cabezudo B (2006) Association between competition and facilitation processes and vegetation spatial patterns in alpha steppes. *Biol J Linn Soc* 87 (1):103-113. doi:10.1111/j.1095-8312.2006.00559.x

Alía R, García del Barrio JM, Iglesias S (2009) Regiones de procedencia de especies forestales de España. OA Parques Nacionales, Madrid

Bellot J, Maestre FT, Chirino E, Hernandez N, de Urbina JO (2004) Afforestation with *Pinus halepensis* reduces native shrub performance in a Mediterranean semiarid area. *Acta Oecol* 25 (1-2):7-15. doi:10.1016/j.actao.2003.10.001

Blanco E, Casado M, Costa M, Escribano R, García M, Génova M, Gómez A, Gómez F, Moreno J, Morla C (1997) Los bosques ibéricos. Una interpretación geobotánica. Planeta, Madrid

Boyd CS, Bates JD, Miller RF (2007) The influence of gap size on sagebrush cover

[Escriba texto]

estimates with the use of line intercept technique. *Rangeland Ecology & Management* 60 (2):199-202. doi:10.2111/05-226r2.1

Bremer LL, Farley KA (2010) Does plantation forestry restore biodiversity or create green deserts? A synthesis of the effects of land-use transitions on plant species richness. *Biodivers Conserv* 19 (14):3893-3915. doi:10.1007/s10531-010-9936-4

Brockhoff EG, Jactel H, Parrotta JA, Quine CP, Sayer J (2008) Plantation forests and biodiversity: oxymoron or opportunity? *Biodivers Conserv* 17 (5):925-951. doi:10.1007/s10531-008-9380-x

Broncano MJ, Riba M, Retana J (1998) Seed germination and seedling performance of two Mediterranean tree species, holm oak (*Quercus ilex* L.) and Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.): a multifactor experimental approach. *Plant Ecol* 138 (1):17-26. doi:10.1023/a:1009784215900

Canadell JG, Raupach MR (2008) Managing forests for climate change mitigation. *Science* 320 (5882):1456-1457. doi:10.1126/science.1155458

Castroviejo S (1986-2012) *Flora Iberica* vol 1-8, 10-15, 17-18, 21. Real Jardín Botánico, CSIC, Madrid

Cortina J, Maestre FT, Ramírez D (2009) *Innovations in Semiarid Land Restoration*.

The case of *Stipa tenacissima* L. steppes. In: Bautista S, Aronson R, J., Vallejo R (eds) *Land Restoration to Combat Desertification. Innovative Approaches, Quality Control and Project Evaluation*. Fundación CEAM, Valencia, pp 121-144

CSIC (1968) *Mapa de Suelos de España* (1:1,000,000). Consejo Superior Investigaciones Científicas (CSIC), Madrid

Chirino E, Bonet A, Bellot J, Sanchez JR (2006) Effects of 30-year-old Aleppo pine plantations on runoff, soil erosion, and plant diversity in a semi-arid landscape in south eastern Spain. *CATENA* 65 (1):19-29. doi:10.1016/j.catena.2005.09.003

De las Heras J, Martínez-Sánchez J, González-Ochoa A, Ferrandis P, Herranz J (2002) Establishment of *Pinus halepensis* Mill. saplings following fire: effects of competition with shrub species. *Acta Oecol* 23 (2):91-97

Evans J (2009) *Planted forests: uses, impacts and sustainability*. Food and Agriculture Organization of the United Nations and CAB International. 224 p. Rome.,

FAO (2010) *Global forest resources assessment 2010.*, vol 141. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome

Gil L, Díaz-Fernández P, Jiménez M, Roldán M, Alía R, Agúndez D, De Miguel J, Martín S, De Tuerto M (1996) *Regiones de*

[Escriba texto]

procedencia de *Pinus halepensis* Mill. OA Parques Nacionales, Madrid

Gonzalez-Ochoa AI, Lopez-Serrano FR, de las Heras J (2004) Does post-fire forest management increase tree growth and cone production in *Pinus halepensis*? For Ecol Manag 188 (1-3):235-247. doi:10.1016/j.foreco.2003.07.015

Gonzalo J (2008) Diagnósis fitoclimática de la España peninsular. Actualización y análisis geoestadístico aplicado. Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Madrid

Hobbs RJ, Higgs E, Harris JA (2009) Novel ecosystems: implications for conservation and restoration. Trends Ecol Evol 24 (11):599-605. doi:10.1016/j.tree.2009.05.012

Holl KD, Howarth RB (2000) Paying for restoration. Restor Ecol 8 (3):260-267. doi:10.1046/j.1526-100x.2000.80037.x

IGME (1975) Mapa Geológico de España a escala 1: 50.000 (MAGNA). Hojas: Liétor (842), Yeste (866) y Calasparra (890). Instituto Geológico y Minero de España (IGME), Madrid

Madrigal A (1998) Problemática de la ordenación de masas artificiales en España. Cuaderno de las Sociedad Española de Ciencias Forestales 6:13-20

Maestre FT, Cortina J (2004) Are *Pinus halepensis* plantations useful as a restoration tool in semiarid Mediterranean areas? For Ecol Manag 198 (1-3):303-317. doi:10.1016/j.foreco.2004.05.040

Maestre FT, Cortina J, Bautista S, Bellot J (2003) Does *Pinus halepensis* facilitate the establishment of shrubs in Mediterranean semi-arid afforestations? For Ecol Manag 176 (1-3):147-160. doi:10.1016/s0378-1127(02)00269-4

Martin-Queller E, Gil-Tena A, Saura S (2011) Species richness of woody plants in the landscapes of Central Spain: the role of management disturbances, environment and non-stationarity. J Veg Sci 22 (2):238-250. doi:10.1111/j.1654-1103.2010.01242.x

Montero G (1997) Breve descripción del proceso repoblador en España (1940-1995). Legno Celulosa Carta 4:35-42

Moya D, De las Heras J, Lopez-Serrano FR, Condes S, Alberdi I (2009) Structural patterns and biodiversity in burned and managed Aleppo pine stands. Plant Ecol 200 (2):217-228. doi:10.1007/s11258-008-9446-6

Osem Y, Zangy E, Bney-Moshe E, Moshe Y (2012) Understorey woody vegetation in manmade Mediterranean pine forests: variation in community structure along a rainfall gradient. European Journal of Forest Research 131 (3):693-704. doi:10.1007/s10342-011-0542-0

[Escriba texto]

Paquette A, Messier C (2010) The role of plantations in managing the world's forests in the Anthropocene. *Frontiers in Ecology and the Environment* 8 (1):27-34. doi:10.1890/080116

Pausas JG, Austin MP (2001) Patterns of plant species richness in relation to different environments: An appraisal. *J Veg Sci* 12 (2):153-166. doi:10.2307/3236601

Ramirez DA, Valladares F, Blasco A, Bellot J (2006) Assessing transpiration in the tussock grass *Stipa tenacissima* L.: the crucial role of the interplay between morphology and physiology. *Acta Oecol* 30 (3):386-398. doi:10.1016/j.actao.2006.06.006

Rey Benayas JM, Newton AC, Diaz A, Bullock JM (2009) Enhancement of biodiversity and ecosystem services by ecological restoration: a meta-analysis. *Science* 325 (5944):1121-1124

Rivas-Martínez S, Gandullo JM, Allué JL, González-Rebollar JL (1987) Memoria del mapa de series de vegetación de España: 1: 400.000. Serie Técnica ICONA. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Madrid

Ruiz-Benito P, Gomez-Aparicio L, Zavala MA (2012) Large-scale assessment of regeneration and diversity in Mediterranean planted pine forests along ecological gradients. *Divers Distrib* 18 (11):1092-1106. doi:10.1111/j.1472-4642.2012.00901.x

ter Braak CJF, Smilauer P (2012) *Canoco 5. Software for multivariate data exploration, testing, and summarization*. Biometris, Plant Research International, Wageningen

Tutin TG, Heywood VH, Burges NA, Valentine DH, Walters SM, Moore DM, *Flora Europaea V (1986-1993)* Flora Europaea, vol I-V. Cambridge University Press, London

Zavala MA, Zea E (2004) Mechanisms maintaining biodiversity in Mediterranean pine-oak forests: insights from a spatial simulation model. *Plant Ecol* 171 (1):197-207

[Escriba texto]

FIGURES

Fig. 1 Location map of the study sites

Fig. 2 Total and UWV (understory woody vegetation) cover, richness and Shannon considering the *Origin* × *Precipitation* interaction

Fig. 3 PCA with the log transformation of plots (triangles for natural stands and circles for planted stands)

Fig. 4 RDA showing the species composition in relation to origin and precipitation

[Escriba texto]

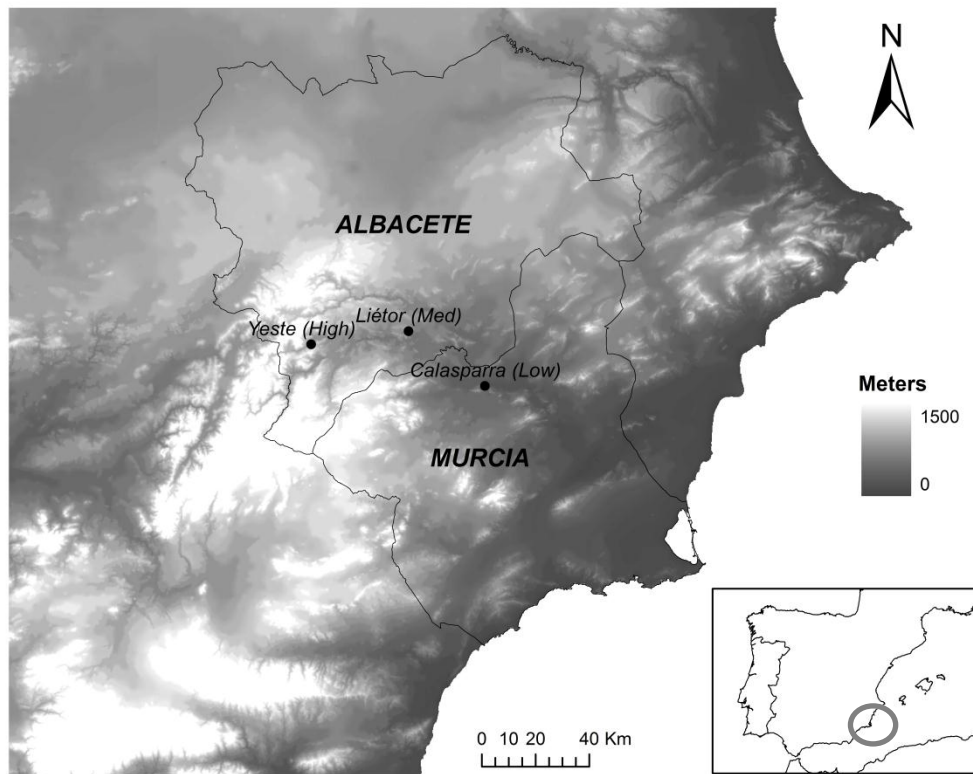


Fig.1

[Escriba texto]

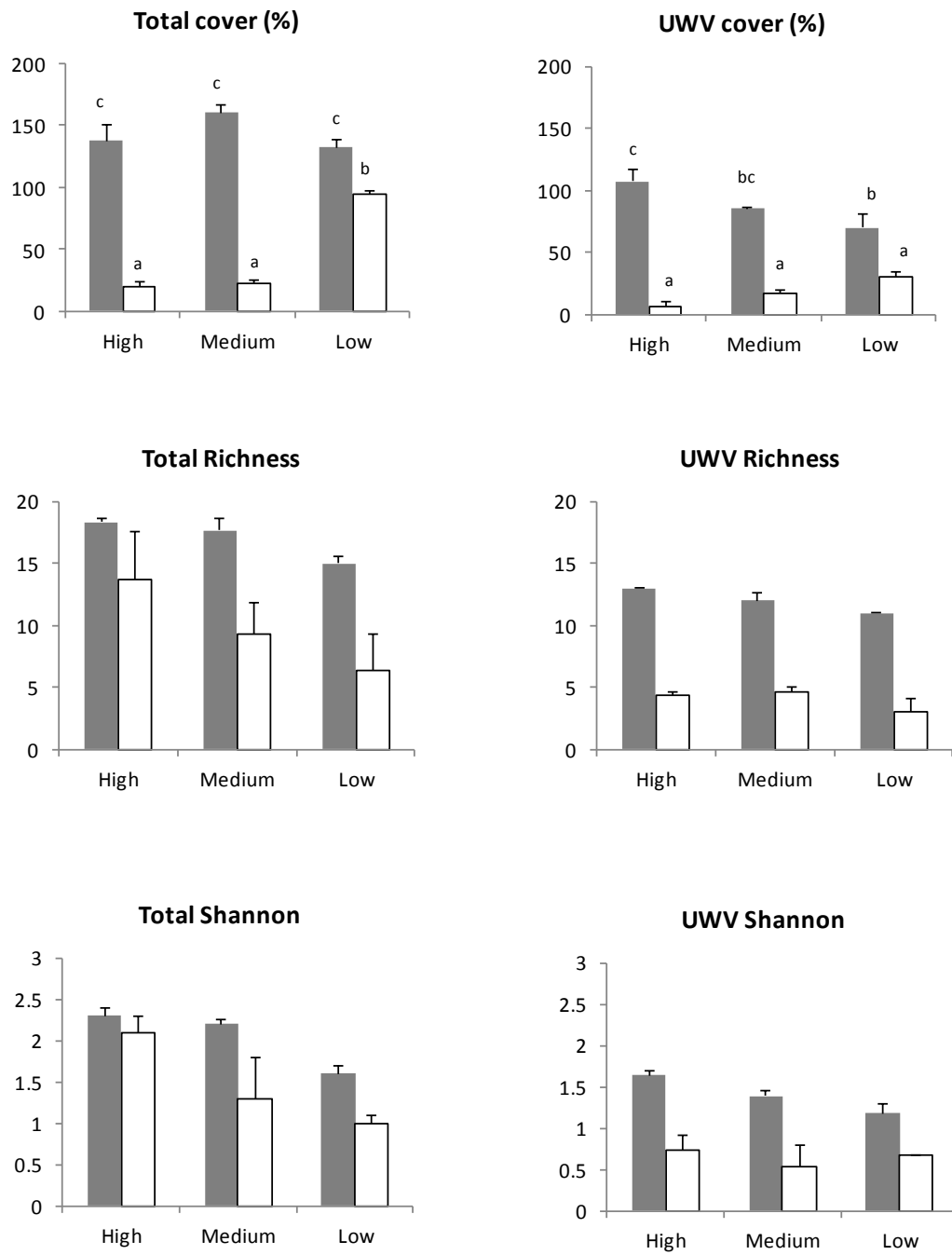


Fig. 2

[Escriba texto]

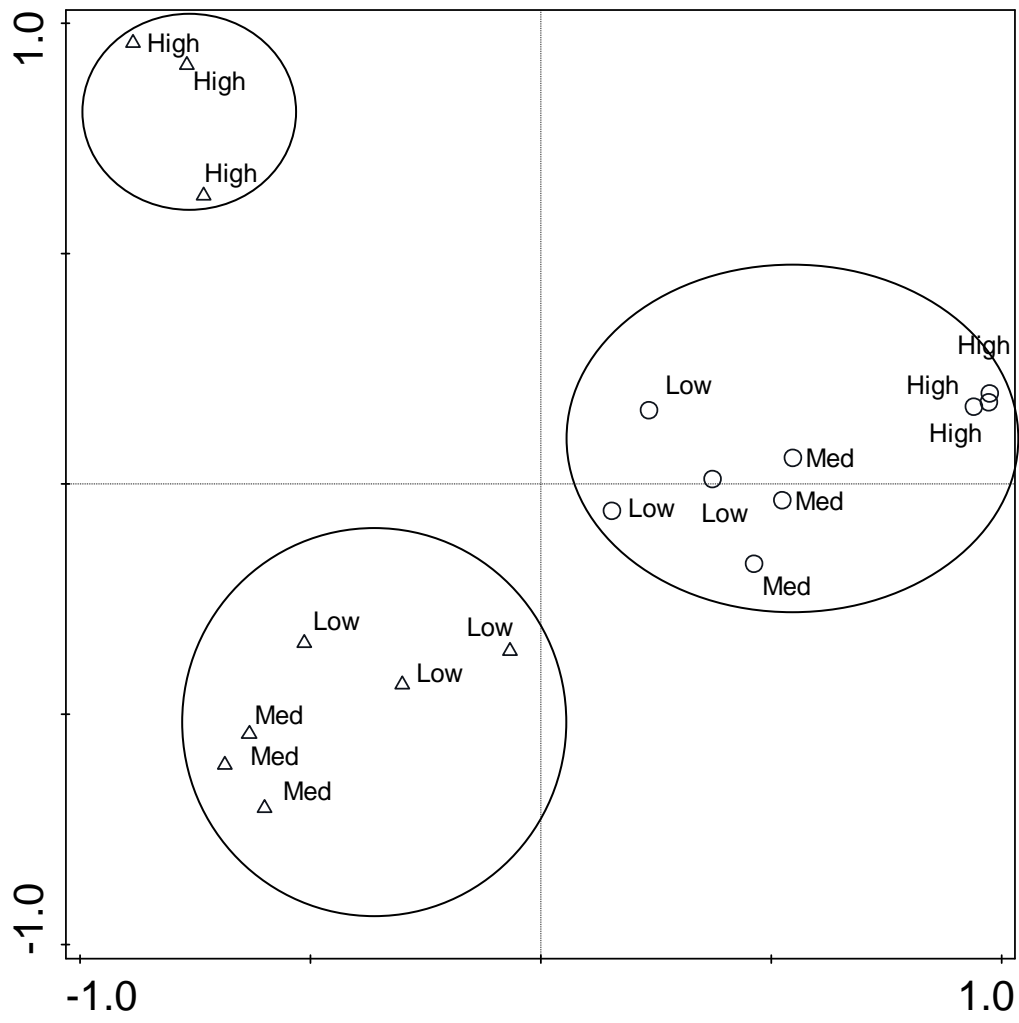


Fig. 3

[Escriba texto]

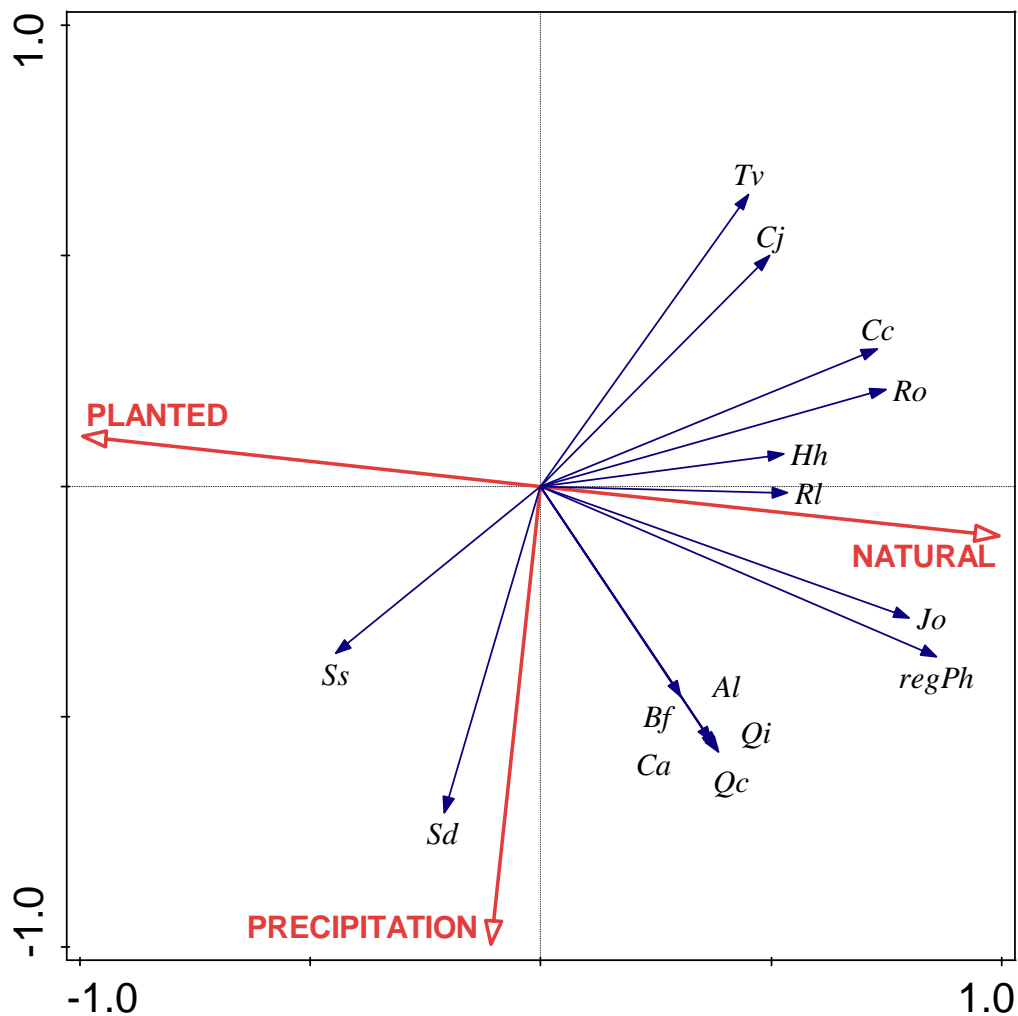


Fig.4

Al: *Anthyllis lagascana* Benedí; Bf: *Bupleurum fruticosum* L.; Ca: *Cistus albidus* L.; Cc: *Cistus clusii* Dunal in DC.; Cj: *Coronilla juncea* L. Ft: *Fumana thymifolia* (L.) Spach ex Webb; Jo: *Juniperus oxycedrus* L.; Hh: *Helianthemum hirtum* (L.) Mill.; Pr: *Polygala rupestris* Pourr.; Qc: *Quercus coccifera* L. seedlings; Qi: *Quercus ilex* subsp. *ballota* (Desf.) Samp. seedlings; regPh: *Pinus halepensis* seedlings; Rl: *Rhamnus lycioides*; Ro: *Rosmarinus officinalis* L.; Sd: *Staeheleina dubia* L.; Ss: *Sedum sediforme* (Jacq.) Pau; Tv: *Thymus vulgaris* L.

