



2022
Lleida

27·1
junio · juny
julio · juliol

Cataluña
Catalunya

8º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

La **Ciencia forestal** y su contribución a los **Objetivos de Desarrollo Sostenible**

8CFE

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales

Cataluña | Catalunya · 27 junio | juny - 1 julio | juliol 2022

ISBN 978-84-941695-6-4

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Organiza



Dendroecología y constitución genética de la repoblación singular de *Abies pinsapo* de Orcajo (Zaragoza)

SANTINI, F.^{1,2}, SHESTAKOVA, T.A.³, DASHEVSKAYA, S.^{1,2}, NOTIVOL, E.⁴ y VOLTAS, J.^{1,2}

¹ Departamento de Producción Vegetal y Ciencia Forestal, Av. Alcalde Rovira Roure 191, Lleida E-25198, España.

² Joint Research Unit CTFC – AGROTECNIO, Av. Alcalde Rovira Roure 191, Lleida E-25198, España.

³ Woodwell Climate Research Center, 149 Woods Hole Road, Falmouth, MA 02540, USA.

⁴ Unidad de Recursos Forestales, CITA & IA2, Av. Montañana 930, 50059 Zaragoza, España.

Resumen

El pinsapo (*Abies pinsapo* Boiss.) es una conífera ibérica cuya conservación ha suscitado un fuerte interés en virtud de su limitada y fragmentada distribución geográfica. En este trabajo se ha evaluado la posible adecuación de una repoblación singular situada en Orcajo (Zaragoza), establecida a inicios del siglo XX, como rodal de conservación *ex situ* de la especie. Con este fin, se ha caracterizado el comportamiento a largo plazo de los individuos que conforman el rodal y se ha analizado la diversidad genética de los pinsapos. Aplicando técnicas dendrocronológicas, se ha utilizado el grosor de anillos y los isótopos de carbono para inferir la dinámica del crecimiento radial y la eficiencia en el uso del agua, respectivamente, de los árboles. Además, se han genotipado un conjunto de pinsapos del rodal utilizando cinco microsatélites, y la variación genética resultante se ha comparado con la variación presente en rodales naturales de la especie. Se concluye que el rodal puede representar una fuente relevante de variación genética a efectos de conservación *ex situ* de la especie considerando su extraordinario crecimiento y fisiología en la zona, aunque la evolución experimentada por los pinsapos durante las últimas décadas demanda una intervención silvícola urgente para aliviar los efectos negativos de competencia y cambio climático.

Palabras clave

Abies pinsapo, discriminación isotópica, unidad de conservación, diversidad genética, microsatélites, anillos de crecimiento.

1. Introducción

Entre los abetos mediterráneos, el pinsapo (*Abies pinsapo* Boiss.) es una especie endémica del sur de la Península, donde prospera entre altitudes comprendidas entre los 900 y 1800 m. Debido a su estatus de especie amenazada, la especie ha sido objeto de prolongados esfuerzos de conservación (Arista et al. 2011). En la actualidad, la mayor parte de su área de distribución natural se incluye en una red de áreas protegidas, y sus masas más emblemáticas han sido declaradas Reservas de la Biosfera por la UNESCO. El pinsapo se considera una conífera sensible a la sequía, si bien presenta una mayor eficiencia hidráulica que el abeto común (*Abies alba* Mill.) (Linares et al., 2012; Peguero-Pina et al., 2012). Su presencia en áreas expuestas a la sequía estival es especialmente remarcable, lo que se explica gracias a su elevada plasticidad morfofisiológica. Si bien los esfuerzos de conservación se han concentrado en la conservación *in situ* de sus poblaciones naturales, los episodios recientes de decaimiento y afectación por incendios (Linares et al., 2009b; Arista et al., 2011) apuntan a la necesidad de conjugar dichas iniciativas con actividades de conservación *ex situ*. Es en este contexto que la existencia de rodales de reforestación de antigua instalación, fuera del rango natural de distribución de la especie, puede proporcionar nuevas ventanas de oportunidad para los programas de conservación de recursos genéticos (Koskela et al., 2013; Schueler et al., 2014; Santini et al., 2018; Mataruga et al., 2020), complementando así otras estrategias *ex situ* tales como bancos de semilla o *arboreta* (Ledig, 1986). Un ejemplo remarcable de dichos rodales lo constituye el conocido como ‘Pinsapar de Orcajo’, cuyo establecimiento se remonta

a inicios del siglo XX. El comportamiento excepcional y extraordinaria regeneración natural del pinsapar han conducido a la declaración reciente de Arboleda Singular por parte de la Diputación General de Aragón.

En este trabajo aplicamos una aproximación dendrocronológica con objeto de caracterizar retrospectivamente el comportamiento del pinsapo en relación a las dos especies de pino principales también utilizadas en la repoblación (*Pinus nigra* subsp. *salzmannii* (Dunal) Franco y *Pinus sylvestris* L.), que por otra parte muestran crecimientos consistentemente inferiores a los del pinsapo. Para ello, se infiere la dinámica del crecimiento radial a través del análisis de anillos de crecimiento, mientras que se obtiene información indirecta de la fisiológica de las acículas a través del análisis de isótopos de carbono en la madera (Shestakova y Martínez-Sancho, 2020). En particular, es esperable un descenso de la discriminación isotópica del carbono ($\Delta^{13}\text{C}$) si la sequía consecuencia del calentamiento global está limitando progresivamente el comportamiento fotosintético del árbol. Adicionalmente al estudio de crecimiento y fisiología, también realizamos una cuantificación de la diversidad genética presente en el pinsapar utilizando cinco microsatélites a tal efecto.

