



7º CONGRESO FORESTAL ESPAÑOL

**Gestión del monte: servicios
ambientales y bioeconomía**

26 - 30 junio 2017 | Plasencia
Cáceres, Extremadura

7CFE01-497

Edita: Sociedad Española de Ciencias Forestales
Plasencia. Cáceres, Extremadura. 26-30 junio 2017
ISBN 978-84-941695-2-6

© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Factores Bióticos, Abióticos y de Gestión Involucrados en el Decaimiento de *Pinus pinaster* en la Península Ibérica

PRIETO RECIO, C.^{1,2}, BRAVO OVIEDO F.^{1,2}, DÍEZ CASERO, J. J.^{1,2}

¹Departamento de Producción Vegetal y Recursos Forestales. E. T. S. de Ingenierías Agrarias. Universidad de Valladolid. Campus "La Yutera", Avda. Madrid 44. 34004. Palencia.

² Instituto Universitario de Investigación en Gestión Forestal Sostenible UVA-INIA. Campus "La Yutera", Avda. Madrid 44. 34004. Palencia.

E-mail: cristina.prieto@pvs.uva.es

Resumen

El decaimiento forestal se puede definir como una enfermedad compleja causada por la interacción de varios factores bióticos y abióticos. En los últimos años, el Pino Negral ha sufrido un proceso de decaimiento progresivo en la Península Ibérica con unos síntomas característicos: la transparencia de copa, enanismo en las acículas, decoloración del follaje y muerte prematura de los árboles. El principal objetivo de este trabajo fue el de revelar los factores tanto bióticos (agentes patógenos) como abióticos incluyendo los factores antropogénicos (clima, propiedades del suelo y gestión forestal), involucrados en el decaimiento *Pinus pinaster* en la Península Ibérica, arrojando luz sobre la papel que juega cada uno de ellos (es decir, si actúa como factor de predisposición, de incitación o de contribución). Varios parámetros se midieron en 27 parcelas circulares de 15 m de radio, ubicadas en las principales áreas de distribución natural de la especie en Castilla y León. Los resultados obtenidos indicaron que la competencia y/o el déficit de agua podrían actuar como factores de predisposición y/o incitación, mientras que los hongos Ophiostomatales o del azulado de la madera y el hongo de pudrición de la raíz *Heterobasidion annosum*, podrían ser los principales agentes contributivos al decaimiento.

Palabras clave

Masas naturalizadas, factores ambientales, gestión forestal, estado sanitario, dendrocronología, patología.

1. Introducción

El decaimiento de un bosque se puede definir, como una enfermedad causada por la interacción de un número intercambiable de factores, tanto abióticos como bióticos que producen el deterioro general y gradual de una masa forestal, y cuya última consecuencia puede ser la muerte de los árboles. Estos factores pueden ser de predisposición, de incitación o contributivos. A largo plazo, el clima histórico, el sitio, la edad de la masa o la predisposición genética, puede que no causen problemas evidentes, pero sí que pueden predisponer a los árboles a sufrir decaimiento. Por otro lado, a corto plazo, los daños abióticos provocados por sucesos climáticos como heladas, vendavales, inundaciones o periodos de sequía, y los producidos por competencia y falta de recursos, se pueden considerar como factores que inducen a los árboles a entrar en un estado de decaimiento en un momento dado, del cual se pueden recuperar o por el contrario pueden dejarles unas secuelas que les incitarían a pasar a un estado de deterioro progresivo. Y por último, los factores contributivos

como por ejemplo los hongos patógenos, las plantas parásitas y/o los insectos oportunistas, son los que finalmente desencadenarían un mayor debilitamiento de los árboles y la posterior muerte.

Pinus pinaster Ait., es una de las especies forestales más relevantes en España, tanto por su valor ecológico y protector como por su producción maderera. El Pino Negral es la segunda especie con la distribución más extendida en España tras la Encina, cubriendo una superficie de más 700.000 hectáreas en masas puras y 600.000 hectáreas en masas mixtas. Estas masas pueden ser tanto naturales como plantadas y pueden diferenciarse tres grupos dependiendo de la función que ejercen. Un primer grupo es el compuesto por los pinares de regeneración natural en la Meseta Castellana, dedicados históricamente a la extracción de resina. Por otro lado, están los pinares de serranía, tanto naturales como de repoblación, típicos del Sistema Central y del Sistema Ibérico, dedicados a la producción maderera. Por último, existen pinares en la zona costera mediterránea, en los que la función principal es la protección del suelo y la creación de masas mixtas con frondosas, combinada con niveles bajos de aprovechamiento maderero.