*Seedlings were considered when the diameter at the breast height was under 7.5 cm

[Escriba texto]

TABLES

Table 1 Climatic and environmental variables of the study sites

	High	Medium	Low
Coordinates	38°20' N – 2° 20' W	38°32' N – 1°57' W	38°16'N – 1°38' W
Mean annual precipitation (mm)	595	417	332
Phytoclimate	VI(IV)1	IV3	IV1
Bioclimate	High Mesomediterranean	Medium Mesomediterranean	Low Mesomediterranean
Ombroclimate	Dry	Dry	Semiarid
Aspect	South	South	South
Slope	5-10 %	< 5%	< 5%
Bed rock (IGME 1975)	Limestone	Limestone	Limestone
Soil type (CSIC 1968)	Xerochrept inceptisol	Xerochrept inceptisol	Xerochrept inceptisol

[Escriba texto]

Table 2 Two-way ANOVA of the effect of factors *Origin* (natural vs. planted) and *Precipitation* (High, Medium and Low) on Density, Basal area and Canopy cover

	R ²	Variable	SS	df	F	P
Density	81.6	Origin	715 327.0	1	101.9	****
		Precipitation	48 374.0	2	3.4	n.s.
		Origin × Precipitation	17 442.0	2	1.2	n.s.
Basal area	85.7	Origin	83.1	1	22.0	****
		Precipitation	468.0	2	62.0	****
		Origin × Precipitation	71.7	2	1.2	n.s.
Canopy cover	73.4	Origin	117.3	1	2.0	n.s.
		Precipitation	3 351.2	2	28.8	****
		Origin × Precipitation	663.5	2	5.7	*

n.s.: not significant

*P < 0.05, ****P < 0.0001

[Escriba texto]

Table 3 Mean (SE) of Aleppo pine stand variables, considering the *Origin* × *Precipitation* interaction

		N	D (trees/ha)	BA (m ² /ha)	CC (%)
High	Natural	3	340 (50)	18.1 (1.4)	75 (6) ^c
	Planted	3	590 (30)	15.8 (0.4)	76.8 (2.1) ^c
Medium	Natural	3	380 (40)	9.4 (1.1)	60 (3) ^{bc}
	Planted	3	730 (30)	7.2 (0.6)	66 (3) ^{bc}
Low	Natural	3	390 (30)	8.8 (0.8)	55 (4) ^{ab}
	Planted	3	780 (40)	3.9 (0.4)	36.5 (2.1) ^a

[Escriba texto]

Table 4 Two-way ANOVA of the effect of *Origin* (natural vs. planted) and *Precipitation* level (High, Medium and Low) on total and vegetation cover and diversity parameters

	R ²	Variable	SS	df	F	P
Total cover	95.6	<i>Origin</i>	42 815.0	1	288.7	****
		<i>Precipitation</i>	3 717.0	2	12.5	*
		<i>Origin x Precipitation</i>	8 363.0	2	28.2	****
Total richness	74.5	<i>Origin</i>	234.7	1	38.4	****
		<i>Precipitation</i>	85.4	2	7.0	*
		<i>Origin x Precipitation</i>	14.8	2	1.2	n.s.
Total Shannon	60.0	<i>Origin</i>	1.5	1	10.1	*
		<i>Precipitation</i>	2.7	2	9.1	*
		<i>Origin x Precipitation</i>	0.3	2	1.1	n.s.
UWV cover	92.1	<i>Origin</i>	21 636.2	1	178.9	****
		<i>Precipitation</i>	157.0	2	0.6	n.s.
		<i>Origin x Precipitation</i>	2 820.3	2	11.7	*
UWV richness	94.8	<i>Origin</i>	288.0	1	304.9	****
		<i>Precipitation</i>	4.3	2	2.3	n.s.
		<i>Origin x Precipitation</i>	6.3	2	3.4	n.s.
UWV Shannon	73.4	<i>Origin</i>	2.6	1	45.2	****
		<i>Precipitation</i>	0.3	2	2.2	n.s.
		<i>Origin x Precipitation</i>	0.1	2	1.2	n.s.

n.s., not significant

*P < 0.05, ****P < 0.0001

[Escriba texto]

Table 5 Two-way ANOVA on the effect of *Origin* and *Precipitation* on all vegetation life forms cover and diversity parameters.

	R ²	Variable	SS	df	F	P
Trees cover	91.6	<i>Origin</i>	2 002.4	1	131.2	****
		<i>Precipitation</i>	483.3	2	15.8	****
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 432.4	2	14.2	****
Trees richness	94.2	<i>Origin</i>	20.1	1	180.5	****
		<i>Precipitation</i>	9.0	2	40.5	****
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 2.1	2	9.5	****
Trees Shannon	89.5	<i>Origin</i>	1.8	1	103.7	****
		<i>Precipitation</i>	0.4	2	11.6	*
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 0.4	2	11.6	*
Shrubs cover	83.5	<i>Origin</i>	6 998.5	1	74.1	****
		<i>Precipitation</i>	314.2	2	1.7	n.s.
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 1 308.2	2	6.9	*
Shrubs richness	91.6	<i>Origin</i>	40.5	1	145.8	****
		<i>Precipitation</i>	6.3	2	11.4	*
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 6.3	2	11.4	*
Shrubs Shannon	81.9	<i>Origin</i>	1.5	1	51.8	****
		<i>Precipitation</i>	0.6	2	10.7	*
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 0.2	2	4.2	*
Dwarf shrubs cover	81.1	<i>Origin</i>	245.6	1	9.2	*
		<i>Precipitation</i>	598.4	2	11.2	*
		<i>Origin</i> <i>Precipitation</i>	x 1 245.7	2	23.3	****

[Escriba texto]

Dwarf richness	shrubs	86.7	<i>Origin</i>	37.6	1	75.1	****
			<i>Precipitation</i>	8.3	2	8.3	*
			<i>Origin Precipitation</i>	× 12.1	2	12.1	*
Dwarf Shannon	shrubs	85.8	<i>Origin</i>	1.9	1	65.9	****
			<i>Precipitation</i>	0.6	2	9.9	*
			<i>Origin Precipitation</i>	× 0.6	2	10.9	*
Perennial cover	herbs	84.8	<i>Origin</i>	3 484.7	1	22.8	****
			<i>Precipitation</i>	7 393.1	2	24.2	****
			<i>Origin Precipitation</i>	× 4 350.1	2	14.2	****
Perennial richness	herbs	32.9	<i>Origin</i>	0.9	1	0.6	n.s.
			<i>Precipitation</i>	5.3	2	1.8	n.s.
			<i>Origin Precipitation</i>	× 13.8	2	4.6	*
Perennial Shannon	herbs	57.5	<i>Origin</i>	0.0	1	0.0	n.s.
			<i>Precipitation</i>	1.9	2	9.4	*
			<i>Origin Precipitation</i>	× 0.9	2	4.6	*
Annual herbs cover		34.4	<i>Origin</i>	0.6	1	0.1	n.s.
			<i>Precipitation</i>	208.8	2	6.5	*
			<i>Origin Precipitation</i>	× 14.7	2	0.5	n.s.
Annual richness	herbs	77.0	<i>Origin</i>	6.7	1	8.1	*
			<i>Precipitation</i>	33.4	2	20.1	****
			<i>Origin Precipitation</i>	× 11.4	2	6.9	*
Annual Shannon	herbs	77.2	<i>Origin</i>	0.9	1	11.3	*
			<i>Precipitation</i>	3.2	2	20.0	****
			<i>Origin Precipitation</i>	× 0.9	2	5.6	*

n.s.: not significant

*P < 0.05, ****P < 0.0001

[Escriba texto]

Table 6 Mean and SE values of life form cover (a), richness (b) and Shannon (b) at the *Origin and Precipitation* levels

(a)

		High	Medium	Low
Trees	Natural	35.4 (1.4) ^c	17 (4) ^b	12 (3) ^b
	Planted	0.85 (0.06) ^a	0 (0) ^a	0.4 (0.4) ^a
Shrubs	Natural	66 (9) ^d	35.3 (1.7) ^{bc}	49 (9) ^{cd}
	Planted	3.3 (1.1) ^a	14 (2) ^{ab}	15 (3) ^{ab}
Dwarf shrubs	Natural	6.0 (1.2) ^{ab}	32 (3) ^c	9.4 (0.4) ^{ab}
	Planted	2.47 (0.17) ^a	2.9 (1.9) ^a	20 (6) ^{bc}
Perennial herbs	Natural	20.2 (1.4) ^a	72 (5) ^b	62 (15) ^b
	Planted	5.83 (0.21) ^a	1.6 (0.9) ^a	64 (5) ^b
Annual herbs	Natural	10 (3)	2.6 (1.0)	0.27 (0.10)
	Planted	7 (4)	4.3 (1.9)	0.12(0.02)

(b)

		High	Medium	Low
Trees	Natural	4 (0) ^e	2 (0) ^d	1.7 (0.3) ^{cd}
	Planted	1 (0) ^{bc}	0 (0) ^a	0.3 (0.3) ^{ab}
Shrubs	Natural	6 (0) ^d	3.3 (0.3) ^{bc}	4.7 (0.3) ^{cd}
	Planted	1.3 (0.3) ^a	1.3 (0.3) ^a	2.3 (0.3) ^{ab}
Dwarf shrubs	Natural	3 (0) ^{ab}	6.7 (0.3) ^c	4.7 (0.3) ^b
	Planted	2 (0) ^a	1.7 (0.9) ^a	2 (0) ^a
Perennial herbs	Natural	2.3 (0.3) ^a	3.7 (0.7) ^a	2.7 (0.7) ^a
	Planted	4.3 (1.2) ^a	1.7 (0.7) ^a	1.3 (0.3) ^a
Annual herbs	Natural	3 (0) ^{bc}	2 (0.6) ^{ab}	1.3 (0.3) ^{ab}
	Planted	5 (0.6) ^c	4.7 (0.9) ^c	0.3 (0.3) ^a

(c)

		High	Medium	Low
Trees	Natural	1.01 (0.06) ^c	0.6 (0.08) ^b	0.28 (0.16) ^{ab}
	Planted	0 (0) ^a	0 (0) ^a	0 (0) ^a
Shrubs	Natural	1.04 (0.16) ^b	0.64 (0.11) ^b	0.99 (0.04) ^b
	Planted	0.15 (0.15) ^a	0.10 (0.10) ^a	0.67 (0.11) ^b
Dwarf shrubs	Natural	0.83 (0.04) ^b	1.41 (0.11) ^c	0.59 (0.08) ^{ab}
	Planted	0.46 (0.07) ^{ab}	0.24 (0.17) ^a	0.20 (0.06) ^a
Perennial herbs	Natural	0.59 (0.05) ^{ab}	0.79 (0.09) ^{ab}	0.07 (0.3) ^a
	Planted	1.1 (0.3) ^b	0.2 (0.2) ^a	0.08 (0.08) ^a
Annual herbs	Natural	0.75 (0.11) ^{ab}	0.4 (0.3) ^a	0.17 (0.17) ^a
	Planted	1.37 (0.11) ^b	1.28 (0.16) ^b	0 (0) ^a

[Escriba texto]

4.2. Comparación de la producción y asignación de biomasa entre masas naturales y artificiales de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica

Autores: Hernández-Tecles, E.; López-Serrano, F.R., Martínez, E., Dadi, T.; de las Heras, J.

^aDepartamento de Producción Vegetal y Tecnología Agraria, ETSIA, Universidad de Castilla-La Mancha, 02071 Albacete, Spain

^bDepartamento de Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética, ETSIA, Universidad de Castilla-La Mancha, 02071 Albacete, Spain

Resumen:

El presente estudio pretende determinar las relaciones alométricas de producción de biomasa total y componentes en las masas naturales y artificiales de *Pinus halepensis* Mill. en una región de procedencia del sureste de la Península Ibérica. La zona de estudio se sitúa en las estribaciones de la Cordillera Bética, provincias de Albacete y Murcia, donde los sitios se diferencian atendiendo a un gradiente de climático (precipitación). Mediante muestreos destructivos se han determinado modelos alométricos que relacionan la biomasa total y sus componentes para un total de 59 pies de pino carrasco distribuidos equitativamente entre masas naturales y repoblaciones. Los resultados obtenidos indican que hay diferencias significativas en la producción de biomasa entre masas de distinto origen por sitio, así como entre las tres zonas de estudio. Los stocks de biomasa son mayores en las masas naturales, existiendo no sólo diferencias en cuanto a edades y densidades de masa, sino también en cuanto al posible origen de la semilla. Las alocaiones de biomasa han sido muy diferentes entre los sitios, con menor influencia del origen. Los datos de campo se han validado para dos modelos generales sin éxito, resaltando así la importancia de obtener relaciones ajustadas a cada tipo de masa y lugar.

Palabras clave: *Pinus halepensis*, estimadores de razón, relaciones alométricas, componentes de biomasa, repoblaciones, ecosistemas semiáridos.

4.2.1. INTRODUCCIÓN

El protocolo de Kyoto resalta cómo el manejo de los ecosistemas terrestres puede incrementar el secuestro de carbono (C) (Gruenzweig et al., 2007). Los valores estimados en producción de C y biomasa generalmente tienen bastantes errores, por ello se precisan de ecuaciones específicas por sitio y especie (Malhi et al., 2002). Así mismo, a nivel europeo la “Estrategia Biodiversidad 2020” (C.E., 2011) tiene como objetivo 2, restaurar el 15% de los ecosistemas degradados antes de 2020, mediante medidas que garanticen la gestión sostenible de los recursos. Las plantaciones forestales (forestaciones o reforestaciones) son un instrumento para reducir las emisiones de CO₂ y estabilización climática (Jackson et al., 2002), así como una herramienta para la restauración de terrenos degradados en ecosistemas semiáridos (Lal, 2004).

Las forestaciones normalmente incrementan el depósito de C en los ecosistemas, debido a la biomasa aérea almacenada por los árboles plantados (Thuille and Schulze, 2006). Existen estudios sobre estimaciones de C en plantaciones de *Pinus halepensis* Mill. en zonas semiáridas de Israel donde se constata el mayor almacenamiento de C respecto con zonas de matorral próximas (Gruenzweig et al., 2003), así como con

otras especies del género *Pinus* (Li et al., 2011). *P. halepensis* es una especie típicamente mediterránea que vegeta bien en ecosistemas semiáridos, tolerante a la sequía, lo que incrementa el interés por la especie desde el punto de vista de la restauración en contexto de cambio climático.

Existen tanto métodos directos como indirectos para el cálculo de la biomasa forestal. Los métodos directos conllevan el procesado y peso de la biomasa en campo y son el método más preciso, pero son métodos destructivos, consumen mucho tiempo y recursos, siendo sólo viables en pequeñas áreas o para una muestra pequeña de árboles (Ketterings et al., 2001). Métodos menos destructivos utilizando alometrías han sido empleados más recientemente en ecosistemas forestales, esta aproximación permite estimar el volumen de la masa o la biomasa mediante variables del árbol más fáciles de medir como el diámetro a la altura del pecho, la altura o el diámetro de copa. En los últimos años ha habido grandes mejoras, incluyendo bases de datos para alometrías de biomasa, pero relativamente pocos estudios se han realizado para el sur de Europa. En particular, pocos estudios detallados de biomasa arbórea han sido realizados en coníferas mediterráneas, como es el

caso del pino carrasco (*P. halepensis*). En las plantaciones de pinos, diferentes estructuras de masa, densidades y origen de las semillas puede estar influenciando los patrones de alocaación de los componentes de biomasa, implicando que ecuaciones empíricas deben ser obtenidas y validadas para diferentes zonas de estudio. Los principales procesos en el depósito de C tras la forestación son la acumulación de C en la vegetación, la emisión de C por descomposición y la incorporación de hojarasca al suelo (Farley et al., 2005).

El presente estudio proporciona información valiosa para los propietarios forestales y la administración de cara a cuantificar la biomasa seca, y con ello evaluar la producción media anual de las masas de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica, tanto masas naturales como artificiales. Para ello se pretende estimar la producción de biomasa en masas naturales y repoblaciones de *Pinus halepensis* Mill. a lo largo de un gradiente de precipitación en el sureste de la Península Ibérica. Para ello se plantean los siguientes objetivos:

- i. Estimar las producciones medias de biomasa total para las distintas poblaciones muestreadas

- ii. Comprobar las distintas asignaciones de biomasa a los componentes del árbol en función del origen y el sitio (precipitación)
- iii. Comparar las diferentes estimaciones de producción de biomasa mediante la utilización de ecuaciones alométricas específicas (por tipo de masa y sitio) y generales

4.2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Zona de estudio

Se eligieron tres zonas de estudio en el sureste de la Península Ibérica, en las provincias de Albacete (Yeste y Liétor) y Murcia (Calasparra) (Figura 1). Las variables climáticas fueron extraídas de un mapa de 1km² de resolución (Gonzalo, 2008), presentando una alta correlación entre altitud, precipitación y temperatura media anual. Por ello se seleccionó la precipitación como variable continua diferenciadora entre sitios, atendiendo a un pequeño gradiente. El resto de variables ecológicas de las masas de pino carrasco muestreadas fueron bastante homogéneas a la hora de elegir las masas (exposición, pendiente, edafología y geología) en los tres sitios (ver Tabla 1).

Se seleccionaron masas de *P. halepensis* Mill. de origen natural y artificial (Alía et al., 2009) en las tres localidades de estudio, todas ellas dentro de la Región de Procedencia 14-Bética Septentrional. Dos masas artificiales eran repoblaciones procedentes del antiguo Plan Nacional de Repoblación (Yeste y Calasparra), dónde se confirmó el uso de semilla local, y la otra procedía del programa de forestación de tierras agrarias en Castilla-La Mancha (Liétor), donde el origen del material empleado es desconocido. Las características dasométricas descriptivas de las masas se recogen en la Tabla 2. En cada una de las zonas de estudio, las masas naturales y artificiales presentan las mismas calidades de estación (Tabla 2), a excepción de Calasparra donde la calidad es menor en la repoblación (Montero et al., 2000).

En las parcelas descritas se realizaron inventarios en los años 2009 y 2011, así como muestreos destructivos en el año 2010, durante el período de parada vegetativa del pino carrasco. En los inventarios se midieron las características dasométricas (densidad, altura, diámetro normal y diámetro de copa) de los individuos para una extrapolación posterior de los resultados obtenidos a nivel de masa. En las masas naturales sólo se realizó un inventario, calculándose los datos

de biomasa a partir de los crecimientos corrientes de los últimos 10 años, estimados a partir de muestras tomadas con barrena Pressler a la altura normal.

Estimación de la biomasa

Los muestreos destructivos permitieron desarrollar ecuaciones alométricas para la estimación de la biomasa seca total (kg) de la especie principal, así como de sus distintos componentes (tronco - b_{tronco} -, ramas - b_{ramas} -, ramillos - b_{ramillos} - y raíces - $b_{\text{raíces}}$ -).

Para ello se siguió la metodología de (Lopez-Serrano et al., 2010). Para cada tipo de masa y sitio se eligieron al menos ocho pies distribuidos en todas las clases diamétricas. En total se apearon 59 árboles, repartidos equitativamente entre los tres sitios (29 en repoblaciones y 31 en masas naturales). Para ello se emplearon motosierra y tijeras para la parte aérea, y una retroexcavadora, para la biomasa subterránea, extrayendo al menos las raíces primarias y secundarias.

Los componentes de la biomasa de los árboles apeados (raíces, troncos y ramas) se pesaron en fresco con una balanza de campo de 60 kg (20 g de precisión) y una balanza de 6 kg (0.2 g de precisión) para el material más ligero. Para estimar la biomasa seca del material leñoso, $b_{\text{raíces}}$ y b_{tronco} se

llevaron a laboratorio tres submuestras (rodajas) por árbol, donde se secaron en un horno a 105 °C para obtener su peso anhidro.

Para la estimación de la biomasa seca de ramas (b_{ramas}), se empleó un muestreo aleatorio con estimadores de razón (K_i) (de Vries et al., 2009). De cada árbol, se seleccionaron ocho ramas aleatoriamente. Se contabilizó el peso fresco total de cada rama (W_{rama}) y después se separó y pesó la madera de ramas ($W_{madramas}$) y ramillos ($W_{ramillos}$) correspondiente. La biomasa seca de cada rama (W_{rama}) se obtuvo de la misma manera que la de troncos y raíces.

Un segundo grupo de estimadores de razón (Z_i) se empleó para obtener la biomasa seca de ramillos ($W_{ramillos}$) y sus componentes, ejes de ramillos ($W_{ejramillos}$) y acículas ($W_{acículas}$).

$$Z_1 = W_{ejramillos} / W_{ramillos}$$

$$Z_2 = W_{acículas} / W_{ramillos}$$

De todos los ramillos extraídos de las ocho ramas por árbol, se seleccionaron 6 sets compuestos por 1, 2, 4, 6, 8 y 10 ramillos respectivamente (31 muestras en total) que fueron pesados en fresco (W_{ramas}). Posteriormente, dentro de cada set, los ramillos se separaron en ejes de ramillos y acículas; ambos componentes se pesaron en fresco y en seco, tras permanecer a 85 °C

durante 24 h. El peso fresco total de todos los ramillos muestreados de cada rama muestra se multiplicó por Z_1 para obtener la biomasa seca de los ejes de ramillos y por Z_2 para obtener la biomasa seca de acículas.

Para obtener la biomasa seca de los componentes a nivel árbol: acículas ($b_{acículas}$), ejes de ramillos ($b_{ejramillos}$) y madera de ramas ($b_{madramas}$), se definieron respectivamente con los siguientes estimadores de razón:

$$K_1 = W_{acículas} / W_{ramas}$$

$$K_2 = W_{ejramillos} / W_{ramas}$$

$$K_3 = W_{madramas} / W_{ramas}$$

Multiplicando el peso fresco de la biomasa de ramas de cada árbol por K_1 , K_2 y K_3 se obtuvieron respectivamente $b_{acículas}$, $b_{ejramillos}$ y $b_{madramas}$ a nivel árbol. La b_{ramas} se obtuvo como la suma de estos tres componentes.

Finalmente se comprobó que todos los estimadores de razón eran verdaderos estimadores y se ajustaron las ecuaciones alométricas respectivas a cada masa para estimar los distintos componentes de biomasa seca aérea y radicular.

Análisis estadístico

Mediante el análisis de regresión simple se determinaron las relaciones alométricas de la biomasa total, así

como de sus componentes de biomasa aérea (tronco, ramas y ramillos) y subterránea (raíces) del estrato arbóreo para cada sitio y origen de la masa (natural o repoblado). Los criterios de selección de las ecuaciones matemáticas fueron el mayor R^2 (Neter, 1996) y la menor desviación residual (SE). Para todas las masas muestreadas, se obtuvieron ecuaciones alométricas no lineales del tipo $Y = a \times d^b$, donde la variable dependiente Y es la biomasa total o cualquiera de sus componentes y la variable dependiente d (diámetro del tronco a 130 cm sobre el suelo). Para calcular las estimaciones de biomasa en las masas naturales a través de los crecimientos corrientes se estableció un coeficiente de regresión basado en una relación con el diámetro normal, el modelo de regresión que mejor funcionó fue el inverso de la variable independiente (diámetro normal). Se realizaron análisis de varianza para comparar las medias de los diferentes grupos mediante el método LSD (Least Significant Difference). Todos los análisis estadísticos fueron validados con un 95% de confianza ($P < 0.05$).

Para validar los modelos obtenidos por (Montero et al., 2001; Ruiz-Peinado et al., 2011) para *P. halepensis* con los datos de biomasa seca de los árboles extraídos se realizó un análisis de regresión simple entre los valores

observados y los predichos por los modelos. Si el término independiente no era diferente de 0, y la pendiente no era diferente de 1 el modelo se consideraba válido. Para validar el modelo se eligió la componente b_{tronco} , por considerarse que los errores en su medición eran menores al ser datos directos sin el empleo de estimadores de razón.

4.2.3. RESULTADOS

Las relaciones alométricas indican diferencias significativas en la producción de biomasa total entre las masas naturales y repobladas de cada uno de los sitios (Tabla 3), siendo los valores de ajuste muy altos (>95%). La tendencia es que las masas naturales presenten pendientes mayores que los repoblados, salvo el caso de Yeste (2.14 y 2.37 para masa natural y repoblación, respectivamente).

Las producciones medias de biomasa total por ha y por año, están muy relacionadas con la calidad de estación y aumentan con la precipitación, no presentando diferencias significativas entre las masas naturales y repobladas de Yeste (Figura 2). Mientras en Liétor y Calasparra, con menor precipitación y peores calidades de estación, las repoblaciones presentan producciones significativamente mayores a las de las masas naturales. No obstante, si

comparamos los stocks de biomasa las masas naturales acumulan significativamente mayor biomasa que los repoblados (promedio aproximado de 85 y 42 Mg/ha en masas naturales y repoblaciones, respectivamente (Figura 3)).