2. Objetivos

Los objetivos del presente estudio fueron: a) Caracterizar las diferencias en crecimiento secundario entre especies y sus cambios temporales durante el último siglo; b) Evaluar las relaciones entre adquisición de carbono y uso de agua a través de la eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUAi) durante los últimos 50 años; y c) Cuantificar la diversidad genética del pinsapo en el rodal de repoblación y comparar dicha diversidad con la existente en poblaciones naturales de la especie.

3. Metodología

El pinsapar es un rodal de repoblación naturalizado emplazado en el municipio de Orcajo (provincia de Zaragoza) (Figura 1), y distante unos 500 km al norte de la población natural más próxima de la especie. Se encuentra en una zona de suave pendiente en orientación nordeste y a una altitud aproximada de 1150 m (coordenadas 41°05' N, 1°30' W). El área original de la repoblación comprende una plantación mixta de coníferas, e incluye *A. pinsapo*, *P. nigra* y *P. sylvestris* entremezclados, con menor representación de *P. halepensis* y *P. pinaster*. La temperatura media anual es de +10.1 °C y la precipitación anual supone 556 mm.

El muestreo de campo se realizó en octubre de 2018. Para el análisis dendrocronológico se seleccionaron 20 individuos representativos de cada especie procedentes de la repoblación original en grupos de tres árboles (uno por especie) separados un máximo de 10 m. Los datos de inventario de ocho parcelas circulares (radio = 10 m) próximas a las zonas de muestreo de árboles se muestran en la Tabla 1. Se obtuvieron dos testigos de madera por árbol a 1.30 m de altura utilizando una barrena de Pressler de 5 mm de diámetro. El muestreo comprendió un total de 63 árboles. Los anillos de crecimiento se dataron visualmente y se midieron utilizando imágenes de alta resolución producidas mediante un escáner horizontal acoplado a software WinDendro™ (Regent Instruments, 2012). Se eliminó la tendencia temporal presente en cada serie de anillos aplicando un suavizado del tipo *spline* cúbico con un corte de frecuencia equivalente a 50 años (Cook y Peters, 1981). Posteriormente se aplicó un modelo autoregresivo para eliminar la autocorrelación temporal. Finalmente, se utilizó una media robusta bponderada para obtener cronologías consistentes en índices adimensionales estacionarios de anchura de anillo por especie. Las cronologías alcanzaron valores de EPS (*Expressed Population Signal*; Wigley et al., 1984) superiores a 0.85 en 1935 (*P. sylvestris*), 1938 (*P. nigra*) y 1941 (*A. pinsapo*). El incremento de área basal (IAB) se utilizó para caracterizar las tendencias de crecimiento radial absoluto para el conjunto de árboles datados a nivel de especie.

El análisis de la composición isotópica en anillos se realizó sobre segmentos de los testigos de madera que comprendieron el periodo 1965-2017. A tal efecto, se utilizaron los cinco árboles que mostraron una mejor datación cruzada por especie. Los anillos de un mismo año se combinaron para su posterior análisis isotópico (Leavitt, 2008). Se utilizó una alícuota de aproximadamente 1 mg que se encapsuló en cápsulas de estaño para su análisis mediante espectrometría de masas. Los ratios isotópicos se expresaron en desviaciones por mil utilizando la notación δ relativa al estándar de Vienna Pee Dee Belemnite (VPDB). La precisión de los análisis (desviación típica de los estándares) fue de 0.05‰. Finalmente, se calculó la discriminación isotópica del carbono ($\Delta^{13}\text{C}$) a partir de la composición isotópica del aire y de la muestra de acuerdo a Farquhar et al. (1989).

Las tendencias temporales de $\Delta^{13}\text{C}$ se evaluaron a nivel de especie mediante regresiones simples o, alternativamente, utilizando modelos de regresión segmentada (Robbins et al. 2006). En este último caso, se ajustó un modelo simple consistente en dos líneas rectas y un único punto de quiebra. Este modelo representó el descenso observado en $\Delta^{13}\text{C}$ con el tiempo para valores inferiores al punto de quiebra estimado, seguido por una meseta para valores superiores a este punto o una segunda recta con pendiente creciente.