Durante las últimas décadas, el Pino Negral ha sufrido un proceso de decaimiento progresivo en la Península Ibérica con unos síntomas característicos: la inusual transparencia de copa, el enanismo en las acículas, la decoloración del follaje y la muerte prematura del árbol. Hasta el momento no se sabe qué factores están implicados en el decaimiento del pino Negral y qué papel juegan, además no existen hasta la fecha estudios que relacionen estos estados de decaimiento con los factores ambientales, la estructura de las masas y los regímenes selvícolas.

2. Objetivos

El objetivo general de esta tesis doctoral fue el de revelar los factores tanto bióticos (agentes patógenos) como abióticos incluyendo los factores antropogénicos (clima, propiedades del suelo y manejo forestal), involucrados en el decaimiento *Pinus pinaster* en la Península Ibérica. Así como, desentramar que papel está jugando cada uno de ellos, es decir, si actúa como factor de predisposición, de incitación o de contribución al decaimiento, para intentar dar una solución al problema, y proponer alternativas de control sanitario y gestión forestal sostenible, con el fin de garantizar el futuro de estos bosques de gran valor ecológico.

Este objetivo general se ha dividido en los siguientes estudios específicos; **a)** Para los factores abióticos y de gestión: **(1)** Desentramar las asociaciones que existen entre el clima, las propiedades del suelo y el manejo forestal en el decaimiento de *Pinus pinaster* en la Península Ibérica a nivel de masa forestal. **(2)** Determinar los factores que influyen en el decaimiento de *Pinus pinaster*, mediante la caracterización de las parcelas de estudio y la construcción de un modelo logístico multinomial que permita predecir el estado sanitario a nivel de árbol. **(3)** Comprender a través de herramientas dendrocronológicas las alteraciones en el crecimiento de *Pinus pinaster* considerando diferentes fases de decaimiento en relación con los cambios en la disponibilidad de agua durante las últimas décadas. Y **b)** para los factores bióticos: **(4)** Aislar e identificar por primera vez en España, el hongo patógeno *Heterobasidion annosum* involucrado en el decaimiento de *Pinus pinaster*. **(5)** Identificar morfológica y molecularmente los hongos patógenos asociados al decaimiento de *Pinus pinaster* y detectar las zonas más afectadas en relación con las variables climáticas y el estado sanitario. Y **(6)** Evaluar la patogenicidad de aislados españoles de *Heterobasidion annosum* sobre plántulas de *Pinus pinaster*.

3. Metodología

Para ello, se han muestreado 27 parcelas circulares de 15 m de radio ubicadas en las principales áreas de distribución natural de la especie en Castilla y León. Dentro de cada parcela se han tomado las medidas dasométricas y dendrométricas de todos los árboles (1208 en total), se han evaluado sanitariamente 24 árboles (648 en total) y se han tomado muestras de 3 árboles sanos, 3 con síntomas de decaimiento y 3 muertos en pie. Estas muestras fueron de dos tipos: dos canutillos por cada árbol a la altura de pecho mediante una barrena Pressler, para obtener el crecimiento de los 20 últimos años en pies con distinto estado de decaimiento (486 en total) y un chaspe de madera tomado con un hacha en la base del tronco, para detectar a través de cámara húmeda, aislamiento en placa y posterior análisis molecular, la presencia de hongos patógenos (243 en total).

Para obtener los parámetros edáficos, se recogió una muestra de suelo a 30 cm de profundidad por cada una de las parcelas estudiadas y se envió al laboratorio del ITAGRA (Centro Tecnológico Agrario y Alimentario) para analizar los parámetros básicos (textura ISSS, pH, CE; P, K, Na, Mg, Ca, MO, CT, CaO), elementos gruesos, arena fina, Fe, N total, C/N y CCC. Los datos climáticos de cada una de las parcelas de estudio, se obtuvieron a través del atlas climático digital de la península ibérica considerando las precipitaciones, las temperaturas y la radiación solar, tanto mensuales y estacionales, como anuales. Y para cuantificar la relación entre decaimiento-clima-crecimiento, se solicitaron además a la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET), los datos climáticos de los últimos 30 años de las estaciones más cercanas a cada una de las zonas de muestreo.