Las alocaiones de biomasa varían entre sitios, teniendo menor peso el origen en la diferenciación (Figura 4). En Calasparra y Liétor, hay una mayor alocación de biomasa a ramillos y ramas (44%) que en Yeste (23%), donde la mayor parte va destinada al tronco (superior al 50%). En Liétor hay diferencias significativas entre las masas naturales y las artificiales, ya que las segundas tienen mayor biomasa aérea.

Los modelos validados (Montero et al., 2001; Ruiz-Peinado et al., 2011) para la b_{tronco} no son válidos para las masas estudiadas (Tabla 4) ya que infraestiman la biomasa seca modelo de la validación, ajustándose mejor los modelos de (Ruiz-Peinado et al., 2011).

4.2.4. DISCUSIÓN

Las diferencias obtenidas en las ecuaciones alométricas para la producción de biomasa seca total (Tabla 3) ponen de manifiesto la gran variabilidad en cuanto a los modelos de producción de biomasa, indicando la

gran importancia de desarrollar modelos específicas para las masas a escala local (Correia et al., 2010) o dentro de una zona geográfica. En este caso se trata de una mismas especie, presentando gran variabilidad tanto en las producciones medias anuales como en la asignación de biomasa dentro de la misma región de procedencia de la especie (Alía et al., 2009). Una de las causas de esta variación en las masas artificiales puede ser debida al origen del material forestal utilizado, por ejemplo desconocido en la reforestación de Liétor. Una mayor alocación de biomasa a tronco puede deberse a una mayor madurez de las masas, caso de Yeste, como se ha comprobado con otras coníferas (Thuille and Schulze, 2006).

Las diferencias en stock de biomasa son debidas a las distintas calidades de estación de las masas, así como a las distintas edades y densidades de las mismas. Las masas artificiales de pino carrasco estudiadas presentan en los tres sitios mayores densidades resultando en mayores producciones medias, unido a tener crecimiento corriente más altos debido a la edad, sobretudo en la repoblación de Liétor. En este caso, la producción podría verse incrementada por haber introducido material de procedencias con mayores crecimientos a las locales. Otro dato importante a la hora de hacer

este tipo de comparaciones sería estimar la contribución de la biomasa de matorral a la biomasa total producida por la masa y su relación con la diversidad de vegetación (Alfaro-Sánchez et al., 2013). En estudios extensivos a nivel nacional se ha constatado la mayor diversidad en especies leñosas en las masas naturales de pináceas en comparación con repoblaciones, y en concreto en el caso de pino carrasco (Ruiz-Benito et al., 2012). Este dato aumentaría los depósitos de biomasa en las masas naturales frente a las repoblaciones, haciendo las diferencias en las zonas de estudio mayores en cuanto a stock de biomasa por unidad de superficie.

Estudios anteriores han comparado las producciones de biomasa de repoblaciones de *P. halepensis* en otras zonas del Mediterráneo con matorral adyacente (Grunzweig et al., 2003), poniendo de manifiesto el mayor secuestro de carbono por parte de las repoblaciones. En el presente estudio se ha comparado con la vegetación arbórea potencial, masa adulta natural de pino carrasco, para unas mismas características de calidad de estación por sitio siempre que ha sido posible. Las estimaciones por medio de ecuaciones generales tienen muchas limitaciones, en este caso se ha comprobado como varían las estimaciones en función del tipo de

masa (Ketterings et al., 2001), resultando no válidas las estimaciones generales incluso cuando se trata de la misma región de procedencia para la construcción de los modelos generales (Montero et al., 2000; Ruiz-Peinado et al., 2011).

Finalmente resaltar que la respuesta en cuanto a producción de biomasa no es tan trivial cuando se integran diversos aspectos en la gestión forestal. Las repoblaciones pueden depositar mayor biomasa al tener mayores densidades, pero es interesante integrar estos datos con otras variables como la biodiversidad o la diversidad genética (Perevolotsky and Sheffer, 2009).

4.2.5. CONCLUSIONES

Las masas naturales y repoblaciones de *P. halepensis* en el sureste de la Península Ibérica presentan diferencias significativas en cuanto a las relaciones alométricas de producción de biomasa en la zona de estudio (Región de Procedencia-17). Las producciones medias y los stocks de biomasa presentan amplias diferencias, siendo las principales causas de las mismas la diferencia de edades, la densidad y el origen de las repoblaciones. Se necesitan más estudios a pequeña escala para estimar las producciones de biomasa y poder relacionar con

otros datos de producciones como la biomasa de matorral y la biodiversidad.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer al grupo de trabajo dirigido por el Dr. F.R. López Serrano la cesión de datos y material para poder realizar el presente trabajo

FINANCIACIÓN

El presente estudio ha sido financiado por los proyectos de investigación P01109-0096-3367 y POII10-0112-7316, de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, así como por el proyecto nacional CONSOLIDER-INGENIO 2010: MONTES (CSD 2008-00040) del Ministerio de Ciencia e Innovación.

BIBLIOGRAFÍA

Alfaro-Sánchez R, López-Serrano FR, Rubio E, de las Heras J, Moya D. La importancia del sotobosque en la cuantificación de los depósitos de carbono en masas jóvenes de *Pinus halepensis* Mill. en el SE español. Presented at the 6º Congreso Forestal Español, (2013) Vitoria-Gasteiz.

Alía R, García del Barrio JM, Iglesias S. Regiones de procedencia de especies forestales de España. (2009): OA Parques Nacionales. 365 p. Madrid.

C.E. Comunicación de la Comisión Europea : «Estrategia de la UE sobre la

biodiversidad hasta 2020: nuestro seguro de vida y capital natural». (2011).

C.S.I.C. Leyenda del Mapa de Suelos de España (1:1,000,000). (1968) Instituto Nacional de Edafología, CSIC. Madrid.

Correia AC, et al. Biomass allometry and carbon factors for a Mediterranean pine (*Pinus pinea* L.) in Portugal. *Forest Systems* (2010) 19:418-433.

de Vries W, et al. The impact of nitrogen deposition on carbon sequestration by European forests and heathlands. *Forest Ecology and Management* (2009) 258:1814-1823.

Farley KA, Jobbagy EG, Jackson RB. Effects of afforestation on water yield: a global synthesis with implications for policy. *Global Change Biology* (2005) 11:1565-1576.

Gonzalo J. Diagnóstico fitoclimático de la España peninsular. Actualización y análisis geoestadístico aplicado. (2008): Universidad Politécnica de Madrid, Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Madrid.

Gruenzweig JM, Gelfand I, Fried Y, Yakir D. Biogeochemical factors contributing to enhanced carbon storage following afforestation of a semi-arid shrubland. *Biogeosciences* (2007) 4:891-904.

Gruenzweig JM, Lin T, Rotenberg E, Schwartz A, Yakir D. Carbon sequestration in arid-land forest. *Global Change Biology* (2003) 9:791-799.

- I.G.M.E. Mapa Geológico de España a escala 1: 50.000 (MAGNA). (1975).
- Jackson RB, Banner JL, Jobbagy EG, Pockman WT, Wall DH. Ecosystem carbon loss with woody plant invasion of grasslands. *Nature* (2002) 418:623-626.
- Ketterings QM, Coe R, van Noordwijk M, Ambagau Y, Palm CA. Reducing uncertainty in the use of allometric biomass equations for predicting above-ground tree biomass in mixed secondary forests. *Forest Ecology and Management* (2001) 146:199-209.
- Lal R. Carbon sequestration in dryland ecosystems. *Environmental Management* (2004) 33:528-544.
- Li X, et al. Biomass and Carbon Storage in an Age-Sequence of Korean Pine (*Pinus koraiensis*) Plantation Forests in Central Korea. *Journal of Plant Biology* (2011) 54:33-42.
- Lopez-Serrano FR, Heras JDL, Moya D, Garcia-Morote FA, Rubio E. Is the net new carbon increment of coppice forest stands of *Quercus ilex* ssp *ballota* affected by post-fire thinning treatments and recurrent fires? *International Journal of Wildland Fire* (2010) 19:637-648.
- Malhi Y, Meir P, Brown S. Forests, carbon and global climate. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series a-Mathematical Physical and Engineering Sciences* (2002) 360:1567-1591.
- Montero G, Grau J, Ruiz-Peinado R, Ortega C, Cañellas I. Tablas de producción para *Pinus halepensis* Mill. Cuaderno Sociedad Española de Ciencias Forestales (2000) 10:183-188.
- Montero G, Ruiz-Peinado R, Cañellas I. Growth and yield models for *Pinus halepensis* Mill. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales* (2001) 10:179-201.
- Neter J, Kutner, M.H., Nachtsheim, C.J., & Wasserman, W. . *Applied Linear Statistical Models* (4th ed.). (1996) Irwin, Chicago.
- Perevolotsky A, Sheffer E. Forest management in Israel-The ecological alternative. *Israel Journal of Plant Sciences* (2009) 57:35-48.
- Rivas-Martínez S, Gandullo JM, Allué JL, González-Rebollar JL. Memoria del mapa de series de vegetación de España: 1: 400.000. (1987).
- Ruiz-Benito P, Gomez-Aparicio L, Zavala MA. Large-scale assessment of regeneration and diversity in Mediterranean planted pine forests along ecological gradients. *Divers. Distrib.* (2012) 18:1092-1106.
- Ruiz-Peinado R, del Rio M, Montero G. New models for estimating the carbon sink capacity of Spanish softwood species. *Forest Systems* (2011) 20:176-188.
- Thuille A, Schulze ED. Carbon dynamics in successional and afforested spruce stands in Thuringia

and the Alps. *Global Change Biology*
(2006) 12:325-342.

FIGURAS

Fig. 1. Localización de las zonas de estudio

Fig. 2. Producciones medias anuales de biomasa total por unidad de superficie (kg/ha*año) para las masas naturales y repobladas en los tres sitios

Fig. 3. Stock de biomasa seca total por unidad de superficie (kg/ha) para las masas naturales y repobladas en los tres sitios

Fig. 4. Distribución de los distintos componentes de biomasa en las masas de pino carrasco

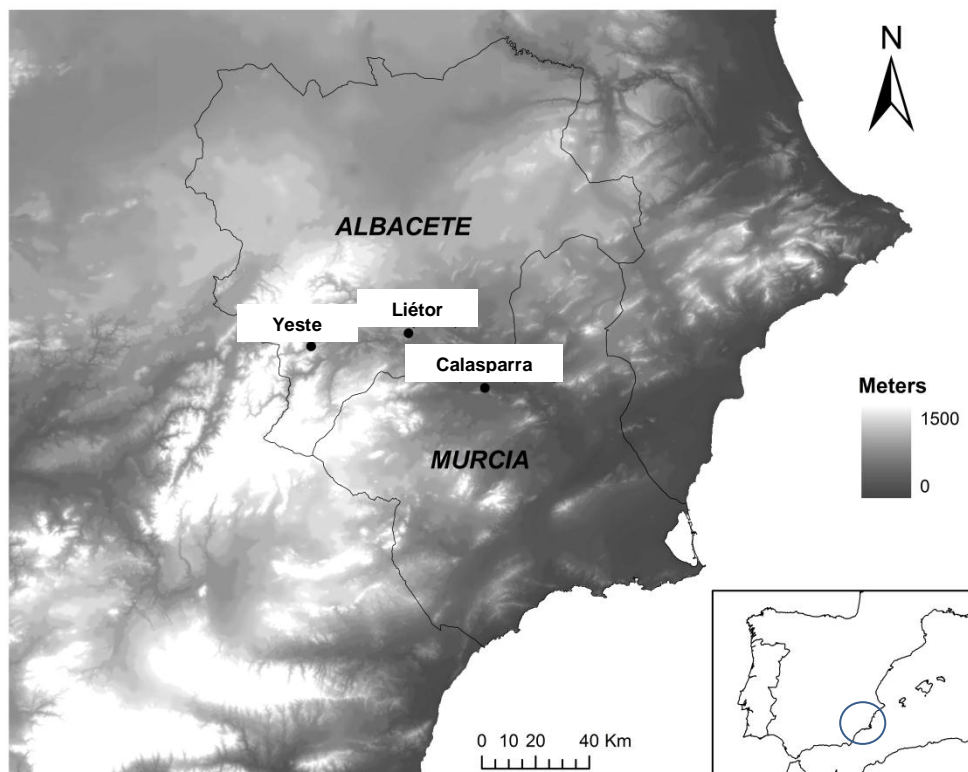


Fig 1.

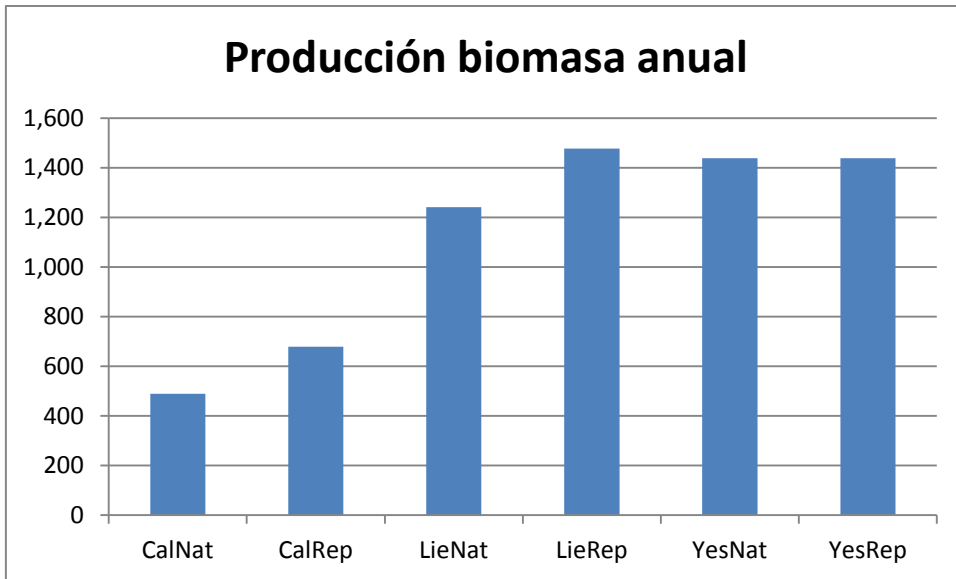


Fig 2.

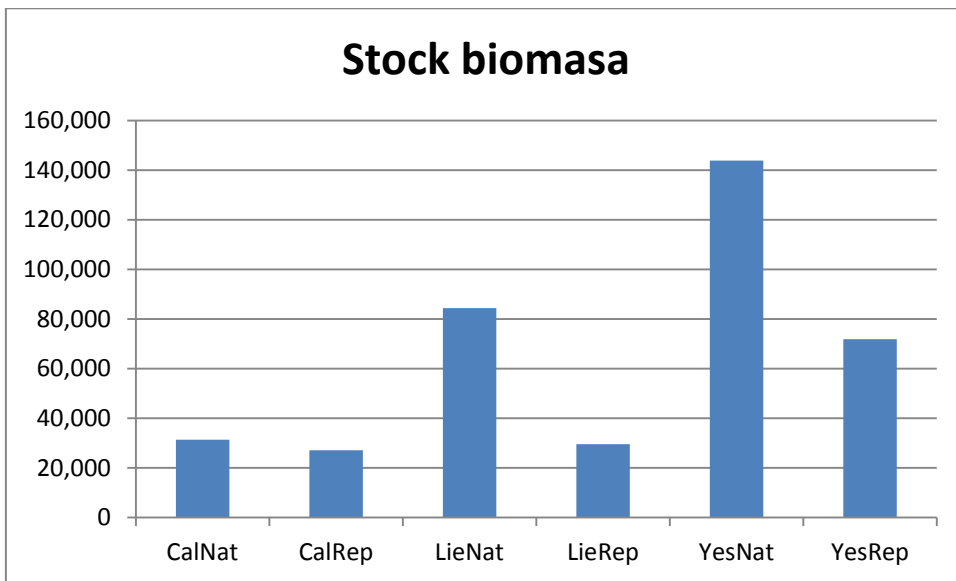


Fig. 3

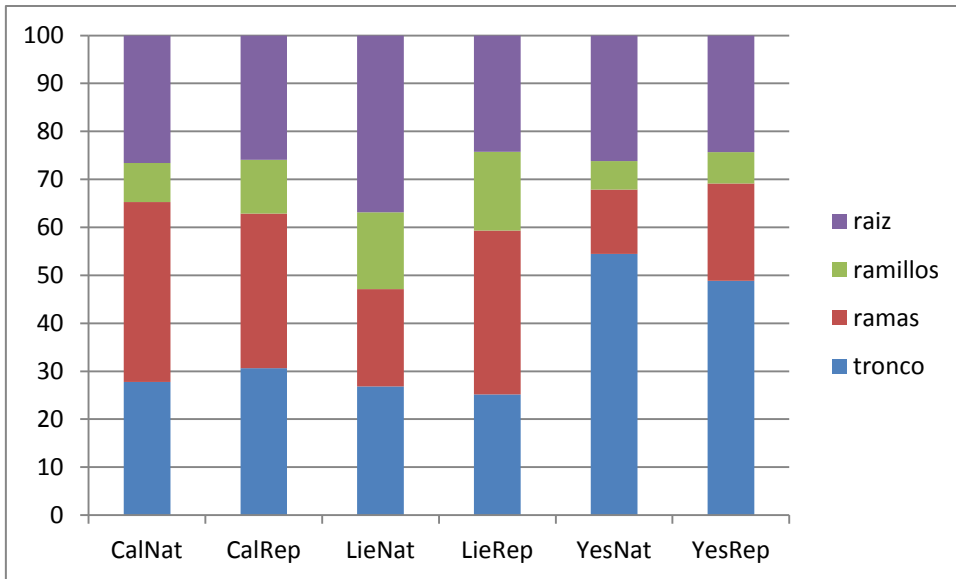


Fig. 4

TABLAS

Tabla 1 Variables climáticas y ambientales de las zonas de estudio

	Yeste	Liétor	Calasparra
Coordenadas	38°20' N – 2° 20' W	38°32' N – 1°57' W	38°16'N – 1°38' W
Precipitación media anual (mm)	595	417	332
Fitoclima	VI(IV)1	IV3	IV1
Ombroclima (Rivas-Martínez et al., 1987)	Seco	Seco	Semiárido
Exposición	Solana		
Pendiente	5-10 %	< 5%	< 5%
Geología (I.G.M.E., 1975)		Caliza	
Tipo de suelo (C.S.I.C., 1968)		Inceptisol xerocréptico	

Tabla 2. Resumen de las características de las masas (media \pm error estándar)^a

Tipo de masa e identificador		N (pies/ha)	G (m ² /ha)	Dq (cm)	Hd (m)	Años	Q
Calasparra	Natural (CalNat)	202 \pm 16	6.4 \pm 0.8	20.1 \pm 0.4	12.2 \pm 0.3	64 \pm 4	14
	Artificial (CalRep)	726 \pm 46	4.3 \pm 0.4	8.7 \pm 0.3	5.8 \pm 0.1	41 \pm 0	11
Liétor	Natural (LieNat)	471 \pm 54	12.1 \pm 1.6	18.1 \pm 0.4	11.7 \pm 0.5	68 \pm 3	14
	Artificial (LieRep)	732 \pm 28	4.3 \pm 0.5	8.6 \pm 0.2	6 \pm 0.2	20 \pm 0	14
Yeste	Natural (YesNat)	421 \pm 42	23.2 \pm 1.7	26.5 \pm 0.6	17 \pm 0.4	103 \pm 11	17
	Artificial (YesRep)	657 \pm 29	18.6 \pm 0.8	19 \pm 0.3	12.3 \pm 0.2	52 \pm 0	17

N: densidad; G: área basimétrica; Dq: diámetro cuadrático medio normal; Hd: altura dominante de los 100 árboles con mayor diámetro normal por ha; Q: calidad estación medida a partir de las tablas de producción para *P. halepensis* (Montero et al., 2000)

^a Datos procedentes de 5 parcelas cuadradas de 20 m en las masas artificiales y 8 parcelas circulares de 15 m de radio en las masas naturales (excepción, Calasparra de 20 m de radio)

Tabla 3. Coeficientes de regresión para la ecuación $Y = a \times d^b$, donde Y corresponde a la biomasa total seca de pino carrasco en kg, como una función del diámetro de a la altura normal (130 cm sobre el suelo), a el intercepto y b la pendiente para las dos zonas de estudios y los dos orígenes de masa estudiados. SEE, error estándar del estimador. Todos los modelos son significativos ($P < 0.05$)

	a0	a1	R2 adj	SEE
CalNat	0.891	1.810	94.984	0.409
CalRep	1.677	1.415	92.912	0.229
LieNat	0.260	2.186	99.163	0.084
LieRep	2.123	1.360	94.402	0.133
YesNat	0.257	2.146	96.458	0.356
YesRep	0.115	2.374	94.936	0.178

Tabla 4. Término independiente (a) y pendiente (b) de la regresión simple entre los valores observados ($n=59$) y los valores predichos por los modelos. SEE, error estándar del estimador.

	a	b	R ²	SEE
<i>b</i> tronco (Montero et al., 2001)	-8.524	1.584	96.429	23.684
<i>B</i> tronco (Ruiz-Peinado et al., 2011)	11.395	0.962*	97.107	21.317

* Pendientes no difieren significativamente de 1 (intervalo confianza del 95%)

4.3. Diferenciación en producción de biomasa y su relación con la diversidad genética en tres especies del género *Pinus* en España

Autores: Hernández-Tecles, E.^a, Notivol, E.^c, de las Heras, J.^a, Alía, R.^{b,d}

^aUniversity of Castilla-La Mancha. ETSI Agrónomos de Albacete. Avda España s/n. Campus Universitario, 02071 Albacete (Spain)

^bINIA, Forest Research Centre. Avda A Coruña s/n., 28040 Madrid (Spain)

^cCITA, Unidad de Recursos Forestales, SIA-DGA, C^a de Montañana 179, 50080 Zaragoza

^dSustainable Forest Management Research Institute UVA-INIA. Avda Madrid 57, 34004 Palencia (Spain)

Resumen

En el presente estudio se pretende evaluar el efecto de la procedencia en la producción de biomasa para las especies *Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinaster* Ait. y *Pinus sylvestris* L. Para lo cual se utilizaron datos procedentes de ensayos de procedencias, sometidos a ambiente común (*common gardens*), para una amplia muestra de 102 poblaciones naturales del área de distribución de las especies en España. Así mismo, se analizó si la variación en producción de biomasa estaba correlacionada con la diversidad genética neutral. Las tres especies estudiadas presentaron diferencias significativas intraespecíficas en producción de biomasa total a nivel de procedencia. Los resultados no mostraron un patrón de variación geográfica claro en la producción de biomasa. Así mismo, no se encontraron correlaciones significativas entre la diversidad genética evaluada y la producción de biomasa para ninguna de las tres especies. Finalmente, la asignación de biomasa presenta cierta variabilidad intraespecífica en función de la procedencia, siendo significativa la asignación entre especies. Se necesitan ecuaciones alométricas de producción de biomasa a nivel de procedencia o generales a partir de una muestra representativa de las mismas. Estos datos son muy interesantes en términos de gestión forestal sostenible, destacando la importancia del origen del material forestal de reproducción en la producción y asignación de biomasa.

Palabras clave: biomasa, diversidad genética, fenotipo/genotipo, *Pinus*

4.3.1. INTRODUCCIÓN

La biodiversidad es uno de los componentes principales de estudio y evaluación en los ecosistemas forestales y, especialmente, en aquellos “hotspots” de biodiversidad como es la región Mediterránea (Myers et al., 2000). Las poblaciones del género *Pinus* son uno de los principales representantes de esta región, con una gran diversidad de especies dentro del mismo género (Fady, 2012). La diversidad es un concepto muy amplio, dónde a menudo se olvidan componentes como la diversidad genética, producción de biomasa, y su relación, que pueden llegar a definir la estructura de los ecosistemas.