Para la estimación de la diversidad genética presente en el pinsapo se genotiparon árboles adultos mediante cinco microsatélites desarrollados por Cremer et al. (2006). Con este propósito, se muestrearon acículas de 44 árboles de la especie distanciados al menos 25 m utilizando una podadora telescópica. La extracción de ADN se realizó mediante un kit de ADN E.Z.N.A. (Omega, Biotek, GA, USA). Los productos de PCR se analizaron con un secuenciador ABI 3730XL (Applied Biosystems, CA, USA) y el tamaño de alelos se determinó utilizando el software GeneMarker (SoftGenetics, State College, USA). Los genotipos se integraron a una base de datos que incluía 28 y 29 individuos de pinsapo procedentes de dos de las tres poblaciones originales de la especie (Sierra de Zafalgar y Serranía de Ronda), y que habían sido previamente genotipados por Dering et al. (2014) utilizando los mismos marcadores. El hecho de que tanto la estrategia de muestreo como el conjunto de marcadores utilizados fueran análogos en ambos estudios permitió la comparación directa de la diversidad genética presente en el rodal de repoblación con la propia existente en las poblaciones naturales de pinsapo. A partir de esta información se obtuvieron parámetros genéticos para describir la variabilidad intra-poblacional. Específicamente, se calculó el número medio de alelos por locus (N_a), la heterozigosis basada en Hardy-Weinberg (H_e), la heterozigosis observada (H_o), y el índice de fijación (F_{IS}) utilizando el programa GenAlex (Peakall y Smouse, 2006). Debido a que el tamaño muestral difirió entre poblaciones, se calculó la riqueza alélica con el método de rarefacción en 52 copias génicas (Ar_{52}) utilizando el programa FSTAT (Goudet, 1995). Se realizaron pruebas de t de Student pareadas para evaluar diferencias en parámetros genéticos (N_a , H_e , H_o , F_{IS} y Ar_{52}) entre poblaciones.

4. Resultados

Para el periodo común a las tres especies con $EPS > 0.85$, se observó el IAB más elevado en *A. pinsapo* ($7,97 \pm 0,59 \text{ cm}^2 \text{ año}^{-1}$; media \pm error estándar), seguido de *P. nigra* ($5,05 \pm 0,58 \text{ cm}^2 \text{ año}^{-1}$) y *P. sylvestris* ($3,92 \pm 0,58 \text{ cm}^2 \text{ año}^{-1}$). Igualmente, se evidenció una tendencia general hacia un incremento en crecimiento secundario desde 1960 hasta la década de 1980 (Figura 2), al que siguió un descenso significativo ($p < 0.05$) en las tres especies durante el periodo 1990-2017 (reducción de IAB desde $-0,09 \text{ cm}^2 \text{ año}^{-1}$ [*A. pinsapo*] hasta $-0,04 \text{ cm}^2 \text{ year}^{-1}$ [*P. sylvestris*]). A pesar de esta tendencia negativa, *A. pinsapo* continuó mostrando mayores crecimientos durante el presente siglo ($7,09 \pm 0,52 \text{ cm}^2 \text{ año}^{-1}$ comparado con $4,73 \pm 0,51$ and $2,40 \pm 0,50 \text{ cm}^2 \text{ año}^{-1}$ para *P. nigra* y *P. sylvestris* respectivamente). Globalmente, *A. pinsapo* mostró valores consistentemente más elevados de área basal comparado con *P. nigra* (desde la década de 1940) y *P. sylvestris* (desde la década de 1950) (Figura 2). Las cronologías de anchura de anillo mostraron una alta concordancia entre las especies, con coeficientes de correlación significativos comprendidos entre 0,77 (*A. pinsapo* vs. *P. nigra*) y 0,86 (*P. nigra* vs. *P. sylvestris*).

El valor medio más elevado de $\Delta^{13}\text{C}$ correspondió a *A. pinsapo* ($18,06 \pm 0,10\text{‰}$), seguido de *P. sylvestris* ($17,19 \pm 0,10\text{‰}$) y *P. nigra* ($16,90 \pm 0,10\text{‰}$). El resultado del análisis de regresión indicó que los modelos segmentados se ajustaron mejor a los datos de $\Delta^{13}\text{C}$ que las regresiones simples, y denotaron la presencia de puntos de quiebra (indicando cambios en pendiente) durante el inicio de la década de 1990 para todas las especies (Tabla 2; Figura 3). $\Delta^{13}\text{C}$ disminuyó significativamente desde 1965 hasta los inicios de la década de 1990 (Figura 3), con pendientes comprendidas entre $-0,068 \text{‰ año}^{-1}$ (*A. pinsapo*) y $-0,046 \text{‰ año}^{-1}$ (*P. nigra*). $\Delta^{13}\text{C}$ incrementó posteriormente en el pinsapo (pendiente positiva) o permaneció aproximadamente estable en los dos pinos (Tabla 2; Figura 3).

Las dos poblaciones naturales de pinsapo mostraron niveles comparables de variación genética (Figura 4), y las pruebas *t* de Student indicaron ausencia de diferencias en N_a ($p = 0,75$), A_{r52} ($p = 0,94$), H_e ($p = 0,18$), H_o ($p = 0,68$) y F_{is} ($p = 0,98$). Por el contrario, estos parámetros genéticos mostraron una diversidad reducida en el rodal de repoblación comparado con las poblaciones naturales (Figura 4). En particular, el valor de N_a del rodal artificial fue aproximadamente la mitad del valor de las poblaciones naturales, mientras que el valor de A_{r52} también se redujo de forma similar. Las pruebas *t* pareadas indicaron que N_a y A_{r52} obtuvieron valores significativamente inferiores en Orcajo comparado con las poblaciones naturales de pinsapo ($p < 0,05$). Sin embargo, el pinsapar de Orcajo mostró un índice de fijación comparable al de las poblaciones naturales, como lo demuestra el resultado de las pruebas *t* pareadas, lo que indicó que la reducción de heterocigosidad debida a consanguinidad no resultó ser superior en la plantación.