Por otro lado, se realizó un muestreo dirigido a dos zonas con claros síntomas de decaimiento para aislar e identificar tanto morfológica como molecularmente uno de los principales patógenos (*Heterobasidion annosum*) que se cree asociado al decaimiento de *Pinus pinaster*. Para ello se derribaron 11 árboles de diferentes estados sanitarios (sanos, sintomáticos, muertos) y se tomaron muestras de madera infectada para su posterior análisis en el laboratorio. Las muestras se colocaron en cámaras húmedas en condiciones óptimas de humedad y temperatura y después de 20 días de incubación se observaron los cuerpos de fructificación. Con los aislados obtenidos se procedió a realizar la extracción de ADN para identificarlos molecularmente e introducirlos en la base de datos mundial Genbank.

Una vez confirmada mediante técnicas moleculares la presencia de *Heterobasidion annosum*, con los aislados obtenidos, se realizaron las pruebas de patogenicidad de este hongo en plántulas de *Pinus pinaster* de dos años de edad. Se inocularon un total de 120 plántulas con 2 aislados españoles de *Heterobasidion annosum* y se utilizaron dos tipos de inóculo (trozos de madera y serrín), por dos vías diferentes (en el tallo y en el suelo).

Las técnicas estadísticas utilizadas para la obtención de los resultados fueron las siguientes: Análisis de Componentes Principales y Método de Broken-Stick (Objetivos 1 y 2). Escalamiento Multidimensional No Métrico (NMDS) y Procedimientos de Permutación de Respuestas Múltiples (MRPP) (Objetivo 1). Agrupación Jerárquica y Modelo de Regresión Logística Multinomial (Objetivo 2). Algoritmo Multi-Nivel: BIOdry (Objetivo 3). Análisis de Correspondencias Canónicas y Test de Monte Carlo (Objetivo 5). Análisis de Varianza, Test de Tukey y Modelos Lineales Mixtos (Objetivo 6).

4. Principales Resultados

a) Factores abióticos y de gestión:

(1) Se confirmó que las masas muestreadas presentaban decaimiento, con casi el 40 % de los árboles muertos o dañados (10 y 30 %, respectivamente). No se encontraron diferencias significativas en cuanto a regiones procedencia de la especie. Sin embargo, si se observaron diferencias significativas según la zona de muestreo, siendo la zona de la Ribera del Duero en Burgos una de las más afectadas.

Se observó un mejor estado sanitario en masas puras que en masas mixtas. A su vez, las masas en las que se habían realizado claras, presentaban mejor estado sanitario que las masas donde no se habían aplicado claras. En particular, los altos valores de la altura total y de la precipitación de primavera parecen indicar un mejor estado sanitario, mientras que la alta densidad de la masa se asoció a estados fitosanitarios más pobres.

Estos resultados parecen sugerir que el déficit de agua y la competencia estarían actuando como factores de predisposición al decaimiento de *Pinus pinaster* en la Península Ibérica.

(2) Las parcelas de estudio se agruparon de acuerdo a las variables selvícolas, de suelo, de clima y las variables fitosanitarias, según las distintas zonas geográficas, divisiones provinciales y regiones de procedencia de la especie.

Las variables retenidas en el análisis de componentes principales para introducirlas en el modelo predictivo fueron las siguientes: el diámetro a la altura del pecho para la caracterización a nivel de árbol individual; la densidad, la altura media de la parcela y la altura media de la copa para la caracterización a nivel de masa; la capacidad de intercambio catiónico y el pH para la caracterización edáfica; y la temperatura media anual y las precipitaciones estacionales medias de primavera y de verano para la caracterización climática.

Finalmente el mejor modelo de regresión logística multinomial a nivel de árbol individual fue construido con las variables significativas: diámetro a la altura de pecho, altura media de la parcela y precipitación estacional de verano.

(3) Se detectaron diferencias en los patrones de crecimiento entre los árboles con diferentes condiciones fitosanitarias dentro de las diferentes zonas de muestreo. Las fluctuaciones en el crecimiento de los árboles en las zonas centrales de muestreo estaban distribuidas simétricamente a lo largo de los años de formación de los anillos. Por el contrario las fluctuaciones en el crecimiento de los árboles en las zonas de sierras montañosas fueron generalmente más estrechas y asimétricas.

Se observaron de forma frecuente y constante eventos de alta aridez principalmente durante dos períodos: a principios de la década de los 90 (1989-1991) y durante el año 2005. Durante el año 1994 también se observaron eventos de alta aridez, aunque no tan pronunciados. Los eventos de menor aridez se produjeron principalmente entre los años 1996 a 1998. En las zonas localizadas en sierras montañosas se observaron menos eventos de alta aridez que en las zonas centrales.