La producción de biomasa es un aspecto importante a tener en cuenta en cuanto a la fijación de carbono así como otros fines, como puede ser la producción de energía. Es interesante conocer la producción media por árbol así como la distribución en las distintas partes del mismo y su posible diversidad teniendo en cuenta el origen geográfico del material forestal. Para conocer de forma sistemática si existe variación genética entre procedencias para determinados caracteres, una muestra representativa de árboles de las procedencias a comparar deben crecer en condiciones ambientales lo más homogéneas posibles. Los

ensayos genéticos forestales de ambiente común (*common gardens*) cumplen precisamente la función de proporcionar condiciones ambientales homogéneas, bajo las que se comparten entradas genéticas que pueden ser de rango poblacional (ensayos de procedencias), familiar (ensayo de progenies) o individual (ensayo clonal).

Por otra parte, la diversidad genética neutra y la diversidad evaluada en caracteres cuantitativos o adaptativos están en general poco relacionadas entre sí en especies forestales (González-Martínez et al., 2002), por lo que los ensayos en ambiente común constituye una aproximación necesaria para conocer la diferenciación adaptativa y el potencial evolutivo de una especie o población.

Los pinos mediterráneos tienen un amplio nicho ecológico, lo que se traduce en un amplio rango de distribución y la posibilidad de testar la relación entre caracteres fenotípicos y ambientales (Fady, 2012). La gran superficie forestal ocupada en España, tanto de manera natural como reforestación, por *Pinus halepensis* Mill. y *P. pinaster* Ait. y *P. sylvestris* L. pone de manifiesto su importancia ecológica. Estos pinos presentan diferentes niveles de diversidad genética para marcadores neutrales (Soto et al., 2010).

Los caracteres más comúnmente estudiados en pinos mediterráneos mediante ensayos de ambiente común han sido crecimiento (Alía et al., 1995; Chambel et al., 2007), caracteres fisiológicos (Aranda et al., 2010; Voltas et al., 2008), fenología (Codesido and Fernandez-Lopez, 2009) o reproducción (Climent et al., 2008; Santos-del-Blanco et al., 2013; Santos-del-Blanco et al., 2010; Tapias et al., 2004). Sin embargo, la producción de biomasa se ha estudiado relacionada con otros caracteres adaptativos pero raramente en sí misma.

Por ello, se pretende evaluar la diversidad en un carácter cuantitativo (producción de biomasa), la diversidad genética neutra y su relación a nivel intraespecífico para *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*, mediante los siguientes objetivos:

- i. Evaluar si existen diferencias intraespecíficas en producción de biomasa entre regiones de procedencia y poblaciones de *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*.
- ii. Comprobar la posible relación intraespecífica fenotipo/genotipo para un carácter vegetativo (producción de biomasa) entre poblaciones de *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*.
- iii. Ver si existen diferencias intraespecíficas entre procedencias e interespecíficas en la asignación

de biomasa a las distintas fracciones del árbol entre *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*.

4.3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal y producción de biomasa (fenotipo)

El estudio se centra en los ensayos de procedencias para *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris* (Figura 1). Dichos ensayos pertenecen a la red nacional de ensayos genéticos forestales (GENFORED, www.genfored.es). El material vegetal utilizado en cada ensayo pretende estudiar la variabilidad intra-específica de las especies a partir de 102 poblaciones naturales cubriendo todo el rango de distribución de las especies en España, así como una pequeña muestra de repoblaciones.

En cada uno de los ensayos se siguió un diseño de bloques completos aleatorios, formados por 4 bloques y 16 plantas (4 en el caso de *P. halepensis*) de la misma procedencia contiguas por bloque. Los ensayos están representados por poblaciones del área de distribución natural mediterránea de las tres especies de pino. Para el presente estudio, se eligió una submuestra de poblaciones cubriendo el rango de distribución natural de las tres especies en España (Figura 1).

En cada una de las poblaciones muestreadas se recogieron semillas de polinización abierta de 20 a 30 árboles ubicados al menos a 100m de distancia entre unos y otros para evitar consanguinidad. La recogida de datos en los ensayos se viene realizando de manera periódica desde su instalación para distintos caracteres (crecimiento, reproducción, fenología, entre otros). Para el presente estudio se utilizaron datos de crecimiento (diámetro y altura).

La estimación de producción de biomasa (fenotipo) por individuo se realizó mediante los modelos específicos de ecuaciones alométricas de (Ruiz-Peinado et al., 2011). A partir de los diámetros normales y alturas totales de los árboles se calculan distintas fracciones de biomasa (kg) para cada una de las especies estudiadas:

- Biomasa tronco (W_{tronco})
- Biomasa de madera ramas medias (entre 2 y 7 cm de \varnothing) (W_{ramas})
- Biomasa de ramas finas y acículas ($W_{ramillos}$)
- Biomasa de raíz (W_{raiz})
- Biomasa total (W_{total})

En la estimación se descarta la fracción correspondiente a ramas gruesas porque los árboles no alcanzaron los diámetros normales mínimos. Estos modelos cumplen la propiedad aditiva por parte de las ecuaciones, donde la biomasa total (W_{total}) del árbol es la

suma de las estimaciones de las distintas fracciones del árbol. Así mismo, se calcularon los porcentajes de asignación de biomasa de cada fracción del árbol respecto de su biomasa total, siendo así tronco (%), ramas (%), ramillos (%) y raíces (%).

Se eligieron ensayos con edades de medición de árboles maduros similares. Las características correspondientes a cada uno de los ensayos y los datos analizados se recogen en la Tabla 1.

Material vegetal y métodos moleculares (genotipo)

Para evaluar la diversidad genética se analizaron 37 poblaciones naturales, presentes en los ensayos de procedencias (*P. halepensis* (13 pobs.), *P. pinaster* (13 pobs.), *P. sylvestris* (11 pobs.) (Figura 1), empleándose nueve pares de primers de microsatélites de cloroplasto (cpSSR) (*Pt4825*, *Pt110048*, *Pt15169*, *Pt26081*, *Pt36480*, *Pt41093*, *Pt71936*, *Pt79951*, *Pt87268*) en *P. halepensis*, y seis pares (*Pt15169*, *Pt30204*, *Pt36480*, *Pt71936*, *Pt87268*, *Pt1254*) en *P. pinaster* y *P. sylvestris*. Las amplificaciones de ADN y el cálculo de los tamaños de los fragmentos se han descrito en estudios anteriores (Soto de Viana et al., 2010). Cada haplotipo individual de cloroplasto (genotipo) fue definido por la combinación de las fragmentos de cpSSR (nueve regiones en *P.*

halepensis y seis regiones en *P. pinaster* y *P. sylvestris*).

Métodos estadísticos

Fenotipo

Para testar la hipótesis de diferenciación entre procedencias para el carácter estudiado (biomasa total) ajustamos modelos mixtos generales, donde el modelo sigue la siguiente estructura:

$$W_{ijk} = \mu + R_i + P_j(R_i) + B_k + B_k * R_i + \varepsilon_{ijk}$$

Donde W es biomasa total por árbol, μ es la media general, R es el efecto de la región de procedencia i , $P(R)$ es el efecto de la población j dentro de la región de procedencia i , B es el efecto del bloque k , $B * R$ es la interacción del bloque k con la región de procedencia i y ε es el término de error. La interacción es un error experimental debido a la diferenciación entre bloques. Todos los efectos son considerados como fijos a excepción del bloque, utilizado como aleatorio. En *P. sylvestris* sólo se consideró el efecto de la población, dado que sólo hay tres regiones de procedencia con más de una población. En todos los análisis de componentes de la varianza realizados, se estima la significación y la contribución de los efectos a la W_{total} .

A partir del modelo, se extrajeron las estimaciones medias por población

para el cálculo de las distancias fenotípicas en biomasa total (W_{ij}) por árbol entre dos poblaciones: $W_{ij} = \sqrt{(W_i - W_j)^2}$, y el Coeficiente de variación (CV_{W_i}) de biomasa total de cada población: $CV_{W_i} = \delta_i / \bar{X}_i$.

Genotipo

El estadístico S_λ (Ribeiro et al., 2002) fue calculado como estimador de la distancia genética entre cada par de poblaciones muestreadas con microsatélites por especie (Figura 1):

$$S_\lambda = \sum_1^n (X_{ia} - X_{ib})^2$$

Donde n es el número total de diferentes haplotipos encontrados en las poblaciones a y b , X_{ia} es la frecuencia del i -ésimo haplotipo en la población a y X_{ib} la frecuencia del i -ésimo haplotipo en la población b . El parámetro S_λ cercano a 0 indica que las dos poblaciones presentan haplotipos muy similares. Este método fue implementado por el software *Blue Caterpillar* (Navascués and Navascués, 2006).

Para evaluar la diversidad genética de cada población, se utilizaron los haplotipos generados por una serie de microsatélites comunes a las 3 especies (*Pt15169*, *Pt36480*, *Pt71936*, *Pt87268*). Se calcularon el número medio de haplotipos por población ajustado a una muestra de 15

individuos ($Pb15$) y la heterocigosidad rarefactada (Hk).

Fenotipo-Genotipo

Se utilizó una matriz de correlaciones entre fenotipo y genotipo, mediante dos aproximaciones:

- Matriz de distancias genéticas-fenotípicas, se trata de una matriz cuadrada donde se relaciona para cada par de poblaciones, la distancias euclídea (W_{ij}) en biomasa total y la distancia genética (S_{λ}). Se calcula la matriz de correlaciones por el método de Spearman, obteniendo el estadístico mediante el test de Mantel para 10.000 permutaciones.
- Calculo de la correlación ordinal de Spearman entre los parámetros de diversidad genética (Hk y $Pb15$) y los coeficientes de variación (CV_{wi}) de biomasa total para cada una de las 37 poblaciones genotipadas.

4.3.3. RESULTADOS

Diferencias intraespecíficas en producción de biomasa total a nivel de población y región de procedencia

P. halepensis

Existen diferencias significativas entre regiones de procedencia y poblaciones dentro de cada región en producción de

biomasa total (Tabla 2). La interacción Bloque x Región de Procedencia no es significativa, lo que delata el diseño experimental de los bloques no ha sido efectivo en lo que a producción de biomasa se refiere. Hay una gran variabilidad entre regiones de procedencia en producción media de biomasa, así mismo como una gran diversidad entre poblaciones dentro de la misma región de procedencia (Figura 2).

P. pinaster

La producción en biomasa total presenta diferencias significativas entre regiones de procedencia y entre poblaciones. La interacción Bloque x Región de Procedencia es significativa, destacando así la eficiencia del diseño experimental en cuestión (Tabla 3). Existe variabilidad en las producciones medias entre ciertas regiones de procedencia, así como algunas regiones presentan gran heterogeneidad (Figura 3).

P. sylvestris

Existen diferencias significativas entre poblaciones pertenecientes a distintas regiones de procedencia en W_{tot} (Tabla 4). El efecto del bloque no es significativo, pero la interacción Bloque x Población, que sería equivalente a Bloque x Región de Procedencia en las otras especies. Existe gran diversidad de producción de biomasa entre poblaciones, así como heterogeneidad

dentro de las regiones con más de un población (Figura 4).

Relación fenotipo/genotipo

Los datos de diversidad genética intrapoblacional presentan valores muy bajos en *P. halepensis*, medios para *P. pinaster* y altos en *P. sylvestris* (Tabla 5). Así mismo los coeficientes de variación en producción de biomasa por población son altos en *P. pinaster* y bajos para *P. halepensis*, ocupando *P. sylvestris* un lugar intermedio. La matriz de distancias fenotípicas y genéticas también presenta amplia variabilidad interespecífica e interpoblacional (Tabla S1). No existe correlación entre los parámetros de diversidad genética (Hk , $Pb15$, S_{λ}) y los parámetros de biomasa (W_{ij} , CV_{Wij}) (Tabla 6).

Diferencias en asignación de los componentes de biomasa

Diferencias intraespecíficas

Los resultados de asignación entre procedencias por especie (Figuras 5, 6 y 7) muestran que existe una cierta variación intraespecífica en función del origen en la asignación de biomasa a sus distintos componentes.

Diferencias interespecíficas

Existen diferencias significativas entre las tres especies de pino estudiadas,

como promedio de los ensayos por especie, en cuanto a su estrategia de alocaión de biomasa. *P. pinaster* asigna la mayor parte de su biomasa al tronco, mientras que *P. halepensis* y *P. sylvestris* presentan unas tendencias más similares, concentrando la mayor parte de su biomasa en ramas, ramillos y raíces (Figura 8).

4.3.4. DISCUSIÓN

Los resultados de los ensayos de procedencias para *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris* en cuanto a producción de biomasa ponen de manifiesto la estrecha relación del carácter vegetativo, siendo significativo en todas ellas el origen del material forestal. El peso del origen geográfico varía entre las tres especies de pinos, presentando mayor influencia para las poblaciones estudiadas en *P. halepensis* y *P. sylvestris*. Así mismo, resaltar la heterogeneidad observada entre poblaciones de una misma región de procedencia, especialmente en *P. halepensis* y *P. pinaster*. Otros caracteres de crecimiento, como la altura, han sido estudiados en ensayos de ambiente común para las especies en cuestión constatando la diferenciación entre procedencias (Alía et al., 1995; Alía et al., 2001; Alía et al., 2001; Santos-del-Blanco et al., 2013). Así mismo, también existen trabajos similares en otras especies del género

Pinus acerca de la influencia del origen del material en caracteres de crecimiento (Chuine et al., 2001; Reich et al., 1994).

La diferenciación en biomasa entre regiones de procedencia presenta una variación gradual que no permite discriminar grandes grupos a nivel de regiones de procedencia o poblaciones. Así mismo, no se observa un patrón claro intraespecífico de producción de biomasa en función de la procedencia geográfica o mediante agrupaciones de las poblaciones o procedencias según criterios climáticos (Alía et al., 2009). Sería necesario comprobar mediante ensayos multi-sitio, con representación equitativa de poblaciones por región de procedencia, para comprobar si existe un determinado patrón entre procedencias y determinar la interacción genotipo-ambiente.

En ninguna de las tres especies existe una relación fenotipo-genotipo, incluso cuando las poblaciones estudiadas por especie presentan diferentes niveles de diversidad intraespecíficos, tal y cómo se ha comprobado en estudios más amplios en España (Soto et al., 2010). Este hecho corrobora la teoría de que la diversidad genética neutra y la diversidad evaluada con caracteres cuantitativos o adaptativos en especies forestales tienen poca relación (González-Martínez et al., 2002), resaltando con ello la utilidad de los ensayos de ambiente común.

La distribución de biomasa por procedencia a nivel de especie no presenta diferencias significativas debido a utilizar ecuaciones alométricas generales para todas las procedencias. Sin embargo, es muy interesante observar la tendencia de algunas procedencias de cara a poder ajustar el material forestal de reproducción en función de los objetivos de la restauración o plantación (por ej. utilizar aquellas procedencias, dentro de las posibles, que producen más biomasa de tronco si es para fines energéticos, o más biomasa de ramas y ramillos si el objetivo principal es la protección del suelo). A nivel interespecífico, la distribución de biomasa se hace de manera diferente para cada una de las especies estudiadas, constatando los resultados de otros trabajos con especies del género *Pinus* en ensayos de ambiente común (Climent et al., 2011; Chambel et al., 2007).

El hecho de utilizar ecuaciones alométricas no ajustadas a cada procedencia es una limitación del método, pero los ensayos de procedencias no tienen una muestra de árboles suficiente para realizar ensayos destructivos representativos, sin perder información para otros caracteres medidos periódicamente. Se pretende seguir trabajando en la línea de cara a conseguir marcadores que estén ligados a caracteres vegetativos de

interés en programas de mejora genética como pueda ser la producción de biomasa. Así mismo, los trabajos de estimación de biomasa a nivel general deberían utilizar un pool de procedencias a nivel de distribución de la especie en un país o región, cuando no sean viables las ecuaciones a nivel de región de procedencia, en lugar de tomar como muestra poblaciones de una única región (Ruiz-Peinado et al., 2011).

4.3.5. CONCLUSIONES

El conocimiento de las características de los materiales forestales de reproducción de las distintas especies forestales, y la adecuación de su uso en repoblaciones de distintas localizaciones, permite garantizar en el futuro que acciones encaminadas a mantener o mejorar las funciones de la cubierta forestal se produzcan con una mayor probabilidad de éxito. Incorporar criterios de producción de biomasa, tanto total como sus distintos componentes, y diversidad genética dentro de herramientas de gestión forestal sostenible, permite avanzar en las estrategias de conservación y manejo de la biodiversidad. Se pone de manifiesto la necesidad de estudios que permitan obtener relaciones alométricas de estimación de biomasa total en función de la procedencia, para garantizar una cierta exactitud en la

estimación así como en su distribución en los distintos componentes.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer a la red de ensayos genéticos forestales en España (GENFORED) por facilitar el acceso a su base de datos de ensayos de procedencias.

FINANCIACIÓN

El presente estudio ha sido financiado por los proyectos de investigación P01109-0096-3367 y PO1110-0112-7316, de la Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha, así como por el proyecto nacional CONSOLIDER-INGENIO 2010: MONTES (CSD 2008-00040) del Ministerio de Ciencia e Innovación.

BIBLIOGRAFÍA

Alía R, et al. Regiones de procedencia de especies forestales en España. (2009) Madrid: Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino.

Alía R, Gil L, Pardos JA. Performance of 43 *Pinus pinaster* Ait. provenances on 5 locations in Central Spain. *Silvae Genetica* (1995) 44:75-81.

Alía R, Gomez A, Agundez MD, Bueno MA, Notivol E. Levels of genetic

- differentiation in *Pinus halepensis* Mill. in Spain using quantitative traits, isozymes, RAPDs and cp-microsatellites. (2001) Dordrecht: Springer.
- Alía R, Moro-Serrano J, Notivol E. Genetic variability of Scots pine (*Pinus sylvestris*) provenances in Spain: Growth traits and survival. *Silva Fennica* (2001) 35:27-38.
- Aranda I, Alía R, Ortega U, Dantas AK, Majada J. Intra-specific variability in biomass partitioning and carbon isotopic discrimination under moderate drought stress in seedlings from four *Pinus pinaster* populations. *Tree Genetics & Genomes* (2010) 6:169-178.
- Climent J, Prada MA, Calama R, Chambel MR, De Ron DS, Alía R. To grow or to seed: Ecotypic variation in reproductive allocation and cone production by young female Aleppo pine (*Pinus halepensis*, Pinaceae). *American Journal of Botany* (2008) 95:833-842.
- Climent J, Regina Chambel M, Pardos M, Lario F, Villar-Salvador P. Biomass allocation and foliage heteroblasty in hard pine species respond differentially to reduction in rooting volume. *European Journal of Forest Research* (2011) 130:841-850.
- Codesido V, Fernandez-Lopez J. Genetic variation in seasonal growth patterns in radiata pine in Galicia (northern Spain). *Forest Ecology and Management* (2009) 257:518-526.
- Chambel MR, Climent J, Alía R. Divergence among species and populations of Mediterranean pines in biomass allocation of seedlings grown under two watering regimes. *Annals of Forest Science* (2007) 64:87-97.
- Chuine I, Aitken SN, Ying CC. Temperature thresholds of shoot elongation in provenances of *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research- Revue Canadienne De Recherche Forestiere* (2001) 31:1444-1455.
- Fady B. Biogeography of neutral genes and recent evolutionary history of pines in the Mediterranean Basin. *Annals of Forest Science* (2012) 69:421-428.
- González-Martínez SC, Alía R, Gil L. Population genetic structure in a Mediterranean pine (*Pinus pinaster* Ait.): a comparison of allozyme markers and

- quantitative traits. *Heredity* (2002) 89:199-206.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* (2000) 403:853-858.
- Navascués J, Navascués M. Blue Caterpillar: assignment methods for haplotypic data (version 1.0 beta) (2006).
- Reich PB, Oleksyn J, Tjoelker MG. Seed mass effects on germination and growth of diverse European Scots pine populations. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* (1994) 24:306-320.
- Ribeiro MM, et al. Origin identification of maritime pine stands in France using chloroplast simple-sequence repeats. *Annals of forest science* (2002) 59:53-62.
- Ruiz-Peinado R, del Rio M, Montero G. New models for estimating the carbon sink capacity of Spanish softwood species. *Forest Systems* (2011) 20:176-188.
- Santos-del-Blanco L, Bonser SP, Valladares F, Chambel MR, Climent J. Plasticity in reproduction and growth among 52 range-wide populations of a Mediterranean conifer: adaptive responses to environmental stress. *Journal of Evolutionary Biology* (2013) 26:1912-1924.
- Santos-del-Blanco L, Zas R, Notivol E, Chambel MR, Majada J, Climent J. Variation of early reproductive allocation in multi-site genetic trials of Maritime pine and Aleppo pine. *Forest Systems* (2010) 19:381-392.
- Soto A, Robledo-Arnuncio JJ, Gonzalez-Martinez SC, Smouse PE, Alia R. Climatic niche and neutral genetic diversity of the six Iberian pine species: a retrospective and prospective view. *Molecular Ecology* (2010) 19:1396-1409.
- Soto de Viana A, Robledo-Arnuncio JJ, González-Martínez SC, Smouse PE, Alia R. Climatic niche and neutral genetic diversity of the six Iberian pine species: a retrospective and prospective view. *Molecular Ecology* (2010) 19:1396-1409.
- Tapias R, Climent J, Pardos JA, Gil L. Life histories of Mediterranean pines. *Plant Ecology* (2004) 171:53-68.
- Voltas J, Regina Chambel M, Aranzazu Prada M, Pedro Ferrio J. Climate-related variability in

carbon and oxygen stable isotopes among populations of Aleppo pine grown in common-garden tests. *Trees-Structure and Function* (2008) 22:759-769.

FIGURAS

Fig. 1 Localización de poblaciones y ensayos de procedencias.

Fig. 2 Valor medio individual (W_{total}) por población de *P. halepensis*.

Fig. 3 Valor medio individual (W_{total}) por población de *P. pinaster*.

Fig. 4 Valor medio individual (W_{total}) por población de *P. sylvestris*.

Fig. 5 Valores medios de asignación de biomasa (%) a los distintos componentes por región de procedencia de *P. halepensis*.

Fig. 6 Valores medios de asignación de biomasa (%) a los distintos componentes por región de procedencia de *P. pinaster*.

Fig. 7 Valores medios de asignación de biomasa (%) a los distintos componentes por región de procedencia de *P. sylvestris*.

Fig. 8 Valores medios de asignación de biomasa (%) por especie a los distintos componentes en *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*.