5. Discusión

En base al examen dendrocronológico, se desprende que el crecimiento observado en el pinsapar de Orcajo se remonta a finales de 1920, lo que apunta a la década de 1910 como el periodo más probable de su establecimiento, tal y como se ha sugerido previamente (Pérez-Soba Díez del Corral, 2010). *A. pinsapo* mostró en Orcajo tasas de crecimiento comparables o ligeramente superiores a las observadas en poblaciones naturales de la especie (Linares et al., 2009c; Linares et al., 2010). Resulta en este sentido interesante constatar que la precipitación anual es considerablemente menos abundante en Orcajo que en el ámbito natural de distribución del pinsapo en el sur de la Península. Los buenos crecimientos constatados por el pinsapo en Orcajo son probablemente debidos a la relativamente homogénea distribución de la precipitación a lo largo del año en la zona lo que, unido a una abundante precipitación horizontal, puede ayudar a mitigar la sequía típica del verano. No obstante, se observó una notable reducción del crecimiento desde los años 90. Esta reducción está de acuerdo con la documentada en décadas recientes en el límite altitudinal inferior de distribución de la especie (Linares et al., 2009b; Linares et al., 2011). Aunque ello sugiere un cierto efecto negativo del aumento de la recurrencia e intensidad de la sequía en años recientes, el mayor crecimiento relativo de *A. pinsapo* comparado con ambas especies de pino se ha mantenido desde la década de 1940 hasta la fecha. Teniendo presente que el crecimiento de los pinos es similar al observado en masas relativamente cercanas (Shestakova et al., 2017), podemos especular con la idea de que el pinsapo puede exhibir un crecimiento excelente fuera de su ámbito geográfico de distribución natural, incluso en áreas de montaña sujetas a sequía estival crónica.

Por otra parte, los resultados de $\Delta^{13}\text{C}$ claramente indican que el efecto combinado del incremento de CO_2 atmosférico unido a una respuesta fisiológica activa a la escasez hídrica se ha traducido en un incremento importante en eficiencia intrínseca en el uso del agua (cuantificable en ca. 25%) durante las últimas cinco décadas, si bien concentrado mayoritariamente en el periodo 1965-1990. Durante este periodo, el descenso consistente en $\Delta^{13}\text{C}$ indica que la regulación estomática inducida por sequía fue el principal factor conducente al incremento en eficiencia en el uso del agua a nivel de hoja en las tres especies (Gessler et al., 2014). Ello sugiere que el incremento del tamaño de los árboles con el transcurso del tiempo en un rodal densamente poblado como Orcajo

ha exacerbado la competencia por el agua, forzando a los árboles a adoptar una estrategia extrema de ahorro de agua. Sin embargo, el ritmo de incremento en eficiencia de uso del agua ha disminuido (*P. nigra*, *P. sylvestris*) o incluso cesado (*A. pinsapo*) desde inicios de los 90, y esta respuesta se ha visto acompañada por una ralentización de crecimiento radial. En ambientes limitados hídricamente, el cambio de respuesta estomática de los árboles de activa a pasiva frente a un incremento sostenido de la concentración de CO₂ – como el observado en *A. pinsapo* – suele interpretarse en términos de alcance de un umbral fisiológico en la capacidad del árbol para incrementar su eficiencia en el uso del agua a través de regulación estomática en respuesta a la falta de agua (Linares y Camarero, 2012; Choury et al., 2017). Esta respuesta pasiva ha sido previamente reconocida como señal de decaimiento en *A. alba* (Linares y Camarero, 2012) o *P. sylvestris* (Hereş et al., 2014) en la Península Ibérica. En su conjunto, nuestros resultados parecen anticipar la inminente vulnerabilidad de *A. pinsapo* si las temperaturas continúan incrementando, aspecto éste que ya se ha manifestado en poblaciones naturales de la especie (Arista et al., 2011; Linares et al., 2011). Ello cuestiona la idoneidad actual del rodal de Orcajo a efectos de conservación de recursos genéticos de *A. pinsapo*.

No obstante, el buen comportamiento general mostrado por *A. pinsapo* en términos de crecimiento, plasticidad fisiológica y regeneración natural podría justificar el interés de la plantación de Orcajo como unidad de conservación *ex situ* (Rotach, 2005). En este sentido, el análisis genético reveló la existencia de una diversidad genética equivalente a aproximadamente la mitad de la diversidad observada en las dos principales poblaciones naturales de la especie (Dering et al., 2014). En cualquier caso, es esperable una diversidad genética inferior en ‘re poblaciones antiguas’ en virtud del número limitado de pies tradicionalmente utilizados como progenitores (o fuente de semilla) en este tipo de actuaciones de reforestación tempranas, y que probablemente no sean representativos de la mayor parte de la diversidad presente en origen (Lefèvre, 2004). Por este motivo, la preservación y uso del rodal a efectos de conservación deberían ir acompañados de esfuerzos específicos para incrementar la representatividad de la diversidad genética de la especie. Debido a que *A. pinsapo* presenta una relativamente baja diferenciación genética interpoblacional (Dering et al., 2014; Cobo-Simón et al., 2020), resultaría relativamente sencillo obtener una muestra representativa de dicha diversidad en origen para incrementar la diversidad del rodal en cuestión. En cualquier caso, y previamente a la introducción de nuevos individuos, sería recomendable realizar un seguimiento más preciso de la dinámica genética del pinsapar y, en particular, de aquella con supuesta relevancia adaptativa utilizando un conjunto de marcadores más informativo. Además, la inclusión de las diversas cohortes de descendencia en el análisis permitiría determinar la cantidad aproximada de árboles adultos con una contribución efectiva a la regeneración artificial, así como cuantificar pérdidas potenciales de diversidad entre los individuos originales de la repoblación y su descendencia (Kavaliauskas et al, 2018).