Los correlogramas de Mantel entre el crecimiento y la aridez generaron respuestas significativas en función del estado sanitario de los árboles. Las correlaciones significativas de los árboles muertos se localizaron a lo largo de un intervalo estrecho del eje del tiempo, mientras que los árboles sintomáticos y sanos se localizaron en intervalos medios y más amplios, respectivamente, en comparación con los intervalos de los árboles muertos.

Nuestros resultados tuvieron implicaciones en las relaciones de competencia-crecimiento-clima ya que se observaron valores significativos en los correlogramas de Mantel entre el crecimiento de los árboles y el índice de aridez según las diferentes clases densidad. Parcelas con altos índices de densidad mostraron una respuesta significativa más concentrada que las parcelas con índices de densidad medios y bajos, en las que las repuestas significativas se produjeron en intervalos de tiempo más amplios.

Estos resultados sugirieron que los periodos de sequía de las dos últimas décadas, podrían estar actuando como factores de incitación al decaimiento.

b) Factores bióticos:

(4) Se aisló e identificó mediante técnicas morfológicas y moleculares la presencia de *Heterobasidion annosum* en *Pinus pinaster* por primera vez en España.

Este hongo es uno de los patógenos más importantes que afectan a las coníferas en el hemisferio norte y fue detectado asociado al decaimiento de *Pinus pinaster* en el centro de España.

(5) Se identificaron quince especies durante el estudio, que se dividieron en dos grupos distintos en función de su ecología: especies saprófitas (seis especies) y especies patógenas con diferentes grados de virulencia (nueve especies).

Las especies patógenas identificadas pertenecieron principalmente al grupo de los hongos Ophiostomatales o del azulado de la madera destacando entre ellas *Ophiostoma minus*, *Ophiostoma ips*, *Ophiostoma piliferum* y *Ophiostoma ranaculosum*. También se identificó el hongo de pudrición de la raíz *Heterobasidion annosum* y fue encontrado junto con *Ophiostoma minus* y *Ophiostoma piliferum* en la misma zona geográfica. La zona de muestreo de la Ribera del Duero en Burgos albergó el mayor número de especies de hongos patógenos mientras que la zona de Soria fue la que presentó el menor número de especies de hongos patógenos.

Los resultados del análisis de correspondencias canónicas mostraron que las variables climáticas tales como la temperatura, la precipitación y la altitud no afectaban significativamente las comunidades de hongos patógenos. Sin embargo, mostraron una tendencia en cuanto a la precipitación, ya que se pudo observar que el mayor número de especies patógenas se agrupaba en zonas donde la precipitación era menor.

(6) Las tasas de mortalidad de las plántulas inoculadas en el tallo difirieron significativamente de los controles, mientras que las plántulas infectadas vía suelo no mostraron diferencias significativas con respecto a las plantas control.

Para ambos tipos de inoculación en el tallo (chips de madera y serrín), la longitud de la necrosis fue mayor que en los controles, y los síntomas de marchitamiento de las acículas también fueron significativamente más graves que en las plantas control.

La asignación de biomasa en plantas inoculadas en el tallo no difirió significativamente entre las plántulas infectadas y las de control. Sin embargo, en plantas infectadas vía suelo, el porcentaje de raíces finas fue significativamente menor en las plantas infectadas que en las plantas control.

Estos resultados han demostrado la susceptibilidad de *Pinus pinaster* al patógeno *Heterobasidion annosum*, y nos han sugerido que podría tratarse de uno de los principales agentes contributivos al decaimiento.

5. Recomendaciones

Los gestores forestales están llamados cada vez más, a integrar en sus planes de gestión, estrategias de adaptación y mitigación para hacer frente a los nuevos escenarios y amenazas como; el cambio climático, las nuevas enfermedades y las modificaciones de uso del suelo.

Este trabajo proporciona nueva información relevante que puede ser útil para el establecimiento e implementación de planes de acción y políticas forestales. En particular, se recomienda la modificación de la estructura de las masas, reduciendo la competencia por el agua en los bosques de pinos mediterráneos con decaimiento. La aplicación de claras regularmente

programadas y el control implementado de la vegetación arbustiva, podrían utilizarse para mejorar la resistencia y la capacidad de recuperación de la masas de *Pinus pinaster*.

Se necesita más investigación para profundizar en el papel clave de los factores bióticos implicados en el decaimiento de *Pinus pinaster*. Y planes de gestión forestal sostenible vinculados al control biológico, deberían ser implementados para asegurar el futuro de estos bosques de gran valor.