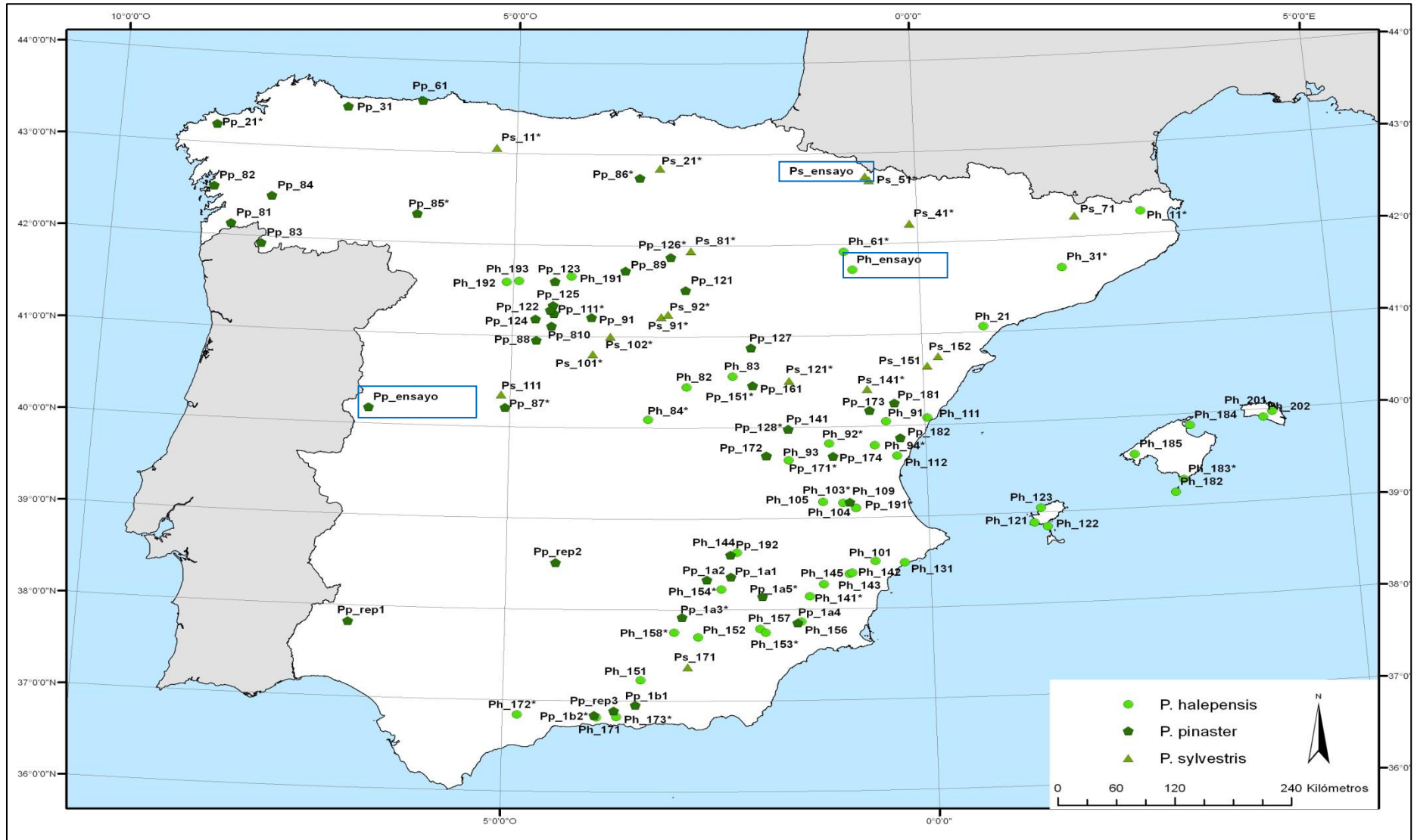


Fig. 1

especie_ab: especie (Ph: *P. halepensis*, Pp: *P. pinaster*, Ps: *P. sylvestris*), a (número (región de procedencia), rep (reproducción), ensayo (ensayo de procedencias)), b: identificador población). *: población analizada con moleculares.

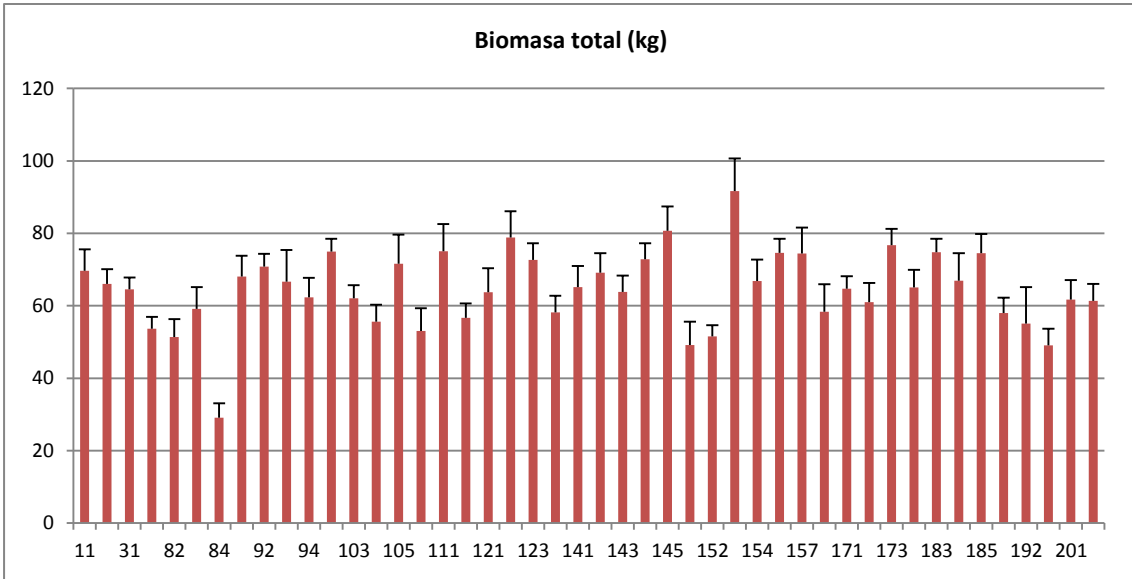


Fig. 2

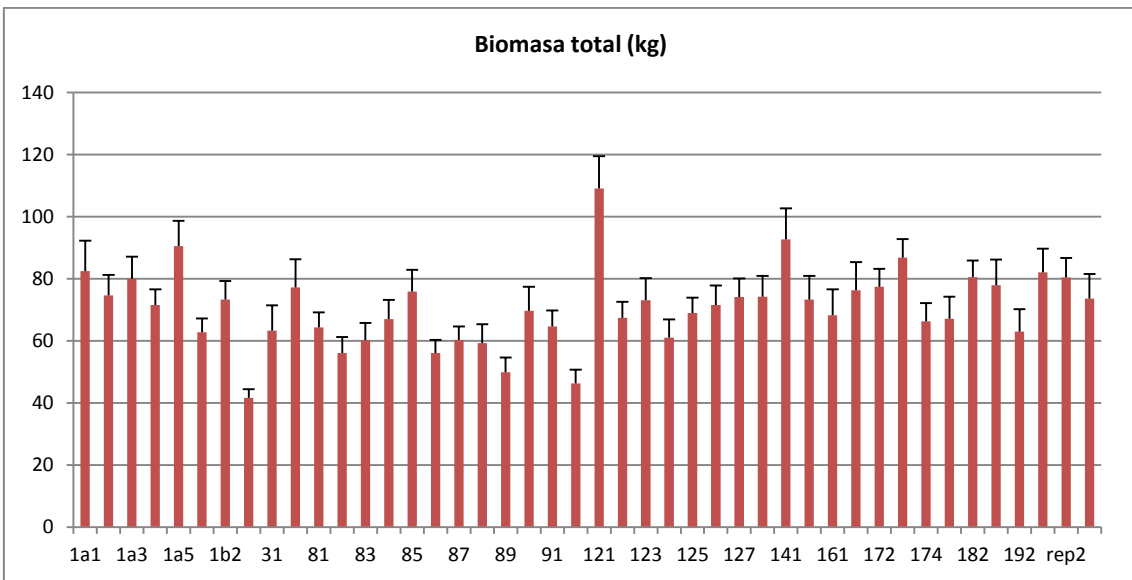


Fig. 3

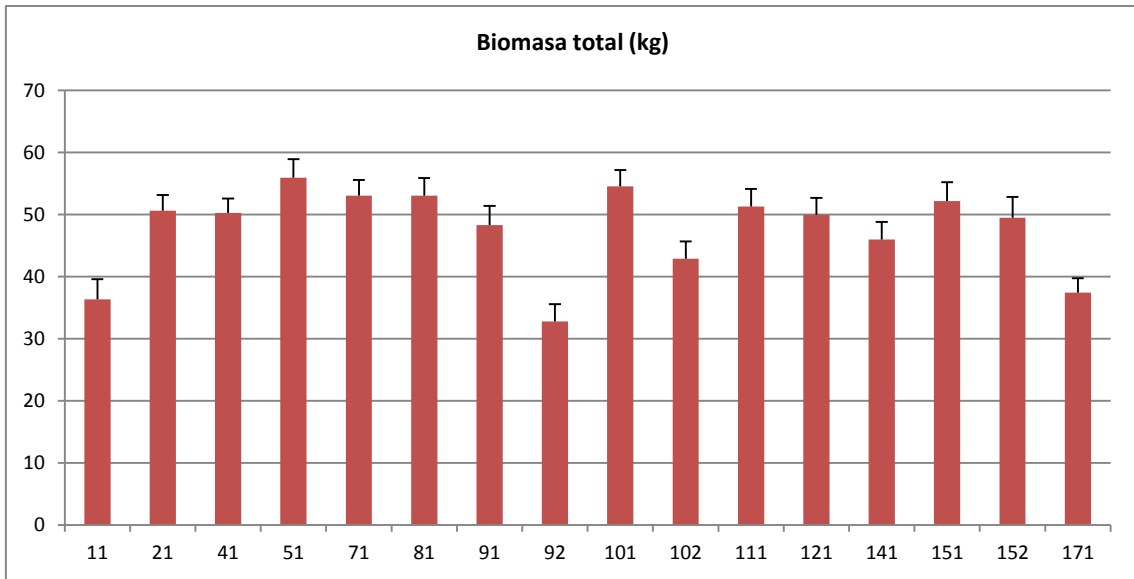


Fig. 4

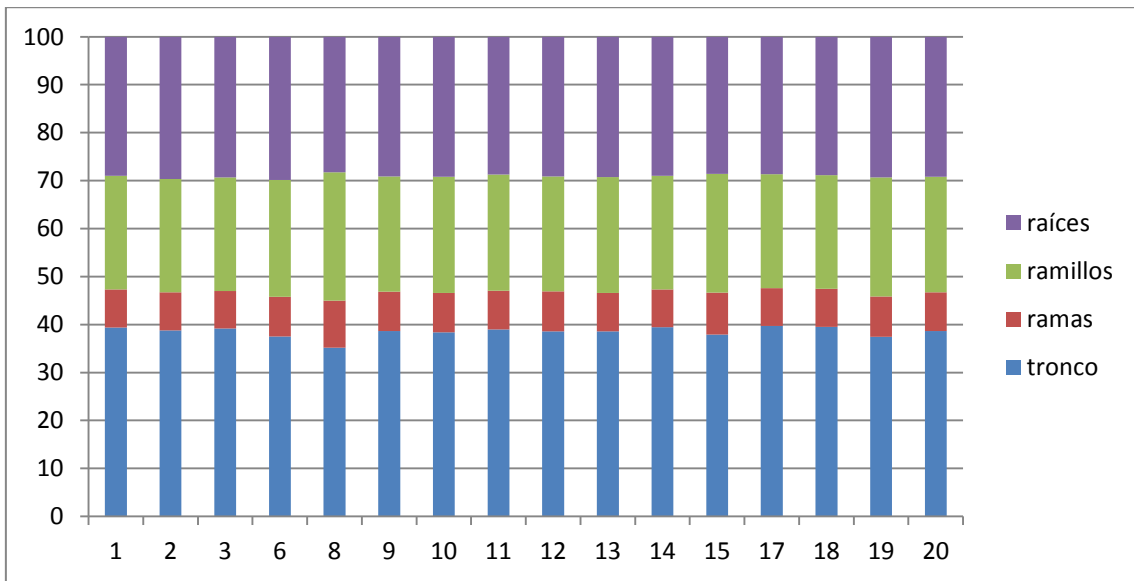


Fig. 5

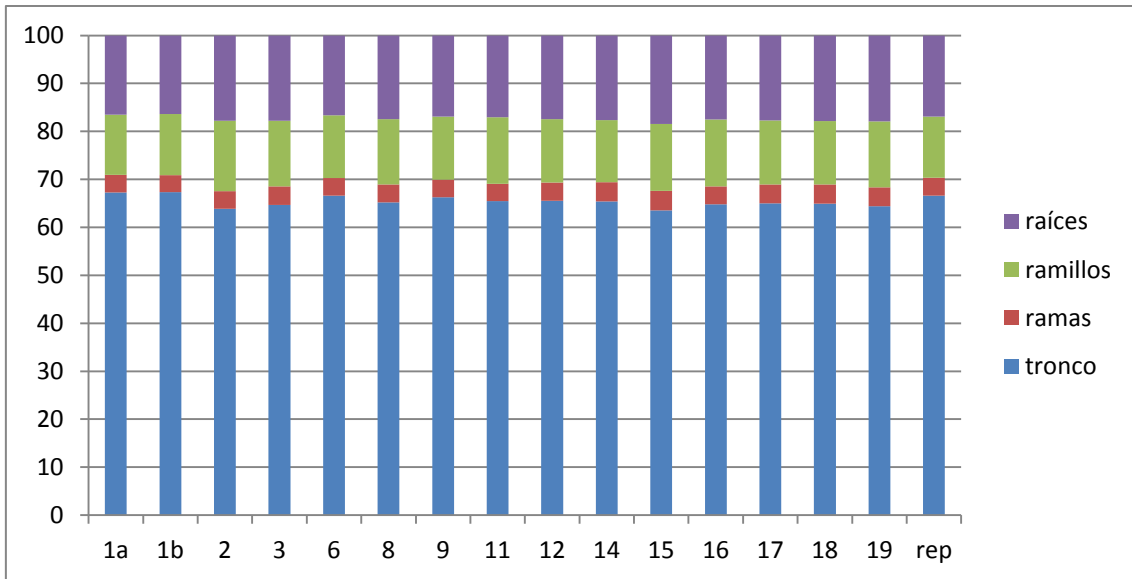


Fig. 6

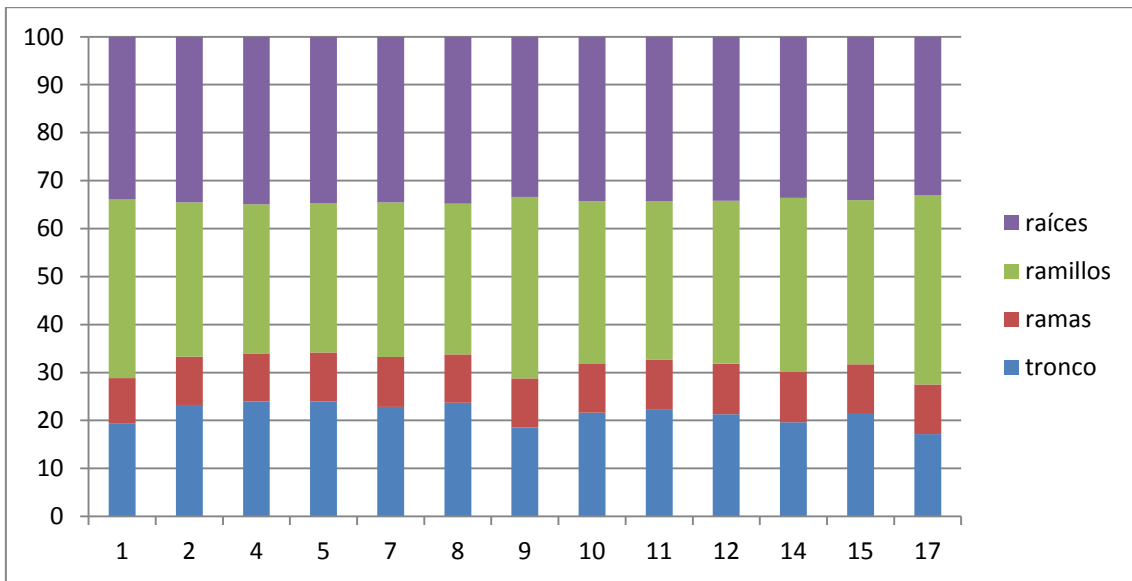


Fig. 7

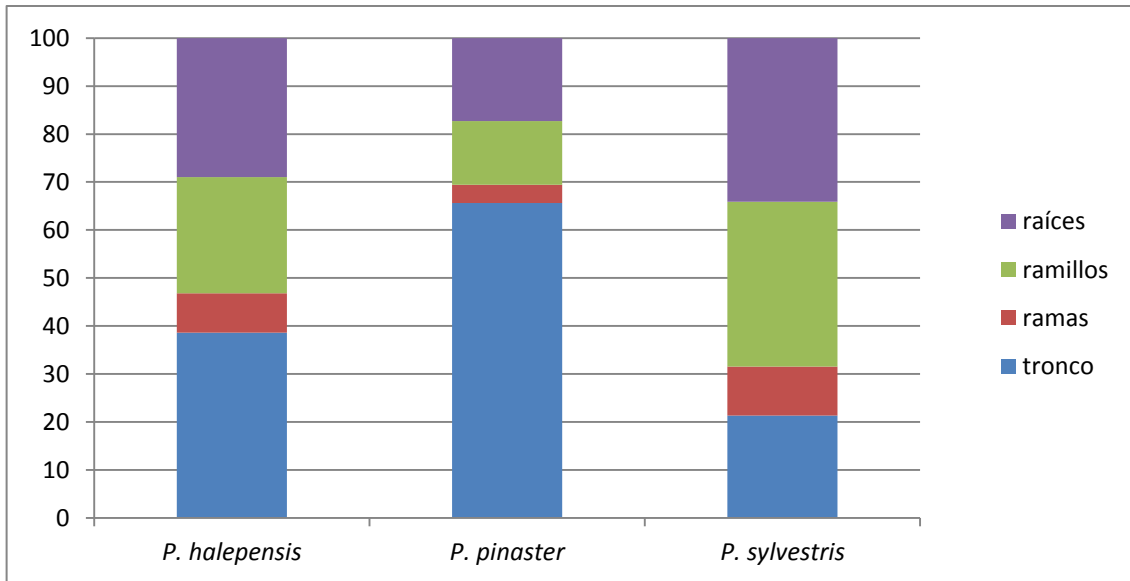


Fig. 8

TABLAS

Tabla 1. Características de los ensayos de procedencias por especie

	<i>P. halepensis</i>	<i>P. pinaster</i>	<i>P. sylvestris</i>
Código	P24SIA2	P26ACE	P21ARA
Localización	Montañana (Zaragoza)	Acebo (Cáceres)	Aragüés del Puerto (Huesca)
Año plantación	1998	1965	1991
Año medición	2010	1984	2005
Nº de poblaciones	46	44	16
Nº Regiones de Procedencia	16	15	13
Otros	1 lote comercial (origen: este España)	3 repoblaciones (origen: desconocido)	

Tabla 2. Análisis de la varianza y sus componentes para W_{total} en *P. halepensis*

Efecto	g.l.	Fvalue	ProbF	N. significación	%
Región de Procedencia	15	4.49	0.00	***	8.27
Población (Región de Procedencia)	30	3.18	0.00	***	11.72
Bloque	3	3.72	0.00	***	1.37
Bloque * Región de Procedencia	45	0.68	0.94	n.s.	3.86
Residuo	639				78.64

Tabla 3. Análisis de la varianza y sus componentes para W_{total} en *P. pinaster*

Efecto	g.l.	Fvalue	ProbF	N. significación	%
Región de Procedencia	15	5.29	0.00	***	3.87
Población (Región de Procedencia)	28	2.27	0.00	***	2.98
Bloque	3	7.12	0.00	***	1.69
Bloque * Región de Procedencia	34	2.26	0.00	***	2.18
Residuo	1873				89.28

Tabla 4. Análisis de la varianza y sus componentes para W_{total} en *P. sylvestris*

Efecto	g.l.	Fvalue	ProbF	N. significación	%
Población	15	2	0.037	*	10.30
Bloque	3	2.64	0.06	n.s.	2.74
Bloque * Población	45	3.74	0	***	15.70
Residuo	775				72.34

Tabla 5. Coeficientes de variación en biomasa total (CV_w) e índices de diversidad (H_k y $Pb15$) para las poblaciones de *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*

id_población	CV	Hk	Pb15
Ph_11	0.33	0.551	3.703
Ph_31	0.206	0	0
Ph_61	0.249	0.5	3.614
Ph_84	0.546	0.083	0.625
Ph_92	0.194	0.236	1.495
Ph_94	0.335	0.083	0.625
Ph_103	0.235	0.601	3.948
Ph_141	0.349	0.442	3.37
Ph_153	0.393	0	0
Ph_154	0.357	0	0
Ph_158	0.488	0.083	0.625
Ph_172	0.314	0.228	0.958
Ph_173	0.227	0.228	0.958
Pp_1a1	0.624	0.659	5.333
Pp_21	0.457	0.862	7.14
Pp_31	0.571	0.779	4.186
Pp_61	0.78	0.87	7.964
Pp_85	0.558	0.812	5.189
Pp_91	0.612	0.757	3.493
Pp_121	0.658	0.851	6.956
Pp_123	0.686	0.843	5.608
Pp_125	0.552	0.883	6.745
Pp_161	0.719	0.701	5.455
Pp_174	0.594	0.902	8.361
Pp_181	0.563	0.861	7.727
Pp_192	0.705	0.909	8.119

Ps_11	0.639	0.913	8.088
Ps_21	0.372	0.963	10.546
Ps_41	0.343	0.931	9.158
Ps_51	0.376	0.948	9.184
Ps_81	0.394	0.9	7.842
Ps_91	0.459	0.873	7.581
Ps_92	0.58	0.94	8.977
Ps_101	0.368	0.947	9.965
Ps_102	0.468	0.963	10.743
Ps_121	0.393	0.879	7.431
Ps_141	0.451	0.947	9.788

Tabla 6. Coeficientes de correlación media entre las variables de fenotipo y/o genotipo en *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*

	<i>P. halepensis</i>	<i>P. pinaster</i>	<i>P. sylvestris</i>
CV_w-Hk	-0.381 (0.187)	-0.099 (0.732)	-0.196 (0.534)
CV_w-Pb15	-0.381 (0.187)	0.160 (0.581)	-0.236 (0.455)
$W_{ij}-S_{\lambda}$	-0.022 (0.500)	-0.073 (0.589)	-0.293 (0.953)
$Hk-Pb15$	1 (0)	0.851 (0.003)	0.95 (0.003)

INFORMACIÓN SUPLEMENTARIA

Matrices de distancias

Tabla S1. Matriz de distancias fenotípicas y genéticas para las poblaciones de *P. halepensis* (S1a), *P. pinaster* (S1b) y *P. sylvestris* (S1c)