6. Conclusiones

A pesar de la relativamente baja diversidad genética presente en el pinsapar de Orcajo, este trabajo ha permitido caracterizar el buen comportamiento de la especie a lo largo de buena parte del siglo XX, lo que indica el potencial del rodal de repoblación como unidad de conservación *ex situ*. No obstante, también sugiere que su perspectiva es complicada en términos de resiliencia y desarrollo futuros, ya que el aumento de competencia entre individuos adultos, unido al incremento sostenido de las temperaturas, están afectando al crecimiento y fisiología de *A. pinsapo*. Por ello se considera necesario implementar medidas de gestión dado el estatus protegido del rodal y, en particular, se sugiere aplicar una clara de intensidad media (equivalente aproximadamente a una disminución del 30-50% de área basimétrica) para estimular el crecimiento secundario de los pinsapos adultos (Lechuga et al., 2018). Una posible intervención podría consistir en la eliminación completa de *P. sylvestris* del rodal, ya que es la conífera que muestra crecimientos inferiores, lo que resultaría en una reducción de área basimétrica del 25-30%, sin afectar a la densidad y distribución del pinsapo para así evitar una pérdida de diversidad y efectos negativos en la producción de semilla (Arista y Talavera,

1996). Combinada con la introducción de nuevos individuos, esta estrategia está en condiciones de facilitar la dinámica natural del rodal y, simultáneamente, preservar o incrementar su diversidad genética (Kavaliauskas et al, 2018).

7. Agradecimientos

El presente estudio se ha cofinanciado por el Gobierno de Aragón/European Agricultural Fund for Rural Development (FEADER) y el Gobierno de España (proyecto RTI2018-094691-B-C31, MCIU/AEI/FEDER, UE). Filippo Santini ha sido receptor de un contrato pre-doctoral de la Universidad de Lleida. Los autores agradecen la asistencia técnica de Maria Josep Pau.

8. Bibliografía

ARISTA, M.; TALAVARA, S.; 1996. Density effect on the fruit-set, seed crop viability and seedling vigour of *Abies pinsapo*. *Ann. Botany* 77, 187–192.

ARISTA, A.; ALAOU, M.L.; KNEES, S.; GARDNER, M.; 2011. *Abies pinsapo*. The IUCN red list of threatened species 2011: e.T42295A10679577.

CHOURY, Z.; SHESTAKOVA, T.A.; HIMRANE, H.; TOUCHAN, R.; KHERCHOUCHE, D.; CAMARERO, J.J.; VOLTAS, J.; 2017. Quarantining the Sahara desert: growth and water-use efficiency of Aleppo pine in the Algerian Green Barrier. *Eur. J. For. Res.* 136, 139–152.

COBO-SIMÓN, I.; MÉNDEZ-CEA, B.; JUMP, A.S.; SECO, J.; GALLEGO, F.J.; LINARES, J.C.; 2020. Understanding genetic diversity of relict forests. Linking long-term isolation legacies and current habitat fragmentation in *Abies pinsapo* Boiss. *For. Ecol. Manag.* 461, 117947.

COOK, E.R.; PETERS, K.; 1981. The smoothing spline: a new approach to standardizing forest interior tree ring width series for dendroclimatic studies. *Tree Ring Bull.* 41, 45–53.

CREMER, E.; LIEPELT, S.; SEBASTIANI, F.; BUONAMICI, A.; MICHALCZYK, I.M.; ZIEGENHAGEN, B., VENDRAMIN, G.G.; 2006. Identification and characterization of nuclear microsatellite loci in *Abies alba* Mill. *Mol. Ecol. Notes* 6, 374–376.

DERING, M.; SEKIEWICZ, K.; BORATYŃSKA, K.; LITKOWIEC, M.; ISZKUŁO, G.; ROMO, A.; BORATYŃSKI, A.; 2014. Genetic diversity and inter-specific relations of western Mediterranean relict *Abies* taxa as compared to the Iberian *A. alba*. *Flora* 209, 367–374.

FARQUHAR, G.D.; EHLERINGER, J.R.; HUBICK, K.T.; 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 40, 503–537.

GESSLER, A.; FERRIO, J.P.; HOMMEL, R.; TREYDTE, K.; WERNER, R.A.; MONSON, R.K.; 2014. Stable isotopes in tree rings: towards a mechanistic understanding of isotope fractionation and mixing processes from the leaves to the wood. *Tree Physiol.* 34, 796–818.

HEREŞ, A.-M.; VOLTAS, J.; LÓPEZ, B.C.; MARTÍNEZ-VILALTA, J.; 2014. Drought-induced mortality selectively affects Scots pine trees that show limited intrinsic water-use efficiency responsiveness to raising atmospheric CO₂. *Funct. Plant Biol.* 41, 244–256.

KAVALIAUSKAS, D.; FUSSI, B.; WESTERGRENN, M.; ARAVANOPOULOS, F.; FINZGAR, D.; BAIER, R.; ALIZOTI, P.; BOZIC, G.; AVRAMIDOU, E.; KONNERT, M.; KRAIGHER, H.; 2018. The interplay between forest management practices, genetic monitoring, and other long-term monitoring systems. *Forests* 9: 133.