S1a

$W_{ij} \setminus S_{\lambda}$	Ph_11	Ph_31	Ph_61	Ph_84	Ph_92	Ph_94	Ph_103	Ph_141	Ph_153	Ph_154	Ph_158	Ph_172	Ph_173	Ph_183
Ph_11		0.601	0.038	0.163	0.068	0.524	0.264	0.073	0.778	1.222	0.073	0.076	0.809	0.306
Ph_31	5.174		0.622	0.858	0.78	1.149	0.67	0.757	0.934	1.378	0.802	0.694	0.965	0.76
Ph_61	16.06	10.886		0.139	0.038	0.469	0.205	0.083	0.799	1.243	0.049	0.066	0.83	0.271
Ph_84	40.602	35.429	24.542		0.066	0.132	0.146	0.309	1.035	1.479	0.063	0.295	1.066	0.132
Ph_92	1.048	6.222	17.108	41.651		0.357	0.239	0.113	0.957	1.401	0.005	0.125	0.988	0.265
Ph_94	7.518	2.344	8.542	33.084	8.566		0.181	0.806	1.326	1.771	0.354	0.753	1.358	0.118
Ph_103	7.642	2.468	8.418	32.96	8.69	0.124		0.497	0.847	1.292	0.25	0.399	0.878	0.063
Ph_141	4.621	0.552	11.439	35.981	5.669	2.897	3.021		0.934	1.378	0.115	0.056	0.965	0.545
Ph_153	21.943	27.116	38.003	62.545	20.894	29.46	29.585	26.564		0.222	0.979	0.872	0.059	0.938
Ph_154	2.907	2.267	13.153	37.695	3.955	4.611	4.735	1.714	24.849		1.424	1.316	0.087	1.382
Ph_158	11.445	6.271	4.615	29.157	12.493	3.927	3.803	6.824	33.388	8.538		0.128	1.01	0.271
Ph_172	8.484	3.31	7.576	32.118	9.532	0.966	0.842	3.863	30.427	5.577	2.961		0.903	0.503
Ph_173	7.109	12.283	23.169	47.711	6.061	14.627	14.751	11.73	14.833	10.016	18.554	15.593		0.969
Ph_183	5.091	10.265	21.151	45.694	4.043	12.609	12.733	9.713	16.851	7.998	16.536	13.575	2.018	

S1b

$W_{ij} \setminus S_\lambda$	Pp_1a1	Pp_21	Pp_31	Pp_61	Pp_85	Pp_91	Pp_121	Pp_123	Pp_125	Pp_161	Pp_174	Pp_181	Pp_192
Pp_1a1		0.187	0.231	0.264	0.212	0.281	0.191	0.221	0.223	0.273	0.139	0.276	0.219
Pp_21	39.585		0.11	0.127	0.129	0.148	0.112	0.129	0.107	0.13	0.105	0.14	0.109
Pp_31	16.84	22.744		0.142	0.148	0.163	0.131	0.105	0.103	0.081	0.149	0.155	0.124
Pp_61	5.781	33.804	11.06		0.139	0.146	0.121	0.143	0.124	0.143	0.128	0.137	0.114
Pp_85	8.122	31.463	8.718	2.341		0.16	0.063	0.147	0.138	0.157	0.09	0.151	0.097
Pp_91	18.766	20.819	1.926	12.985	10.644		0.142	0.164	0.133	0.164	0.153	0.158	0.135
Pp_121	1.749	41.334	18.59	7.53	9.871	20.515		0.13	0.109	0.139	0.063	0.134	0.073
Pp_123	16.413	23.172	0.427	10.632	8.291	2.353	18.162		0.109	0.096	0.131	0.155	0.128
Pp_125	13.335	26.249	3.505	7.555	5.213	5.431	15.085	3.078		0.106	0.127	0.141	0.114
Pp_161	12.496	27.089	4.344	6.715	4.374	6.27	14.245	3.917	0.839		0.15	0.15	0.132
Pp_174	16.158	23.427	0.682	10.377	8.036	2.608	17.907	0.255	2.823	3.662		0.144	0.094
Pp_181	15.074	24.511	1.766	9.293	6.952	3.692	16.823	1.339	1.739	2.578	1.084		0.127
Pp_192	19.556	20.029	2.716	13.775	11.434	0.79	21.305	3.143	6.221	7.06	3.398	4.482	

S1c

$W_{ij} \setminus S_\lambda$	Pp_1a1	Pp_21	Pp_31	Pp_61	Pp_85	Pp_91	Pp_121	Pp_123	Pp_125	Pp_161	Pp_174	Pp_181	Pp_192
Pp_1a1		0.187	0.231	0.264	0.212	0.281	0.191	0.221	0.223	0.273	0.139	0.276	0.219
Pp_21	39.585		0.11	0.127	0.129	0.148	0.112	0.129	0.107	0.13	0.105	0.14	0.109
Pp_31	16.84	22.744		0.142	0.148	0.163	0.131	0.105	0.103	0.081	0.149	0.155	0.124
Pp_61	5.781	33.804	11.06		0.139	0.146	0.121	0.143	0.124	0.143	0.128	0.137	0.114
Pp_85	8.122	31.463	8.718	2.341		0.16	0.063	0.147	0.138	0.157	0.09	0.151	0.097
Pp_91	18.766	20.819	1.926	12.985	10.644		0.142	0.164	0.133	0.164	0.153	0.158	0.135
Pp_121	1.749	41.334	18.59	7.53	9.871	20.515		0.13	0.109	0.139	0.063	0.134	0.073
Pp_123	16.413	23.172	0.427	10.632	8.291	2.353	18.162		0.109	0.096	0.131	0.155	0.128
Pp_125	13.335	26.249	3.505	7.555	5.213	5.431	15.085	3.078		0.106	0.127	0.141	0.114
Pp_161	12.496	27.089	4.344	6.715	4.374	6.27	14.245	3.917	0.839		0.15	0.15	0.132
Pp_174	16.158	23.427	0.682	10.377	8.036	2.608	17.907	0.255	2.823	3.662		0.144	0.094
Pp_181	15.074	24.511	1.766	9.293	6.952	3.692	16.823	1.339	1.739	2.578	1.084		0.127
Pp_192	19.556	20.029	2.716	13.775	11.434	0.79	21.305	3.143	6.221	7.06	3.398	4.482	

4.4. Estimación de la diversidad genética entre poblaciones naturales de pinos mediterráneos en España para poder asignar el origen a poblaciones de origen desconocido

Resumen

Los marcadores genéticos juegan un papel importante en la identificación del origen del material utilizado en actividades de conservación y restauración. Contribuyendo a dicho proceso de identificación, se realizaron estudios genéticos en una amplia muestra de 105 poblaciones ibéricas del género *Pinus* (*P. halepensis*, *P. pinaster*, *P. nigra*, *P. sylvestris* y *P. uncinata*). Se obtuvieron haplotipos para cada árbol muestreado (derivados de 9 CpSSR en *P. halepensis* y 6 CpSSR en el resto de especies). De acuerdo a esta información se subdividió cada una de las especies en regiones (considerando tanto estructura genética como su aplicación en programas de conservación y restauración) y se comprobó la asignación de poblaciones a las diferentes regiones mediante el cálculo de la distancia S_{λ} entre muestras. La probabilidad de asignación fue calculada mediante bootstrapping. El grado de éxito en la identificación de poblaciones entre las diferentes especies es muy alto (superior al 94%) para *P. nigra*, *P. sylvestris* y *P. uncinata*, alto (80%) para *P. pinaster*, y bajo (inferior al 65 %) para *P. halepensis*. Se necesita más información en *P. halepensis* y en algunas áreas de *Pinus pinaster*. Las pruebas de asignación en poblaciones de *P. sylvestris*, *P. uncinata* and *P. pinaster*, permiten identificar correctamente el origen del material. Basado en estos resultados, se sugiere el uso de una serie de marcadores para controlar el origen del material en especies del género *Pinus*.

Palabras clave

Identificación del Origen, Conservación, Restauración, *Pinus*

Primary Research Article

Identification of gene pools for restoration and conservation in *Pinus* species using Chloroplast Microsatellite markers.

Hernández-Tecles E^a, de las Heras J^a, Navascués M^b, Alía R^{c,d}

^aUniversidad de Castilla-La Mancha. ETSI Agrónomos de Albacete. Avda España s/n. Campus Universitario 02071 Albacete (Spain)

^bINRA, UMR1062 CBGP, F-34988 Montferrier-sur-Lez, France

^cINIA, Forest Research Centre, Madrid Spain. Avda A Coruña s/n. 28040 Madrid (Spain).

^dSustainable Forest Management Research Institute UVA-INIA. Avda Madrid 57 34004 Palencia(Spain)

Abstract

Genetic markers could play a major role in assisting in the identification of the origin of samples used in conservation and restoration activities.

To contribute towards this identification process, we use Iberian pines as an example to undertake gene pool identification based on a wide Iberian sample of 105 populations from 5 *Pinus* species (*Pinus halepensis*, *P. pinaster*, *P. nigra*, *P. sylvestris* and *P. uncinata*). Haplotypes from each analyzed tree (derived from 9 CpSSR in *P. halepensis* and 6 CpSSR in the rest of the species) were obtained. Based on this information we subdivided each species in regions (considering both genetic structure and its application in conservation and restoration programs) and tested the assignment of populations to the different groups based on the genetic distance among samples.

The rate of successful identification of populations among the different species is very high (more than 94 %) for *P. nigra*, *P. sylvestris* and *P. uncinata*, high (86 %) for *P. pinaster*, and low (under 65 %) for *P. halepensis*. More information is needed in *P. halepensis* and for some areas in *P. pinaster*. It is interesting to note that when testing populations of *P. nigra*, *P. sylvestris* and *P. uncinata*, it was possible to identify the origin of the material. Based on these results, a set of markers can be used to check the origin of the forest reproductive material in some pine species.

Keywords: Genetic Distance, Origin Identification, Conservation, Restoration, *Pinus*

4.4.1. INTRODUCTION

When managing degraded ecosystems the objective is to restore them to normal functioning (Holmes and Richardson, 1999), and therefore restoration and conservation activities must be considered complementary. In restoration activities, one of the main concerns is the use of a suitable species pool (Jones, 2003), i.e. the set of species that can potentially inhabit a site in the local ecological conditions (Zobel *et al.*, 1998; Holmes and Richardson, 1999; Kadoya *et al.*, 2008; Partel *et al.*, 2011). Currently, a special emphasis is being paid to plant species diversification, which involves a better use of the large pool of native species available when using an ecosystem-oriented approach (Vallejo, 2010). In most cases, it is local species that are promoted, according to basic principles of restoration ecology (MCPFE, 2006).

The genetic characteristics of the gene pool have to be addressed when choosing the reproductive material (i.e. fruits, seeds, plants or part of plants; (EC, 1999)), to be used in afforestation, conservation and restoration activities. Many of these characteristics are related to the intra-specific variability of the forest species (Langlet, 1971; Van Andel, 1998), with populations differing in levels of diversity for neutral markers and variability for important adaptive and performance traits (Alía, 2009).

Also, local adaptation has been invoked for the selection of local material (McKay *et al.*, 2005). Consequently, the use of local material is becoming of major concern in afforestation and restoration activities (MCPFE, 2007). However, it has been stated that is seldom the ideal solution (Jones and Monaco, 2009), especially in degraded or highly productive areas, and that their role is still unclear (e.g. the role of local provenance in reintroductions (Sutherland *et al.*, 2006). In conservation activities, and especially when managing conservation units or in reinforcement activities, the origin of the material is also of prime importance, as introgression with undesirable origins or non-local materials is a main concern (Moritz, 1994; Moritz, 1999). Considering origin is essential in conservation of forest genetic resources (Koskela *et al.*, 2013), e.g. when determining the gene pool that can be used in the vicinities of conservation units (McKay *et al.*, 2005). In most certification schemes, the basic marketing unit of source-identified forest reproductive materials is the region of provenance, or "seed zone" ((EC, 1999; Nanson, 2001; OCDE, 2001). The region of provenance is the area, or group of areas, subject to sufficiently uniform ecological conditions, in which stands or seed sources showing similar phenotypic or genetic characters are found, taking

into account altitudinal boundaries(EC, 1999). Those source-identified materials are key in restoration activities, as origin identification is kept, and no selection is applied.

The possibility of checking the origin of the material is essential for an effective control of forest reproductive material. Forest tree species present low levels of breeding, and it is difficult to have reliable fingerprinting methods to control the use of the correct reproductive material, or to avoid marketing fraud(Nanson, 2001; Degen *et al.*, 2010), despite its extensive use. Some attempts to identify forest reproductive material have been applied to specific materials in pine species (Aragonés *et al.*, 1997; Ribeiro *et al.*, 2002; Deguilloux *et al.*, 2004; Tigabu *et al.*, 2005), and quite recently different DNA fingerprinting approaches have been implemented to assign material in *Quercus robur* in Germany(Degen *et al.*, 2010), following methods already in use for other organisms(Honjo *et al.*, 2008). Also, some methods for origin traceability are being implemented in important tropical timber species (Tnah *et al.*, 2009; Tnah *et al.*, 2010).

The relatively high rate of sequence evolution in chloroplast microsatellites – CpSSRs-(Provan *et al.*, 1999), the small genome size of cpDNA, and the absence of sexual recombination, make

cpSSRs ideal markers for population and ecological genetics studies(Morgante *et al.*, 1996). Also, extensive studies using cpSSRs covering the distribution range of many forest species are now in existence (e.g.(Vendramin *et al.*, 1998; Gómez *et al.*, 1999; Bucci *et al.*, 2007)). Therefore, it would be interesting to test if these markers constitute a reliable tool for the identification of material to be used in restoration and conservation activities. To our knowledge, there is not an attempt to use extensive information on the geographic variation of forest tree species to test whether it is possible to differentiate among different regions of provenance for important groups of forest species.

We tested here the possibility of identifying samples of different pine species with contrasting levels of differentiation(Soto de Viana *et al.*, 2010), as an example for the use of extensive marker datasets of populations that are becoming available (e.g. (GD)2, Demiurge database, see web references) .The species considered are *Pinus halepensis* Mill., *Pinus pinaster* Aiton, *Pinus nigra* J.F. ArnoldArn., *Pinus sylvestris* L., and *Pinus uncinata* Ramond ex DC. in Lam. & DC.. Forest tree species play an essential role in determining many ecosystem properties, and also influence the genetic diversity of

associated organisms(Whitham *et al.*, 2006). Those species are highly relevant in Europe, and in the Mediterranean region in particular, both in afforestation, restoration and conservation programs (Alía, 2007). We tested cpSSR genetic markers by using two different approaches:

- 1) For each species we checked the assignation of populations to different genetic groups including populations covering the range of the species.
- 2) For five plantations (2-*P. pinaster*, 1-*P. sylvestris*, 2-*P. uncinata*) we inferred the origin by computing the probability of assignment to a subset of populations covering the range of the species.

4.4.2. MATERIAL AND METHODS

Plant Material and CpSSR determination

We sampled 105 populations (Figure 1) from five autochthonous *Pinus* species covering the distribution range in Spain, including the most important regions of provenance and conservation areas (Alía *et al.*, 2009): *P. halepensis* (14 populations), *P. pinaster* (38 pops), *P. nigra* (19 pops), *P. sylvestris* (29 pops), *P. uncinata* (5 pops). These populations are of autochthonous origin and include some

that are interesting for restoration (Alía *et al.*, 2009) and for conservation activities (Jiménez *et al.* 2009) (See Table S1, Supplementary information). Five plantations were also sampled to verify the procedure: *P. pinaster* (2 pops), *P. sylvestris* (1 pop), *P. uncinata* (2 pops) (See Table S2, Supplementary information)

Sampling scheme has been described previously(Soto de Viana *et al.*, 2010). Needles were collected from 24 trees in each population, at least 50 m apart from each other. Nine pairs of chloroplast microsatellite primers (PT4825, PT110048, PT15169, PT26081, PT36480, PT41093, PT71936, PT79951, PT87268) were used in *P. halepensis*, and six pairs (PT15169, PT30204, PT36480, PT71936, PT87268, PT1254) in *P. pinaster*, *P. nigra*, *P. sylvestris*, and *P. uncinata*. DNA amplifications and fragment sizing have already been described(Gómez *et al.*, 2005; Soto de Viana *et al.*, 2010). Each individual chloroplast haplotype was defined as the combination of the cpSSR fragments (nine regions in *P. halepensis* and six regions in the rest of species).

Statistical methods

Distribution of genetic diversity among populations and groups of populations.

A spatial analysis of molecular variance (SAMOVA (Dupanloup *et al.*, 2002)) was performed to define the distribution of genetic diversity among populations without explicit a priori definition of population structure. SAMOVA defines groups of populations that are geographically homogeneous, and maximally differentiated from each other. The significance of the variance components of the population permuted among groups (F_{CT}), of genotypes permuted among populations within groups (F_{SC}) and of genotypes permuted among populations and among groups (F_{ST}) was tested by 1000 permutations of individuals for each of the hierarchical levels. We tested $K = 2$ to 9 groups of populations. The number of groups was selected according to the highest F_{CT} value using the sum of squared size differences between haplotypes with 1000 simulated annealing processes.

Those groups were subdivided according to regions of provenance or conservation areas, to produce a set of regions with a practical meaning for conservation and restoration activities of the sampled species.

Assignment of populations to the groups

A reference population was defined for each group by including all haplotypes of the populations from a given group.

We estimate the genetic distance S_λ (Ribeiro *et al.*, 2002) for each of the 105 populations, and for each of the k groups of the different species as:

$$S_\lambda = \sum_1^n (X_{iR} - X_{i\lambda})^2$$

Where n is the total number of different haplotypes found both in the reference Group and in the λ population, X_{iR} is the frequency of the i^{th} haplotype in the reference Group and $X_{i\lambda}$ the frequency of the i^{th} haplotype in the population.

Numerical tests based on Monte Carlo methods were used to estimate the significance of the Statistics (Manly, 1991). A given population could be assigned to various reference groups or to none of them. A statistic/genetic distance S_λ close to 0 indicates that we cannot exclude this reference group as origin of the population. For reference groups with only one population, we were measuring its distinctiveness in contrast with the rest of populations. This method was implemented in the *Blue Caterpillar* software (Online material, (Navascués and Navascués, 2006)).

To validate the method, we checked 5 plantations of known origin (Table S2), and we identify the most likely origin of the material by using the same method as previously described.

4.4.3. RESULTS

The sampled species present high rates of differentiation among populations (Table 1). When using the spatial analysis of molecular variance, it is possible to distinguish between 3 to 9 groups depending on the species, which can be considered in panmixia.

Some of those groups were subdivided according to objective (conservation or restoration). Accordingly, we separated conservation populations and populations belonging to distinct regions of provenance (Table 2). Some of the groups include only 1 population (5 out of 8 in *P. halepensis*, 14 out of 20 in *P. pinaster*, 8 out of 11 in *P. nigra*, 2 out of 11 in *P. sylvestris* and 3 out of 4 in *P. uncinata*), with most of those populations defined as important in conservation programs (see Supplementary Information Table S1).

Table 3 presents a classification summary of populations into different groups. The species with highest rates of success in assignment are *P. sylvestris* and *P. uncinata*, and the one with lowest rate is *P. halepensis*. In any case, all the species, except *P. halepensis*, present high rates

of correct assignments (higher than 85 %).

To check the validity of our method, we tried to assign 5 plantations of known origin to the different groups of populations. In all the cases, the correct origin of the plantation was identified (Table 4). One of the plantations of *P. pinaster* could be assigned to two groups, but in this case both groups belong to the same region of provenance, just separating a conservation population.

4.4.4. DISCUSSION

Pine species present, due to their mating systems, a large level of genetic diversity within populations and a low to intermediate level of differentiation among populations (Soto de Viana *et al.*, 2010). These characteristics have a large influence on the use of forest reproductive material and conservation programs of the species.

We present a method for checking the origin of material to be used in restoration and conservation activities. The method works for two species (*P. sylvestris* and *P. uncinata*), but also for over 85% of *P. nigra* and *P. pinaster* populations, being *P. halepensis* the species with the lowest rate of identification. Interestingly, no methods are available to check the origin in

those species, where they can only identify specific populations (Ribeiro *et al.*, 2002; Robledo-Arnuncio *et al.*, 2009), or have been used in the delineation of genetic zones of interest in breeding and conservation activities (Bucci and Vendramin, 2000; Bucci *et al.*, 2007). Other methods have been developed based in the identification of both the adult population/s and the material obtained from it/them (Deguilloux *et al.*, 2004; Degen *et al.*, 2010).

Afforestation and restoration activities with these species are usually based on local material, which refers to the same region of provenance. In species with large spatial structure, local material can differ even within 1 km from the other population. In contrast, in our case, the extensive gene flow allows to consider more extensive populations. We cannot differentiate clearly populations from some regions of provenance (e.g. Aleppo pine) showing that only some groups of populations could be distinguished (Soranzo *et al.*, 2000; Bucci *et al.*, 2007; Heuertz *et al.*, 2009), but also, that in some cases populations from the same regions of provenance are clearly different. Regions of provenance have been defined mostly based on ecological and extensive genetic information (Gil *et al.*, 1996), as information from genetic markers are not the best option to

define regions with a similar pattern of variation in traits related to adaptation or growth (e.g. (Hamann *et al.*, 2000)), where redefinition of the limits of some regions of provenance might be needed.

The Euforgen program has defined different *in-situ* conservation units of the species, and the conservation program (Jimenez *et al.*, 2009; Koskela *et al.*, 2013) includes the definition of genetic criteria for restoration activities and for monitoring the conservation units. In our case, we can distinguish all the conservation populations considered in the study that will allow a better implementation of activities in Spain.

4.4.5. CONCLUSIONS

We demonstrate the usefulness of extensive markers datasets that are becoming available, for identification of gene pools at the population level in different species. The result depends of factors as the genetic diversity and differentiation of the populations.

The rate of successful identification of populations among the different species is very high (more than 94 %) for *P. nigra*, *P. sylvestris* and *P. uncinata*, high (circa 85 %) for *P. pinaster*, and low (under 65 %) for *P. halepensis*.

More information is needed in *P. halepensis* and for some areas in *P.*

pinaster. It is interesting to note that when testing populations of *P. sylvestris*, *P. uncinata* and *P. nigra*, it was possible to identify the origin of the material.

ACKNOWLEDGEMENTS AND FUNDING

We are grateful to the INIA marker database GENFODAT (A. Gomez, A. Soto de Viana, S.C. Gonzalez-Martínez, J.J. Robledo-Arnuncio, P. Jimenez, D. Barba, C. Garcia) for providing the information of the populations. The text has been revised by a professional in English grammar and style, P. C. Grant. This research was financially supported by grants to R. Alía from the Spanish Ministry of Competitiveness and Innovation (Project RTA2010-00120-C02-01), and the Ministry of Agriculture and Forestry (AEG06-02).

BIBLIOGRAPHY

Alía, R., 2007. The European Forest Genetic Resources Programme (EUFORGEN). The forest genetic resources conservation. Foresta.

Alía, R., García del Barrio, J.M., Iglesias, S., Mancha, A., de Miguel, J., Nicolás, J.L., Pérez, F., Sánchez de Ron, D., 2009a. Regiones de

procedencia de especies forestales en España. OA Parques Nacionales, Madrid.

Alía, R.A., N.; Chambel, M.R.; Barba, D. and Iglesias, S, 2009b. Genetic quality of forest reproductive materials in Land restoration programmes. In: Vallejo, V.R.B., s. and Aaronson, J. (Ed.), Innovative approaches in forest restoration. Fundacion CEAM, Valencia, pp. 89-103.

Aragonés, A., Barrena, I., Espinel, S., Herrán, A., Ritter, E., 1997. Origin of Basque populations of radiata pine inferred from RAPD data. Annals of Forest Sciences, pp. 697-703.

Bucci, G., González-Martínez, S.C., Le Provost, G., Plomion, C., Ribeiro, M., Sebastiani, F., Alía, R., Vendramin, G.G., 2007. Range-wide phylogeography and gene zones in *Pinus pinaster* Ait. revealed by chloroplast microsatellite markers. Molecular Ecology 16, 2137-2153.

Bucci, G., Vendramin, G.G., 2000. Delineation of genetic zones in the European Norway spruce natural range: preliminary evidence. Molecular Ecology 9, 923-934.

Degen, B., Holtken, A., Rogge, M., 2010. Use of DNA-Fingerprints to Control the Origin of Forest Reproductive Material. Silvae genetica 59, 268-273.