KOSKELA, J.; LEFÈVRE, F.; SCHUELER, S.; KRAIGHER, H.; OLRİK, D.C.; HUBERT, J.; LONGAUER, R.; BOZZANO, M.; YRJÄNÄ, L.; ALIZOTI, P.; ROTACH, P.; VIETTO, L.; BORDÁCS, S.; MYKING, T.; EYSTEINSSON, T.; SOUVANNAVONG, O.; FADY, B.; DE CUYPER, B.; HEINZE, B.; VON WÜHLISCH, G.; DUCOUSSO, A.; DITLEVSEN, B.; 2013. Translating conservation genetics into management: Pan-European minimum requirements for dynamic conservation units of forest tree genetic diversity. *Biol. Conserv.* 157, 39–49.

LEAVITT, S.W.; 2008. Tree-ring isotopic pooling without regard to mass: No difference from averaging $\delta^{13}\text{C}$ values of each tree. *Chem. Geol.* 252, 52–55.

LECHUGA, V.; CARRARO, V.; VIÑEGLA, B.; CARREIRA, J.A.; LINARES, J.C.; 2018. Managing drought-sensitive forests under global change. Low competition enhances long-term growth and water uptake in *Abies pinsapo*. *For. Ecol. Manag.* 418, 23–33.

LEFÈVRE, F.; 2004. Human impacts on forest genetic resources in the temperate zone: an updated review. *For. Ecol. Manag.* 197, 257–271.

LINARES, J.C.; CAMARERO, J.J.; CARREIRA, J.A.; 2009a. Plastic responses of *Abies pinsapo* xylogenesis to drought and competition. *Tree Physiol.* 29, 1525–1536.

LINARES, J.C.; CAMARERO, J.J.; CARREIRA, J.A.; 2009b. Interacting effects of changes in climate and forest cover on mortality and growth of the southernmost European fir forests. *Global Ecol. Biogeogr.* 18, 485–497.

LINARES, J.C.; DELGADO-HUERTAS, A.; CAMARERO, J.J.; MERINO, J.; CARREIRA, J.A.; 2009c. Competition and drought limit the response of water-use efficiency to rising atmospheric carbon dioxide in the Mediterranean fir *Abies pinsapo*. *Oecologia* 161, 611–624.

LINARES, J.C.; CAMARERO, J.J.; CARREIRA, J.A.; 2010. Competition modulates the adaptation capacity of forests to climatic stress: Insights from recent growth decline and death in relict stands of the Mediterranean fir *Abies pinsapo*. *J. Ecol.* 98, 592–603.

LINARES, J.C.; DELGADO-HUERTAS, A.; CARREIRA, J.A.; 2011. Climatic trends and different drought adaptive capacity and vulnerability in a mixed *Abies pinsapo*-*Pinus halepensis* forest. *Climate Change* 105, 67–90.

LINARES, J.C.; CAMARERO, J.J.; 2012. From pattern to process: linking intrinsic water-use efficiency to drought-induced forest decline. *Global Change Biol.* 18, 1000–1015.

LINARES, J.C.; COVELO, F.; CARREIRA, J.A.; MERINO, J.A.; 2012. Phenological and water-use patterns underlying maximum growing season length at the highest elevations: Implications under climate change. *Tree Physiol.* 32, 161–170.

MATARUGA, M.; PIOTTI, A.; DANIČIĆ, V.; CVJETKOVIĆ, B.; FUSSI, B.; KONNERT, M.; VENDRAMIN, G. G.; ALEKSIĆ, J. M.; 2020. Towards the dynamic conservation of Serbian spruce (*Picea omorika*) western populations. *Ann. Forest Sci.* 77: 1.

McCARROLL, D.; LOADER, N.J.; 2004. Stable isotopes in tree rings. *Quat. Sci. Rev.* 23, 771–801.

PEAKALL, R.; SMOUSE, P.E.; 2006. genalex 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* 6, 288–295.

PEGUERO-PINA, J.J.; FLEXAS, J.; GALMÉS, S.J.; NIINEMETS, Ü.; SANCHO-KNAPIK, D.; BARREDO, G.; VILLARROYA, D.; GIL-PELEGRÍN, E.; 2012. Leaf anatomical properties in relation to differences in mesophyll conductance to CO₂ and photosynthesis in two related Mediterranean *Abies* species: Anatomy of photosynthesis in fir species. *Plant Cell Environ.* 35, 2121–2129.

PÉREZ LATORRE, A.V.; CABEZUDO, B.; 2012. Phenomorphology and ecomorphological traits in *Abies pinsapo*. A comparison to other Mediterranean species. *Phytocoenologia* 42, 15–27.

PÉREZ-SOBA DIEZ DEL CORRAL, I.; 2010. Un siglo protegiendo los montes. El Catálogo de Montes de Utilidad Pública de la provincia de Zaragoza (1905-2008). Institución 'Fernando El Católico' de la Diputación Provincial de Zaragoza, Zaragoza.

ROBBINS, K.R.; SAXTON, A.M.; SOUTHERN, L.L.; 2006. Estimation of nutrient requirements using broken-line regression analysis. *J. Anim. Sci.* 84, E155–165.

ROTACH, P.; 2005. In situ conservation methods. In: Geburek, T., Turok, J. (Eds.). Conservation and Management of Forest Genetic Resources in Europe. Arpora, Zvolen, Slovakia, pp. 535-565.

SANCHO-KNAPIK, D.; PEGUERO-PINA, J.J.; FLEXAS, J.; HERBETTE, S.; COCHARD, H.; NIINEMETS, U.; GIL-PELEGRIN, E.; 2014. Coping with low light under high atmospheric dryness: shade acclimation in a Mediterranean conifer (*Abies pinsapo* Boiss.). *Tree Physiol.* 34, 1321–1333.

SANTINI, F.; ANDRISANO, T.; LEONARDI, S.; CIASCETTI, G.; LABRIOLA, M.; VENDRAMIN, G.G.; PIOTTI, A.; 2018. Tracking the origin of silver fir plantations along the boundary between different genetic clusters in central Apennines: Implications for their management. *For. Ecol. Manag.* 408, 220–227.

SCHUELER, S.; FALK, W.; KOSKELA, J.; LEFÈVRE, F.; BOZZANO, M.; HUBERT, J.; KRAIGHER, H.; LONGAUER, R.; OLRİK, D.C.; 2014. Vulnerability of dynamic genetic conservation units of forest trees in Europe to climate change. *Global Change Biol.* 20, 1498–1511.

SERICHOL-ESCOBAR, C.; VIÑEGLA PÉREZ, B.; CARREIRA, J.A.; 2016. Assessing differences in water- and light-use efficiency in two related fir species under contrasting light conditions: gas exchange instantaneous rates vs. integrated C fixation and water loss. *Environ. Exp. Bot.* 122, 49–59.

SHESTAKOVA, T.A.; CAMARERO, J.J.; FERRIO, J.P.; KNORRE, A.A.; GUTIÉRREZ, E.; VOLTAS, J.; 2017. Increasing drought effects on five European pines modulate $\Delta^{13}\text{C}$ -growth coupling along a Mediterranean altitudinal gradient. *Funct. Ecol.* 31, 1359–1370.

SHESTAKOVA, T.A.; MARTINEZ-SANCHO, E.; 2021. Stories hidden in tree rings: A review on the application of stable carbon isotopes to dendrosciences. *Dendrochronologia* 65, 125789.

WIGLEY, T.M.; BRIFFA, K.R.; JONES, P.D.; 1984. On the average value of correlated time series, with applications in dendroclimatology and hydrometeorology. *J. Appl. Meteorol. Clim.* 23, 201–213.

Tabla 1. Datos de inventario del pinsapar de Orcajo obtenidas a partir de 8 parcelas circulares de 10 m de radio próximas a las zonas de muestreo de testigos de madera para el estudio dendrocronológico.

Especie	Número de pies	%	pies/ha	AB (m ² /ha)	Diámetro medio (cm)	Diámetro máx. (cm)	Diámetro mín. (cm)
<i>Abies pinsapo</i>	55	34.2	219	12.2	20.0	52.1	7.8
<i>Pinus halepensis</i>	2	1.2	8	0.3	19.2	19.8	18.7
<i>Pinus nigra</i>	28	17.4	111	7.6	25.0	38.0	8.2
<i>Pinus pinaster</i>	22	13.7	88	4.2	19.9	36.3	8.0
<i>Pinus sylvestris</i>	51	31.7	203	10.8	21.9	38.4	7.4
<i>Quercus ilex</i>	3	1.9	12	0.2	12.7	15.9	10.5

Tabla 2. Modelos de regresión lineal simple y segmentada para explicar la variabilidad en $\Delta^{13}C$ en función del tiempo (año).

Se ajustaron dos modelos o tipos diferentes de regresión segmentada con dos segmentos: el primero con pendiente creciente (b_2) por encima del punto de quiebra (2 pendientes), y el segundo con una meseta de pendiente nula por encima del punto de quiebra (1 pendiente). Se define asimismo un valor de asíntota A para el primer segmento, y que indica el valor predicho más bajo de $\Delta^{13}C$. El valor de R^2 es la fracción de la variabilidad en la variable dependiente explicada por el modelo, y el valor de R^2 ajustado corresponde al valor de R^2 al tener en cuenta el número de parámetros del modelo.

Especie	Regresión lineal			Regresión segmentada, un punto de quiebra						
	b	R ²	R ² ajust.	Tipo	Año (quiebra)	Asíntota (A)	1r segmento b_1	2º segmento b_2	R ²	R ² ajust.
<i>Abies pinsapo</i>	-0.018	0.19	0.18	2 pend.	1992	17.3	-0.068	0.037	0.57	0.56
				1 pend.	1985	17.8	-0.074	0	0.49	0.47
<i>Pinus nigra</i>	-0.027	0.43	0.41	2 pend.	1996	16.4	-0.048	0.009	0.53	0.51
				1 pend.	1995	16.5	-0.046	0	0.53	0.52
<i>Pinus sylvestris</i>	-0.025	0.26	0.25	2 pend.	1995	16.7	-0.051	0.017	0.38	0.35
				1 pend.	1993	16.8	-0.048	0	0.36	0.35



Figura 1. a) Vista general del pinsapar de Orcajo; b) Masa mixta de coníferas con *A. pinsapo* ocupando la parte superior del dosel arbóreo; c) Ejemplares de *A. pinsapo* con una altura media cercana a los 14 m; d) Detalle de la abundante regeneración natural de *A. pinsapo* en la masa.