- Deguilloux, M.F., Pemonge, M.H., Petit, R.J., 2004. DNA-based control of oak wood geographic origin in the context of the cooperage industry. *Annals of Forest Science* 61, 97-104.
- Dupanloup, I., Schneider, S., Excoffier, L., 2002. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. *Molecular Ecology* 11, 2571-2581.
- EC, 1999. Council Directive 1999/105/CE of 22 December 1999 on the marketing of forest reproductive material. In. Official Journal of the European Communities.
- Gil, L., Díaz-Fernández, P.M., Jiménez, M.P., Roldán, M., Alía, R., Agúndez, D., De Miguel, J., Martín, S., De Tuero, M., 1996. Las Regiones de Procedencia de *Pinus halepensis* Mill. En España. OA Parques Nacionales, Madrid.
- Gómez, A., Bueno, M.A., Alía, R., Vendramin, G.G., 1999. Aleppo pine populations history in Spain revealed by cpSSRs. In, *Proceedings of Application of Biotechnology to Forest Genetics*. Biofor, pp. 137-140.
- Gómez, A., Vendramin, G., González-Martínez, S., Alía, R., 2005. Genetic diversity and differentiation of two Mediterranean pines (*Pinus halepensis* Mill. and *Pinus pinaster* Ait.) along a latitudinal cline using chloroplast microsatellite markers. *Diversity and Distributions* 11, 257-263.
- Hamann, A., Koshy, M.P., Namkoong, G., Ying, C.C., 2000. Genotypexenvironment interactions in *Alnus rubra*: developing seed zones and seed-transfer guidelines with spatial statistics and GIS. *Forest Ecology and Management* 136, 107-119.
- Heuertz, M., Teufel, J., González-Martínez, S.C., Soto, A., Fady, B., Alía, R., Vendramin, G.G., 2009. Geography determines genetic relationships between species of mountain pine (*Pinus mugo* complex) in western Europe. *Journal of biogeography* 37, 541-556.
- Holmes, P.M., Richardson, D.M., 1999. Protocols for Restoration Based on Recruitment Dynamics, Community Structure, and Ecosystem Function: Perspectives from South African Fynbos. *Restoration Ecology* 7, 215-230.
- Honjo, M., Ueno, S., Tsumura, Y., Handa, T., Washitani, I., Ohsawa, R., 2008. Tracing the origins of stocks of the endangered species *Primula sieboldii* using nuclear microsatellites and chloroplast DNA. *Conservation Genetics* 9, 1139-1147.
- Jimenez, P., Díaz-Fernández, P.M., Iglesias, S., Prada, A., del Barrio,

- J.M.G., Alba, N., Alia, R., 2009. Estrategia Nacional para la conservación y uso sostenible de los recursos genéticos forestales: un marco para coordinar las actividades del gobierno central y comunidades autónomas en España. *Forest Systems* 18.
- Jones, T.A., 2003. The Restoration Gene Pool Concept: Beyond the Native Versus Non-Native Debate. *Restoration Ecology* 11, 281-290.
- Jones, T.A., Monaco, T.A., 2009. A role for assisted evolution in designing native plant materials for domesticated landscapes. *Frontiers in Ecology and the Environment* 7, 541-547.
- Kadoya, T., Suda, S.-i., Nishihiro, J., Washitani, I., 2008. Procedure for Predicting the Trajectory of Species Recovery Based on the Nested Species Pool Information: Dragonflies in a Wetland Restoration Site as a Case Study. *Restoration Ecology* 16, 397-406.
- Koskela, J., Lefevre, F., Schueler, S., Kraigher, H., Olrik, D.C., Hubert, J., Longauer, R., Bozzano, M., Yrjana, L., Alizoti, P., Rotach, P., Vietto, L., Bordacs, S., Myking, T., Eysteinnsson, T., Souvannavong, O., Fady, B., De Cuyper, B., Heinze, B., von Wuehlisch, G., Ducouso, A., Ditlevsen, B., 2013. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biological Conservation* 157, 39-49.
- Langlet, O., 1971. Two hundred years geneecology. *Taxon* 20, 653-721.
- Manly, B., 1991. Randomization and Monte Carlo tests in biology. In. Chapman and Hall.
- McKay, J.K., Christian, C.E., Harrison, S., Rice, K.J., 2005. "How Local Is Local?"—A Review of Practical and Conceptual Issues in the Genetics of Restoration. *Restoration Ecology* 13, 432-440.
- MCPFE, 2006. Draft Recommendations for Afforestation and Reforestation in the Context of Climate Change Mitigation. In, Ministerial Conference on the Protection of Forests in Europe. Workshop on pan-European recommendations for afforestation and reforestation in the context of UNFCCC., Vinius.
- MCPFE, 2007. Draft Recommendations for Afforestation and Reforestation in the Context of Climate Change Mitigation. In, Ministerial Conference on the Protection of Forests in Europe. Workshop on pan-European recommendations for afforestation and reforestation in the context of UNFCCC., Warsaw.
- Morgante, M., Pfeiffer, A., Costacurta, A., Olivieri, A.M., 1996. Molecular tools

for population and ecological genetics in coniferous trees. *Phyton-Horn* 36, 129-138.

Moritz, C., 1994. Defining 'Evolutionarily Significant Units' for conservation. *Trends in Ecology & Evolution* 9, 373-375.

Moritz, C., 1999. Conservation Units and Translocations: Strategies for Conserving Evolutionary Processes. *Hereditas* 130, 217-228.

Nanson, A., 2001. The new OECD scheme for the certification of forest reproductive materials. *Silvae genetica* 50, 181-187.

Navascués, J., Navascués, M., 2006. Blue Caterpillar: assignment methods for haplotypic data (version 1.0 beta).

OCDE, 2001. OCDE Scheme for the control of forest reproductive material moving in international trade. OCDE.

Partel, M., Szava-Kovats, R., Zobel, M., 2011. Dark diversity: shedding light on absent species. *Trends in Ecology & Evolution* 26, 124-128.

Provan, J., Soranzo, N., Wilson, N.J., Goldstein, D.B., Powell, W., 1999. A low mutation rate for chloroplast microsatellites. *Genetics* 153, 943-947.

Ribeiro, M.M., LeProvost, G., Gerber, S., Vendramin, G.G., Anzidei, M., Decroocq, S., Marpeau, A., Mariette, S., Plomion, C., 2002. Origin

identification of maritime pine stands in France using chloroplast simple-sequence repeats. *Annals of Forest Science* 59, 53-62.

Robledo-Arnuncio, J., Navascués, M., González-Martínez, S., Gil, L., 2009. Estimating gametic introgression rates in a risk assessment context: a case study with Scots pine relicts. *Heredity* 103, 385-393.

Soranzo, N., Alia, R., Provan, J., Powell, W., 2000. Patterns of variation at a mitochondrial sequence-tagged-site locus provides new insights into the postglacial history of European *Pinus sylvestris* populations. *Molecular Ecology* 9, 1205-1211.

Soto de Viana, A., Robledo-Arnuncio, J.J., González-Martínez, S.C., Smouse, P.E., Alia, R., 2010. Climatic niche and neutral genetic diversity of the six Iberian pine species: a retrospective and prospective view. *Molecular Ecology* 19, 1396-1409.

Sutherland, W.J., Armstrong-Brown, S., Armsworth, P.R., Tom, B., Brickland, J., Campbell, C.D., Chamberlain, D.E., Cooke, A.I., Dulvy, N.K., Dusic, N.R., 2006. The identification of 100 ecological questions of high policy relevance in the UK. *Journal of Applied Ecology* 43, 617-627.

Tigabu, M., Oden, P.C., Lindgren, D., 2005. Identification of seed sources and

parents of *Pinus sylvestris* L. using visible-near infrared reflectance spectra and multivariate analysis. *Trees-Structure and Function* 19, 468-476.

Tnah, L.H., Lee, S.L., Ng, K.K.S., Faridah, Q.-Z., Faridah-Hanum, I., 2010. Forensic DNA profiling of tropical timber species in Peninsular Malaysia. *Forest Ecology and Management* 259, 1436-1446.

Tnah, L.H., Lee, S.L., Ng, K.K.S., Tani, N., Bhassu, S., Othman, R.Y., 2009. Geographical traceability of an important tropical timber (*Neobalanocarpus heimii*) inferred from chloroplast DNA. *Forest Ecology and Management* 258, 1918-1923.

Vallejo, V.R., 2010. Problems and Perspectives of Dryland Restoration. In: Bautista, J.A., J. and Vallejo, V.R. (Ed.), *Land Restoration to Combat Desertification. Innovative Approaches, Quality Control and Project Evaluation*. Fundacion CEAM, Paterna, pp. 13-22.

Van Andel, J., 1998. Intraspecific variability in the context of ecological restoration projects. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 1, 221-237.

Vendramin, G., Anzidei, M., Madaghiele, A., Bucci, G., 1998. Distribution of genetic diversity in *Pinus pinaster* Ait. as revealed by chloroplast

microsatellites. *TAG Theoretical and Applied Genetics* 97, 456-463.

Whitham, T.G., Bailey, J.K., Schweitzer, J.A., Shuster, S.M., Bangert, R.K., LeRoy, C.J., Lonsdorf, E.V., Allan, G.J., DiFazio, S.P., Potts, B.M., 2006. A framework for community and ecosystem genetics: from genes to ecosystems. *Nature Reviews Genetics* 7, 510-523.

Zobel, M., van der Maarel, E., Dupré, C., 1998. Species pool: the concept, its determination and significance for community restoration. *Applied Vegetation Science* 1, 55-66.

Web references

(GD2) database:

<https://gd2.pierroton.inra.fr/gd2/login/login>. Accessed: 20/6/2013.

Demiurge database.

<http://www.demiurge-project.org/>.

Accessed: 20/6/2013.

FIGURE

Fig. 1 Location of populations used in the study. (●: *Pinus halepensis*; ◆: *Pinus pinaster*; ■: *Pinus nigra*; ▲: *Pinus sylvestris*; △: *Pinus uncinata*)



TABLES

Table 1. Results of the SAMOVA analysis, showing the number of groups distinguished, the differentiation among groups, and among population within groups (Ph: *P. halepensis*, Pp: *P. pinaster*, Pn: *P. nigra*, Ps: *P. sylvestris*, Pu: *P. uncinata*).

	Ph	Pp	Pn	Ps	Pu
# Pops	14	38	19	29	5
# Groups	8	7	8	9	3
F _{ST}	0.41068	0.28973	0.24488	0.24539	0.59828
F _{CT}	0.39978	0.21767	0.20801	0.22034	0.52601
F _{SC}	0.01816	0.09210	0.04655	0.03213	0.15247

Table 2. Groups of populations defined for conservation and restoration purposes (see table S1 for codes on conservation and restoration programs).

Group	<i>P. halepensis</i>	<i>P. pinaster</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>P uncinata</i>
G1	Ph06_Z	Pp19_GR	Pn12_J2	Ps17_GR1; Ps17_GR2	PuB_SO
G2	Ph07_M; Ph09_TE Ph09_V; Ph10_AB	PpE_CR	Pn07_CU1	Ps03_NA; Ps04_HU1 Ps05_HU2; Ps06_LPs07_B	PuC_TE
G3	Ph14_MU; Ph15_J2 Ph17_MA1	Pp11_GU	Pn04_GI	Ps10_M4; Ps10_SG1Ps10_SG2	PuA_HU2
G4	Ph18_PM	Pp09_SO2	Pn10_SO	Ps11_AV2	Pu01_Hu1; Pu01_L
G5	Ph01_GI	Pp15_CS3	Pn13_GR4	Ps10_AV1; Ps10_M1Ps10_M2; Ps10_M3	-
G6	Ph14_AL; Ph14_J1	PpA_CS1	Pn06_CS	Ps09_GU1; Ps09_GU2	-
G7	Ph03_B	Pp05_CC	Pn07_CU2; Pn09_M	Ps19_SG3; Ps19_SG4	-
G8	Ph17_MA2	Pp18_MU	Pn01_HU1; Pn02_HU2 ; Pn03_L; Pn05_B; Pn05_T	Ps01_BU1; Ps02_BU2 Ps08_LO; Ps08_SO	-
G9	-	Pp06_M2; Pp07_M4	Pn08_GR1; Pn08_J1Pn13_GR2; Pn13_GR3	Ps01_LE	-
G10	-	Pp19_MA3; Pp20_MA1	Pn11_SG	Ps12_TE1; Ps14_TE3	-

Group	<i>P. halepensis</i>	<i>P. pinaster</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>P uncinata</i>
G11	-	Pp03_MA2	Pn09_AV	Ps13_TE2; Ps15_T1; Ps16_T2	-
G12		Pp03_BU; Pp06_AV; Pp06_M1; Pp06_M3; Pp07_M5; Pp08_SG Pp08_SO1; Pp08_VA	-	-	-
G13	-	Pp02_LE	-	-	-
G14	-	Pp04_SA	-	-	-
G15	-	Pp10_Z; Pp12_CU1; Pp12_CU2; Pp13_CU3; Pp13_TE; Pp14_CS2; Pp16_V1	-	-	-
G16	-	PpD_V2	-	-	-
G17	-	Pp1a_C; Pp1b_PO	-	-	-
G18	-	Pp17_J1; Pp17_J2 Pp17_J4	-	-	-
G19	-	PpB_T	-	-	-
G20	-	PpC_G1	-	-	-

Table 3. Classification summary. For each group we included: number of populations /number of populations well assigned / number of populations incorrectly assigned. For the species incorrectly assigned we included the code of the populations assigned to other group (*), and the code of the populations that do not were assigned to any other group (see table S1 for the values for each population).

Group	<i>P. halepensis</i>	<i>P. pinaster</i>	<i>P. nigra</i>	<i>P. sylvestris</i>	<i>P. uncinata</i>
G1	1/1/0	1/1/0	1/1/0	2/1/1 Ps17_GR2	1/1/0
G2	4/1/3 Ph09_TE; Ph09_V*Ph10_AB*	1/1/0	1/1/0	5/5/0	1/1/0
G3	3/2/1 Ph15_J2*	1/1/0	1/1/0	3/3/0	1/1/0
G4	1/1/0	1/1/0	1/1/0	1/1/0	2/2/0
G5	1/1/0	1/1/0	1/1/0	4/4/0	-
G6	2/1/1 Ph14_AL	1/1/0	1/1/0	2/2/0	-
G7	1/1/0	1/1/0	2/2/0	2/2/0	-
G8	1/1/0	1/1/0	5/5/0	4/4/0	-
G9	-	2/2/0	4/3/1 Pn08_J1	1/1/0	-
G10	-	2/2/0	1/1/0	2/2/0	-
G11	-	1/1/0	1/1/0	3/3/0	-
G12	-	8/4/4 Pp06_AV; Pp06_M1; Pp08_SG; Pp08_VA*	-	-	-
G13	-	1/1/0	-	-	-

G14	-	1/1/0	-	-	-
G15	-	7/6/1	-	-	-
		Pp13_TE			
G16	-	1/1/0	-	-	-
G17	-	2/2/0	-	-	-
G18	-	3/3/0	-	-	-
G19	-	1/1/0	-	-	-
G20	-	1/1/0	-	-	-
Total	14/9/5	38/33/5	19/18/1	29/28/1	5/5/0
%	64.3	86.8	94.7	96.6	100.0

Table 4. Identification of populations based on S_{λ} , and the probability. In **bold**, the values for the highest probability of assignment.

	PpPL_M6	PpPL_M7	PsPL_M5	PuPL_HU	PuPL_LE
G1	0.185(0.001)	0.187(0)	0.12(0.001)	0.257(0)	0.242(0.002)
G2	0.19(0.002)	0.225(0)	0.051(0.145)	0.312(0)	0.338(0)
G3	0.113(0.037)	0.112(0.04)	0.069(0.019)	0.206(0)	0.191(0.001)
G4	0.185(0)	0.193(0.001)	0.113(0.001)	0.025(0.893)	0.067(0.509)
G5	0.194(0.002)	0.202(0.001)	0.059(0.035)		
G6	0.225(0.001)	0.233(0.001)	0.085(0.008)		
G7	0.243(0)	0.251(0)	0.094(0.002)		
G8	0.177(0)	0.184(0)	0.072(0.013)		
G9	0.142(0.002)	0.149(0)	0.106(0.001)		
G10	0.12(0.002)	0.131(0)	0.082(0.005)		
G11	0.169(0.001)	0.198(0)	0.075(0.01)		
G12	0.08(0.077)	0.08(0.06)			
G13	0.117(0.018)	0.093(0.062)			
G14	0.273(0)	0.281(0)			
G15	0.103(0.006)	0.121(0.002)			
G16	0.195(0)	0.211(0.001)			
G17	0.117(0.025)	0.128(0.017)			
G18	0.123(0.006)	0.139(0.002)			
G19	0.143(0.007)	0.17(0.002)			
G20	0.340 (0)	0.348 (0)			

SUPPLEMENTARY INFORMATION

Table S1. Description of populations analysed, and classification of each population.

CODE	POPULATION	PR(1)	#RP(2)	X-UTM	Y-UTM	UC(3)	From Group	To Group
Ph01_GI	Cabanelles	GI	1	977842	4692272	0	PhG5	PhG1: 0.038 (0.269); PhG3: 0.041 (0.173); PhG5: 0 (1.0)
Ph03_B	Sant Salvador de Guardiola	B	3	896443	4623937	0	PhG7	PhG7: 0 (1.0)
Ph06_Z	Zuera	Z	6	672682	4642703	0	PhG1	PhG1: 0 (1.0); PhG3: 0.033 (0.269); PhG5: 0.038 (0.295)
Ph07_M	Colmenar de Oreja	M	7	528180	4437753	1	PhG2	PhG2: 0.017 (0.537)
Ph09_TE	Cucalón	TE	9	704470	4406975	0	PhG2	
Ph09_V	Tuéjar	V	9	657604	4409508	0	PhG2	PhG1: 0.042 (0.265); PhG3: 0.057 (0.083); PhG5: 0.069 (0.066)
Ph10_AB	Villa de Ves	AB	10	651357	4338164	0	PhG2	PhG4: 0.063 (0.079)
Ph14_AL	Vélez Blanco	AL	14	617405	4182949	0	PhG6	
Ph14_J1	Santiago de la Espada	J	14	546684	4231077	0	PhG6	PhG6: 0.056 (0.06)
Ph14_MU	Ricote	MU	14	675270	4222860	0	PhG3	PhG3: 0.023 (0.42); PhG5: 0.073 (0.071)
Ph15_J2	Quesada	J	15	499632	4178877	0	PhG3	PhG1: 0.049 (0.178); PhG3: 0.048 (0.14)
Ph17_MA1	Carratraca	MA	17	336424	4078883	1	PhG3	PhG1: 0.066 (0.114); PhG3: 0.028 (0.318)
Ph17_MA2	Frigiliana	MA	17	417793	4074997	1	PhG8	PhG7: 0.017 (0.166); PhG8: 0 (1.0)
Ph18_PM	Ses Salines	PM	18	1021780	4366198	0	PhG4	PhG4: 0 (1.0)
Pp02_LE	Tabuyo del Monte	LE	2	234275	4688604	1	PpG13	PpG12: 0.053 (0.274); PpG13: 0 (1)
Pp03_BU	Oña	BU	3	457488	4733392	0	PpG12	PpG12: 0.05 (0.407); PpG15: 0.062 (0.108)
Pp04_SA	El Sahugo	SA	4	198337	4475056	2	PpG14	PpG14: 0 (1)
Pp05_CC	Talayuelas	CC	5	281908	4432657	0	PpG7	PpG7: 0 (1)
Pp06_AV	Arenas de San Pedro	AV	6	319498	4450924	0	PpG12	
Pp06_M1	Cenicientos	M	6	372484	4460423	0	PpG12	

CODE	POPULATION	PR(1)	#RP(2)	X-UTM	Y-UTM	UC(3)	From Group	To Group
Pp06_M2	Pelayos de la Presa	M	6	385319	4465706	0	PpG9	PpG9: 0.03 (0.88)
Pp06_M3	Cadalso de los Vidrios	M	6	375378	4464014	0	PpG12	PpG12: 0.051 (0.267)
Pp07_M4	Navalagamella	M	7	405328	4480230	0	PpG9	PpG9: 0.05 (0.617)
Pp07_M5	Valdequemada	M	7	389894	4487844	0	PpG12	PpG12: 0.083 (0.24)
Pp08_SG	Coca	SG	8	374026	4565582	0	PpG12	
Pp08_SO1	Quintana Redonda	SO	8	533428	4605402	0	PpG12	PpG12: 0.058 (0.664); PpG15: 0.084 (0.095)
Pp08_VA	Íscar	VA	8	372830	4577110	0	PpG12	PpG10: 0.101234 (0.092); PpG12: 0.077 (0.418); PpG15: 0.066 (0.674)
Pp09_SO2	San Leonardo de Yagüe	SO	9	492850	4632559	0	PpG4	PpG4: 0 (1)
Pp10_Z	Codos	Z	10	632322	4572574	0	PpG15	PpG12: 0.078 (0.148); PpG15: 0.06 (0.593)
Pp11_GU	Torremocha de Jadraque	GU	11	532207	4546307	0	PpG3	PpG3: 0 (1); PpG10: 0.105 (0.058); PpG12: 0.076 (0.416); PpG15: 0.103 (0.051)
Pp12_CU1	Almodóvar del Pinar	CU	12	595912	4392791	0	PpG15	PpG15: 0.046 (0.463)
Pp12_CU2	Boniches	CU	12	615191	4427410	0	PpG15	PpG15: 0.045 (0.287)
Pp13_CU3	Poyatos	CU	12	579502	4480301	0	PpG15	PpG15: 0.054 (0.445)
Pp13_TE	Gea de Albarracín	TE	13	635579	4471760	0	PpG15	
Pp14_CS2	Sant Joan de Penyagolosa	CS	14	725056	4458525	0	PpG15	PpG10: 0.084 (0.109); PpG15: 0.057 (0.67)
Pp15_CS3	Villamalur	CS	15	720058	4427035	0	PpG5	PpG5: 0 (1)
Pp16_V1	Cortes de Pallás	V	16	677534	4338837	0	PpG15	PpG15: 0.053 (0.372)
Pp17_J1	Cazorla	J	17	507056	4196795	0	PpG18	PpG18: 0.049 (0.186)
Pp17_J2	Siles	J	17	536417	4246793	0	PpG18	PpG18: 0.078 (0.053)
Pp17_J4	Orcera	J	17	532934	4243094	0	PpG18	PpG18: 0.059 (0.649)
Pp18_MU	Moratalla	MU	18	592765	4207012	0	PpG8	PpG8: 0 (1)
Pp19_GR	La Peza	GR	19	467245	4125388	0	PpG1	PpG1: 0 (1)
Pp19_MA3	Cómpeta	MA	19	420441	4080027	0	PpG10	PpG10: 0.025 (0.972)
Pp1a_C	Carballo	C	1a	36367	4796209	1	PpG17	PpG17: 0.043 (0.295)
Pp1b_PO	San Cibrao de Ribarteme	PO	1b	56468	4676944	1	PpG17	PpG17: 0.111 (0.05)