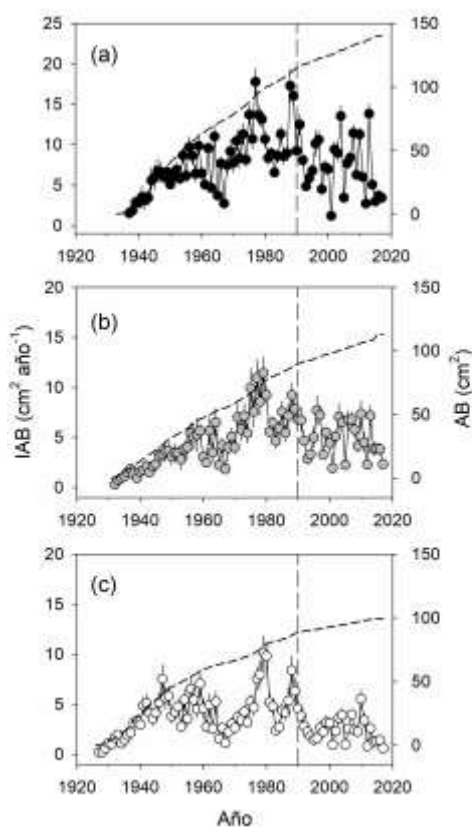


Figura 2. Evolución del incremento medio de área basal por árbol (IAB) y del área basal acumulada (AB; eje Y secundario, línea a trazos) para (a) *A. pinsapo*, (b) *P. nigra* and (c) *P. sylvestris*. La línea vertical indica el año aproximado (1990) de inicio de temperaturas consistentemente superiores a la media histórica en la zona.

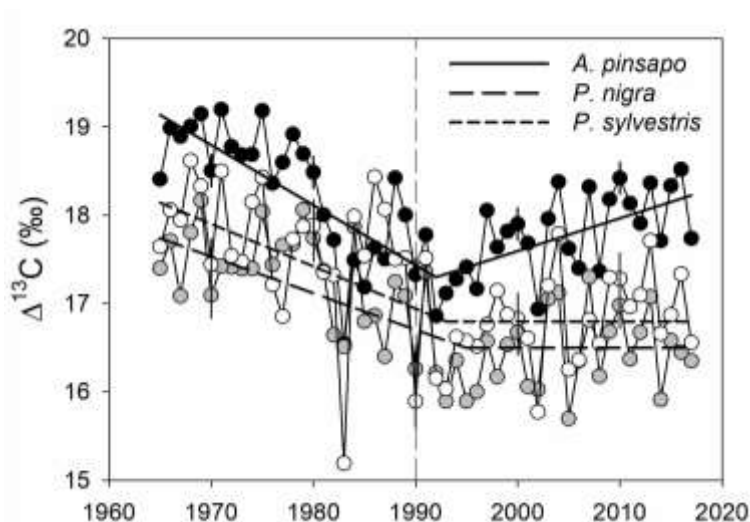


Figura 3. Evolución temporal de la discriminación isotópica del carbono ($\Delta^{13}\text{C}$) para el periodo 1965-2017 (*A. pinsapo*: círculos negros; *P. nigra*: círculos grises; *P. sylvestris*: círculos blancos). Se muestran las tendencias lineales de acuerdo a modelos de regresión segmentada. La línea vertical indica el año aproximado (1990) de inicio de temperaturas consistentemente superiores a la media histórica en la zona.

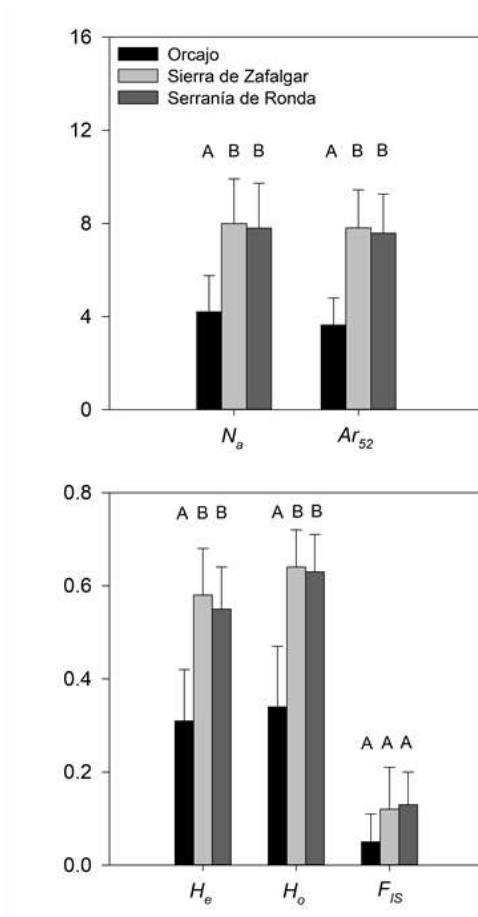


Figura 4. Valores medios y errores estándar del número de alelos por locus (N_a), riqueza alélica (Ar_{52}), heterocigosis esperada (H_e) y observada (H_o) e índice de fijación (F_{IS}) para un total de cinco loci en la repoblación de Orcajo y en dos poblaciones naturales de *A. pinsapo* (Sierra de Zafalgar y Serranía de Ronda). Letras distintas indican diferencias significativas de acuerdo a una prueba t de Student pareada.