CODE	POPULATION	PR(1)	#RP(2)	X-UTM	Y-UTM	UC(3)	From Group	To Group
Pp20_MA1	Estepona	MA	20	310191	4043566	0	PpG10	PpG10: 0.036 (0.858)
PpA__CS1	Benicasim	CS	_A	756885	4441557	1	PpG6	PpG6: 0 (1)
PpB__T	Pradell de la Teixeta	T	_B	827217	4564675	1	PpG19	PpG19: 0 (1)
PpC__G1	La Bisbal d'Empordá	GI	_C	1001889	4658066	1	PpG20	PpG20: 0 (1)
PpD__V2	Quatretonda	V	_D	728939	4317767	1	PpG16	PpG16: 0 (1)
PpE__CR	Fuencaliente	CR	_E	395407	4252951	1	PpG2	PpG2: 0 (1)
PpG__MA2	Gaucín	MA	_G	294193	4045938	1	PpG11	PpG11: 0 (1)
Pn01_HU1	Bailo	HU	1	808157	4712195	0	PnG8	PnG8: 0.034 (0.946)
Pn011_GR1	Huéscar	GR	8	543901	4206003	0	PnG9	PnG9: 0.046 (0.364)
Pn011_J1	Cazorla	J	8	507325	4196642	0	PnG9	
Pn02_HU2	Puértolas	HU	2	757544	4713486	0	PnG8	PnG8: 0.056 (0.36)
Pn03_L	Lladurs	L	3	872736	4664514	0	PnG8	PnG8: 0.035 (0.927)
Pn04_GI	Cabanelles	GI	4	973643	4696081	0	PnG3	PnG3: 0 (1.0)
Pn05_B	Calders	B	5	911735	4634374	0	PnG8	PnG8: 0.0311 (0.705)
Pn05_T	Arbolí	T	5	831005	4573285	0	PnG8	PnG8: 0.054 (0.047)
Pn06_CS	Vistabella del Maestrazgo	CS	6	724084	4458095	0	PnG6	PnG6: 0 (1.0)
Pn07_CU1	Cuenca	CU	7	588188	4430194	0	PnG2	PnG2: 0 (1.0)
Pn07_CU2	Cuenca	CU	7	585572	4409813	0	PnG7	PnG7: 0.032 (0.799)
Pn09_AV	Casavieja	AV	9	349496	4465547	1	PnG11	PnG11: 0 (1.0)
Pn09_M	Guadarrama	M	9	402630	4502511	1	PnG7	PnG7: 0.027 (0.1193)
Pn10_SO	San Leonardo de Yagüe	SO	10	492265	4625134	1	PnG4	PnG4: 0 (1.0)
Pn11_SG	Cuéllar	SG	11	391712	4579126	1	PnG10	PnG8: 0.049 (0.171); PnG9: 0.059 (0.069); PnG10: 0 (1.0)
Pn12_J2	Huelma	J	12	461806	4174536	1	PnG1	PnG1: 0 (1.0)
Pn13_GR2	Huétor-Santillan	GR	13	462815	4126790	1	PnG9	PnG9: 0.0411 (0.175)
Pn13_GR3	Monachil	GR	13	459427	4105323	1	PnG9	PnG8: 0.05 (0.163); PnG9: 0.04 (0.555)
Pn13_GR4	Baza	GR	13	514755	4137479	1	PnG5	PnG5: 0 (1.0)
Ps01_BU1	Medina de Pomar	BU	2	475539	4759093	1	PsG8	PsG8: 0.03 (0.87)

CODE	POPULATION	PR(1)	#RP(2)	X-UTM	Y-UTM	UC(3)	From Group	To Group
Ps01_LE	Puebla de Lillo	LE	1	316793	4770761	1	PsG9	PsG9: 0 (1)
Ps02_BU2	San Zadornil	BU	2	485016	4742408	0	PsG8	PsG8: 0.042 (0.354)
Ps03_NA	Esteribar	NA	3	618836	4749166	0	PsG2	PsG2: 0.048 (0.299)
Ps04_HU1	Bierge	HU	4	739439	4676138	0	PsG2	PsG2: 0.046 (0.404)
Ps05_HU2	Borau	HU	5	697948	4730418	0	PsG2	PsG2: 0.048 (0.379); PsG3: 0.066 (0.055); PsG6: 0.069 (0.057); PsG7: 0.066 (0.066); PsG8: 0.054 (0.209)
Ps06_L	Llavorsí	L	6	845680	4713525	0	PsG2	PsG2: 0.043 (0.442)
Ps07_B	La Pobla de Lillet	B	7	909890	4687724	0	PsG2	PsG1: 0.172 (0.06); PsG2: 0.088 (0.865); PsG3: 0.127 (0.171); PsG4: 0.177 (0.054); PsG5: 0.118 (0.267); PsG6: 0.151 (0.072); PsG7: 0.144 (0.095); PsG8: 0.139 (0.096); PsG10: 0.141 (0.122)
Ps08_LO	Iregua	LO	8	521650	4652017	0	PsG8	PsG3: 0.06 (0.061); PsG8: 0.037 (0.758)
Ps08_SO	Covaleda	SO	8	515196	4644323	0	PsG8	PsG8: 0.037 (0.533)
Ps09_GU1	Campisabalos	GU	9	483234	4562908	0	PsG6	PsG6: 0.024 (0.926); PsG7: 0.058 (0.06); PsG8: 0.051 (0.088)
Ps09_GU2	Galve de Sorbe	GU	9	490225	4566597	0	PsG6	PsG6: 0.024 (0.923)
Ps10_AV1	Peguerinos	AV	10	398545	4500597	0	PsG5	PsG5: 0.042 (0.326)
Ps10_M1	Cercedilla	M	10	410182	4513719	0	PsG5	PsG2: 0.05 (0.306); PsG3: 0.062 (0.073); PsG5: 0.033 (0.966)
Ps10_M2	Navacerrada	M	10	414127	4512992	0	PsG5	PsG5: 0.043 (0.948)
Ps10_M3	Rascafría	M	10	425145	4524412	0	PsG5	PsG2: 0.057 (0.13); PsG3: 0.062 (0.088); PsG5: 0.029 (0.991)
Ps10_M4	Braojos	M	10	422942	4542941	0	PsG3	PsG2: 0.088 (0.191); PsG3: 0.067 (0.652); PsG5: 0.097 (0.081); PsG8: 0.103 (0.07); PsG10: 0.109 (0.067)
Ps10_SG1	Valsain	SG	10	414256	4518981	0	PsG3	PsG3: 0.024 (0.979)
Ps10_SG2	Navafría	SG	10	429915	4539091	0	PsG3	PsG3: 0.025 (0.971); PsG5: 0.05 (0.101); PsG6: 0.054 (0.085); PsG7: 0.042 (0.298); PsG8: 0.042 (0.367); PsG11: 0.054 (0.061)

CODE	POPULATION	PR(1)	#RP(2)	X-UTM	Y-UTM	UC(3)	From Group	To Group
Ps11_AV2	Navarredonda de AV Gredos	de AV	11	320233	4468832	1	PsG4	PsG4: 0 (1)
Ps12_TE1	Orihuela del Tremedal	del TE	12	615781	4486079	0	PsG10	PsG10: 0.026 (0.945)
Ps13_TE2	Camarena de la Sierra	de la TE	13	670400	4444550	0	PsG11	PsG2: 0.071 (0.181); PsG3: 0.069 (0.226); PsG5: 0.076 (0.092); PsG6: 0.083 (0.107); PsG8: 0.075 (0.132); PsG10: 0.07 (0.238); PsG11: 0.04 (0.961)
Ps14_TE3	Gúdar	TE	14	696560	4476659	0	PsG10	PsG3: 0.066 (0.093); PsG10: 0.035 (0.876)
Ps15_T1	La Sénia	T	15	757506	4515560	0	PsG11	PsG2: 0.093 (0.06); PsG3: 0.092 (0.082); PsG6: 0.091 (0.124); PsG7: 0.093 (0.114); PsG8: 0.085 (0.144); PsG11: 0.049 (0.901)
Ps16_T2	Vimbodí	T	16	835606	4584671	0	PsG11	PsG2: 0.067 (0.057); PsG6: 0.066 (0.09); PsG11: 0.028 (0.988)
Ps17_GR1	Monachil	GR	17	458304	4104458	1	PsG1	PsG1: 0.044 (0.104)
Ps17_GR2	Baza	GR	17	513283	4135628	1	PsG1	
Ps19_SG3	Coca	SG	19	374222	4562124	1	PsG7	PsG6: 0.051 (0.113); PsG7: 0.032 (0.687)
Ps19_SG4	Cuéllar	SG	19	398084	4569154	1	PsG7	PsG7: 0.032 (0.693)
Pu01__L	Llavorsí	L	1	843252	4713482	0	PuG4	PuG4: 0.025 (0.902)
Pu01_HU1	Panticosa	HU	1	725194	4733926	0	PuG4	PuG4: 0.041 (0.697)
PuA_HU2	Guara	HU	_A	733471	4689833	1	PuG3	PuG3: 0 (1)
PuB__SO	Vinuesa	SO	_B	520705	4649888	1	PuG1	PuG1: 0 (1)
PuC__TE	Gúdar	TE	_C	693216	4471731	1	PuG2	PuG2: 0 (1)

1: Province: Code of the Province; 2: # Region of Provenance (from Alía et al. 2010); (3): UCONS. Code if the population is included as a conservation unit of the species (1).

Table S2. Description of plantations analyzed.

CODE	POPULATION	PROVINCE	PROVENANCE REGION
PpPL_M6	Paredes de Buitrago	M	07
PpPL_M7	Serrada de la Fuente	M	07
PsPL_M5	Lozoya	M	10
PuPL_HU	Jaca	HU	01
PuPL_LE	León	LE	01



DISCUSIÓN GENERAL

5. DISCUSIÓN GENERAL

5.1. Discusión

Los capítulos de la presente Tesis Doctoral están realizados sobre dos tipos de aproximaciones. Los capítulos 1 y 2, se realizan a una escala local en tres poblaciones del sureste de la Península Ibérica (Yeste, Liétor y Calasparra) dónde se toma como modelo a *P. halepensis* para estudiar tanto masas naturales como artificiales desde el punto de vista de la diversidad de vegetación y la producción de biomasa. El estudio se localiza dentro de una misma región de procedencia (RP-14: Bética Septentrional). Asimismo en los capítulos 3 y 4 se aborda una perspectiva más general atendiendo a varias especies del género *Pinus* para analizar el origen de la población en la producción de biomasa, cuando se ensayan una serie de poblaciones naturales bajo unas mismas condiciones de ensayo o calidad de estación (ensayo de procedencias), así como analizar la relación entre producción de biomasa y diversidad genética de las poblaciones. Por último, se analiza la posibilidad de identificar el origen de los materiales de reproducción dada su importancia en la diversidad de los pinares.

Las repoblaciones de *P. halepensis* se han comparado con el matorral cercano de las zonas de estudio, en términos de estructura y diversidad de vegetación (Chirino et al., 2006; Maestre and Cortina, 2004) y producción de biomasa (Grunzweig et al., 2003). En el presente trabajo se pretende comparar a dichas repoblaciones con masas naturales de pino carrasco adyacentes, en términos de biodiversidad y producción de biomasa. En los capítulos 1 y 2, las masas seleccionadas presentan estructuras muy distintas en función del origen. Las masas naturales tienen árboles con mayores áreas basimétricas y presentan menores densidades que las repoblaciones. Cabe resaltar que las edades son diferentes, mayores en el caso de las masas naturales, considerándose la edad representativa de la masa la edad de los árboles del estrato dominante. En el caso de las repoblaciones la edad de los árboles es la misma, mientras que en las repoblaciones hay una gran heterogeneidad. Las densidades de las repoblaciones muestreadas, en los capítulos 1 y 2, son superiores a los 700 pies/ha, siendo estos datos muy comunes a nivel nacional para la especie considerada (Maestre and Cortina, 2004). Estas densidades elevadas son normales en repoblaciones antiguas, de mediados del siglo XX (Montero, 1997), que han sufrido muy pocas intervenciones posteriores debido a los bajos precios

de la madera y la escasa financiación pública (Madrigal, 1998). Sin embargo las masas naturales, son más viejas y han estado sometidas a distintos usos como la madera, pastos y esparto (Cortina et al., 2009) entre otros, confiriendo así una estructura más heterogénea y abierta (Pausas and Austin, 2001), con menores densidades de especie principal. Los resultados obtenidos en cuanto a diversidad de vegetación en el sotobosque resaltan las enormes diferencias entre las masas naturales y las repoblaciones. En todas las zonas de estudio, las repoblaciones han presentado mayor número de especies y uniformidad en la distribución de coberturas de las mismas (Shannon) que las masas naturales, sobretudo en cuanto a vegetación leñosa se refiere (Ruiz-Benito et al., 2012). Estas diferencias han tenido mayor peso en lo que refiere al origen de las masas, dejando en un segundo lugar la diferenciación climática (precipitación) de las mismas. Las masas naturales de las zonas con mayor precipitación, o mejores calidades de estación, presentan vegetación más evolucionada en cuanto a formas de vida se refiere así como mayor producción de biomasa. En cuanto a las repoblaciones las coberturas del sotobosque de herbáceas suelen ser mayores pero quedan relegadas a muy pocas especies por lo que disminuye su diversidad (Maestre and Cortina, 2004). Así mismo, constatada la variabilidad intraprocedencia respecto a la producción de biomasa para las masas estudiadas, se justifica la necesidad de desarrollar modelos específicos por zona y tipo de masa (Correia et al., 2010). Se ha intentado validar con los datos de campo modelos generales para *P. halepensis*, sin ningún tipo de ajuste para los modelos de (Montero et al., 2001) y únicamente la pendiente para las ecuaciones de (Ruiz-Peinado et al., 2011). La respuesta a la hora de comparar las producciones entre masas naturales y repoblaciones no es tan trivial, los stocks son mayores en las masas naturales pero las producciones medias de las repoblaciones los superan. Por ello se hace necesario integrar datos de otros aspectos como diversidad de vegetación y cuantificación de la biomasa de matorral en futuras estrategias de gestión forestal. En este capítulo también se pone de manifiesto la distinta alocaón de biomasa en función del sitio.

En el capítulo 3, se pone de manifiesto la importancia del origen del material forestal a la hora de determinar la producción de biomasa de una masa. Para *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris* se observan diferencias significativas en función de la procedencia, como se había observado para otros caracteres de crecimiento en esas especies (Alía et al., 1995; Alía et al., 2001; Santos-del-Blanco et al., 2013) así como para otras especies del mismo género (Chuine et al., 2001). En este caso se utilizan las ecuaciones de (Ruiz-Peinado et al., 2011) que presentan mejores resultados para la validación del capítulo 2, ya que no existen ecuaciones específicas para regiones de procedencia en la bibliografía. Este hecho no permite ver la diferenciación de alocaón por procedencia, cómo se ha observado en otros estudios (Climent et al., 2011; Chambel et al., 2007) pero si una cierta tendencia en la asignación de cara a prosperar en un futuro adecuar la elección de la procedencia en función de los objetivos de la restauración o

forestación. Se ha comprobado que no existe relación entre la variabilidad fenotípica presentada por los ensayos de procedencia y la variabilidad genética evaluada mediante marcadores moleculares (Gonzalez-Martinez et al., 2004).

Finalmente se ha ampliado la muestra de poblaciones y especies del capítulo 3, incluyendo *P. nigra* y *P. uncinata*, y mediante el empleo de los mismos marcadores moleculares que en el mencionado capítulo (microsatélites de cloroplasto) se ha tratado de identificar el origen del material dada su importancia en lo que a producción de biomasa, diversidad y estructura de vegetación se refiere. Las especies utilizadas presentaban altos niveles de diversidad intrapoblacionales y de bajos medios interpoblacionales (Soto et al., 2010). El método permite una correcta asignación del origen para las poblaciones de *P. sylvestris* y *P. uncinata*, así como en el mayor número de poblaciones de *P. pinaster* y *P. nigra* (mayor al 85%). En el caso de *P. halepensis* los resultados no son tan buenos, pudiéndose redefinir algunas de sus regiones de procedencia (Gil et al., 1996). Esta metodología es muy interesante ya que lo exige tanto la normativa europea como española (BOE, 2003) y estudios anteriores no habían realizado esta aproximación (Degen et al., 2010; Ribeiro et al., 2002; Robledo-Arnuncio et al., 2009). El método funciona en una serie de repoblaciones de origen conocido. Así mismo el método permite distinguir las distintas poblaciones de conservación in-situ definidas por el programa EUFORGEN (Koskela et al., 2013), de cara a una mejor implementación de la Estrategia Española de Conservación de los Recursos Genéticos Forestales

5.2. Bibliografía

- Alía R, et al. Regiones de procedencia de especies forestales en España. (2009) Madrid: OA Parques Nacionales.
- Alía R, Gil L, Pardos JA. Performance of 43 *Pinus pinaster* Ait. provenances on 5 locations in Central Spain. *Silvae Genetica* (1995) 44:75-81.
- Alia R, Gomez A, Agundez MD, Bueno MA, Notivol E. Levels of genetic differentiation in *Pinus halepensis* Mill. in Spain using quantitative traits, isozymes, RAPDs and cp-microsatellites. (2001) Dordrecht: Springer.
- BOE. Real Decreto 289/2003, de 7 de marzo, del Ministerio de la Presidencia sobre comercialización de los materiales forestales de reproducción.
- Climent J, Regina Chambel M, Pardos M, Lario F, Villar-Salvador P. Biomass allocation and foliage heteroblasty in hard pine species respond differentially to reduction in rooting volume. *European Journal of Forest Research* (2011) 130:841-850.
- Correia AC, et al. Biomass allometry and carbon factors for a Mediterranean pine (*Pinus pinea* L.) in Portugal. *Forest Systems* (2010) 19:418-433.
- Cortina J, Maestre FT, Ramírez D. Innovations in Semiarid Land Restoration. The case of *Stipa tenacissima* L. steppes. In: *Land Restoration to Combat Desertification. Innovative Approaches, Quality Control and Project Evaluation*--Bautista S, Aronson R, J., Vallejo R, eds. (2009): Fundación CEAM, Valencia. 121-144.
- Chambel MR, Climent J, Alia R. Divergence among species and populations of Mediterranean pines in biomass allocation of seedlings grown under two watering regimes. *Annals of Forest Science* (2007) 64:87-97.
- Chirino E, Bonet A, Bellot J, Sanchez JR. Effects of 30-year-old Aleppo pine plantations on runoff, soil erosion, and plant diversity in a semi-arid landscape in south eastern Spain. *Catena* (2006) 65:19-29.
- Chuine I, Aitken SN, Ying CC. Temperature thresholds of shoot elongation in provenances of *Pinus contorta*. *Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere* (2001) 31:1444-1455.

- Degen B, Holtken A, Rogge M. Use of DNA-Fingerprints to Control the Origin of Forest Reproductive Material. *Silvae genetica* (2010) 59:268-273.
- Gil L, et al. Las Regiones de Procedencia de *Pinus halepensis* Mill. En España. (1996): OA Parques Nacionales, Madrid.
- Gonzalez-Martinez SC, et al. Genetic resources in maritime pine (*Pinus pinaster* Aiton): molecular and quantitative measures of genetic variation and differentiation among maternal lineages. *Forest Ecology and Management* (2004) 197:103-115.
- Grunzweig JM, Lin T, Rotenberg E, Schwartz A, Yakir D. Carbon sequestration in arid-land forest. *Global Change Biology* (2003) 9:791-799.
- Koskela J, et al. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biological Conservation* (2013) 157:39-49.
- Madrigal A. Problemática de la ordenación de masas artificiales en España. Cuaderno de las Sociedad Española de Ciencias Forestales (1998) 6:13-20.
- Maestre FT, Cortina J. Are *Pinus halepensis* plantations useful as a restoration tool in semiarid Mediterranean areas? *Forest Ecology and Management* (2004) 198:303-317.
- Montero G. Breve descripción del proceso repoblador en España (1940-1995). *Legno Celulosa Carta* (1997) 4:35-42.
- Montero G, Ruiz-Peinado R, Cañellas I. Growth and yield models for *Pinus halepensis* Mill. *Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales* (2001) 10:179-201.
- Pausas JG, Austin MP. Patterns of plant species richness in relation to different environments: An appraisal. *Journal of Vegetation Science* (2001) 12:153-166.
- Ribeiro MM, et al. Origin identification of maritime pine stands in France using chloroplast simple-sequence repeats. *Annals of forest science* (2002) 59:53-62.
- Robledo-Arnuncio J, Navascués M, González-Martínez S, Gil L. Estimating gametic introgression rates in a risk assessment context: a case study with Scots pine relicts. *Heredity* (2009) 103:385-393.
- Ruiz-Benito P, Gomez-Aparicio L, Zavala MA. Large-scale assessment of regeneration and diversity in Mediterranean planted pine forests along ecological gradients. *Divers. Distrib.* (2012) 18:1092-1106.

Ruiz-Peinado R, del Rio M, Montero G. New models for estimating the carbon sink capacity of Spanish softwood species. *Forest Systems* (2011) 20:176-188.

Santos-del-Blanco L, Bonser SP, Valladares F, Chambel MR, Climent J. Plasticity in reproduction and growth among 52 range-wide populations of a Mediterranean conifer: adaptive responses to environmental stress. *Journal of Evolutionary Biology* (2013) 26:1912-1924.

Soto A, Robledo-Arnuncio JJ, Gonzalez-Martinez SC, Smouse PE, Alia R. Climatic niche and neutral genetic diversity of the six Iberian pine species: a retrospective and prospective view. *Molecular Ecology* (2010) 19:1396-1409.



CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

De la presente Tesis Doctoral, se han obtenido las siguientes conclusiones:

1. Existen diferencias significativas en la diversidad de vegetación, composición específica y estructura de vegetación entre de las masas naturales y repobladas de *P. halepensis* muestreadas en el sureste de la Península Ibérica. Las características de las masas naturales con unas densidad menores y mayor desarrollo son deseables para aspectos relacionados como biodiversidad, así como reducción riesgo de incendios y almacenamiento de biomasa. Las plantaciones necesitan urgente intervención para poder adquirir el *status* de masas naturales de pino carrasco cercanas en cuando a biodiversidad se refiere, habiendo comprobado la ineficiencia en este aspecto de antiguas reforestaciones en la zona de estudio.

2. Las masas naturales y repoblaciones de *P. halepensis* muestreadas en el sureste de la Península Ibérica presentan diferencias significativas en cuanto a las relaciones alométricas de producción de biomasa. Las producciones medias (kg/ha y año) y los stocks de biomasa (kg/ha) presentan amplias diferencias, siendo las principales causas de las mismas las diferentes calidades de estación y características de las masas en función de su origen (natural o plantación). Se presentan las herramientas necesarias para realizar estudios a pequeña escala con el fin de estimar las producciones de biomasa de manera precisa, y poder relacionar con otros datos de producciones como la biomasa de matorral y la biodiversidad.

3. Existe una clara dependencia de la producción de biomasa en función del origen del material utilizado para una amplia muestra de poblaciones naturales de *P. halepensis*, *P. pinaster* y *P. sylvestris*. Así mismo no existe relación entre la diversidad genética y la variación en producción de biomasa para las poblaciones estudiadas.

4. Se demuestra la eficiencia en el uso de amplias bases de datos de marcadores moleculares disponibles, para la identificación de acervos genéticos a nivel de población en especies del género *Pinus*. Los resultados dependen de factores como la diversidad genética y el nivel de diferenciación entre poblaciones. El ratio de éxito en la identificación de especies es muy alto (más del 94%) para *P. nigra*, *P. sylvestris* y *P. unciata*; alto (aprox. 85%) para *P. pinaster*, y bajo (inferior al 80%) en *P. halepensis*. Más información es necesaria en *P. halepensis* y algunas áreas de *P. pinaster*. El método pudo ser contrastado con éxito para una muestra de repoblaciones de origen conocido.

5. Es necesario integrar aspectos como la biodiversidad a diversos niveles y escalas, así como la producción de biomasa en herramientas de gestión y manejo sostenible de las masas forestales en España, de cara a valorar de manera conjunta la multifuncionalidad de nuestros bosques y adaptar las masas a los nuevos requerimientos.