



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Estado nutricional de especies leñosas
mediterráneas y su aplicación a la
restauración forestal

Roman Trubat Domènech



Tesis

Doctorales

www.eltallerdigital.com

UNIVERSIDAD de ALICANTE



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



TESIS DOCTORAL

ESTADO NUTRICIONAL DE ESPECIES LEÑOSAS
MEDITERRÁNEAS Y SU APLICACIÓN A LA
RESTAURACIÓN FORESTAL. Roman Trubat Domènech 2012



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Departamento de Ecología

Estado nutricional de especies leñosas
mediterráneas y su aplicación a la restauración
forestal

Memoria presentada por D. **Roman Trubat Domènech** para
optar al grado de Doctor por la Universidad de Alicante

Directores

Jordi Cortina Segarra

Alberto Vilagrosa Carmona

Jordi Cortina i Segarra, Catedrático de Ecología de la Universidad de Alicante,

HACE CONSTAR:

Que el trabajo descrito en la presente memoria, titulada: **“Estado nutricional de especies leñosas mediterráneas y su aplicación a la restauración forestal”** ha sido realizado bajo su dirección por D. Roman Trubat Domènech en la Universidad de Alicante, y reúne todos los requisitos necesarios para su aprobación como Tesis Doctoral.

Universitat d'Alacant
Alicante, 15 de septiembre de 2012
Universidad de Alicante

Jordi Cortina i Segarra

Alberto Vilagrosa Carmona, Investigador Senior de la Fundación CEAM

HACE CONSTAR:

Que el trabajo descrito en la presente memoria, titulada: **“Estado nutricional de especies leñosas mediterráneas y su aplicación a la restauración forestal”** ha sido realizado bajo su dirección por D. Roman Trubat Domènech en la Universidad de Alicante, y reúne todos los requisitos necesarios para su aprobación como Tesis Doctoral.

Alicante, 15 de septiembre de 2012

Alberto Vilagrosa

Als meus pares

A la Marian, al Blai i a la Bet



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Agradecimientos

En primer lloc agrair als meus directors de tesis l'esforç i el temps dedicat. Al Jordi Cortina la possibilitat d'haver-me iniciat al món de la ciència, i a la quantitat d'hores que això ha comportat (potser unes quantes més de lo que acostuma a ser habitual) i la possibilitat d'haver pogut participar en molts projectes, viatjar, conèixer gent, bé..moltíssimes coses. A l'Alberto la possibilitat d'entendre una mica com funciona l'ecofisiologia i l'ajut incondicional que sempre m'ha ofert. Moltes gràcies a tots dos.

A part dels meus directors de tesis moltíssima gent del departament , o integrants del CEAM, becaris, col-laboradors. etc.. han participat en aquesta tasca.

Gràcies al Joan i a la Maribel, és gràcies a ells que estic aquí. *Gracias a Jose Huesca por la multitud de horas compartidas en el laboratorio y los viajes al vivero y las discusiones del Barça.*

No me cansaré de agradecer los muchísimos años compartidos en el departamento con Karen, hemos compartido muchísimos años de trabajo y de no trabajo, muchísimos fines de semana de laboratorio, el Uruguayo y muchos otros, muchísimas gracias. A Dr. David Fuentes las horas que hemos estado juntos principalmente perdiendo el tiempo y tomando alguna que otra cañita (alguna que otra). Gracias a los dos, y ya puestos a Iván.

A Rosario, gracias por atenderme siempre que visito tu despacho y al despacho 1 en general. A Tadas y Amina por la multitud de buenas horas de despacho y campo pasadas. A Santi (que sé que al final le cogió el gustillo a lo de limpiar raíces), Juanjo, Carolina, Noelia, Acensio, Cholo, Jorge Moneris, gracias a todos por la cantidad de horas pasadas en el campo o limpiando raíces (que sé que os gustaba bastante). A Juan Peña en su recuerdo y por la multitud de veces que me atendió en mil consultas informáticas.

A Mica Halmeida por la posibilidad de realizar mi estancia en Lisboa y en especial a Haschemi Merouani por hacerla tan amena.

A Alejandro por atenderme y aconsejarme siempre que se lo he pedido. A Vanesa y a Jaime por intentarme convencer de que cuanto más alto eres mejor (a mi!!!) y por su ayuda en la redacción.

Gracias a Felipe Gil y a todo el personal de Santa Faz, a Esteban Chirino por la ayuda en el vivero.

També em serveix aquest apartat d'agraïments per recordar i agrair les persones que no hi són i estic segur que els hagués agradat veure finalitzar la tesis doctoral, a l'Anna, al Jorge i a la Rosa.

I per últim agrair a les persones més importants per a mi i perquè aquesta tesis finalment hagi arribar a bon port (o no).

Als meus pares per la paciència que han tingut durant tots aquests anys i també agrair-los lo pesats que han sigut amb la seva insistència (no està mal!!) i que per molt lluny que estiguin sempre els he tingut presents, gràcies pares. I finalment la Marian per haver compartit amb mi tots aquests anys amb totes les coses bones (moltes) i dolentes (algunes poques) que ens han anat passant, els nostres viatges a Espadà, el dentista de Barcelona, les campanyes al viver, Toledo.. I pel recolzament que sempre m'has ofert, per lo pesada que t'ha posat sempre amb el doctorat (i les vegades que l'has llegit, mare!), gràcies per estar al meu costat durant tots aquests anys. Al Blai i a la Bet ... simplement per estar amb nosaltres.

Síntesis

La recuperación de paisajes degradados no siempre ocurre de forma espontánea o lo hace con excesiva lentitud. Se trata de situaciones en las que se ha cruzado un umbral de irreversibilidad en los procesos degradativos. Cuando la regeneración natural es improbable o demasiado lenta, y cuando no intervenir podría conllevar a un aumento de la degradación, es cuando puede estar justificada la acción, en forma de restauración ecológica. La escasez de propágulos y las características del clima mediterráneo, con una baja frecuencia de situaciones favorables para el reclutamiento, dificultan el re-establecimiento de la cubierta vegetal. La introducción de especies clave para la recuperación del paisaje podría permitir una aceleración de la sucesión. En paisaje semiáridos, la plantación de arbustos esclerófilos puede mejorar el funcionamiento del ecosistema y aumentar la biodiversidad.

La manipulación de la calidad de la planta constituye una de las opciones fundamentales para aumentar el éxito de una reforestación. La calidad de la planta viene determinada por un conjunto de características morfológicas y fisiológicas, siendo el resultado de la combinación de la calidad genética, sanitaria, morfológica y fisiológica.

En los últimos años, diversos estudios han explorado la manera de mejorar la calidad de la planta mediante técnicas de cultivo en vivero. En la identificación de las características morfo-funcionales del plantón óptimas para cada hábitat reside una de las principales dificultades para mejorar el establecimiento de brinzales en medios semiáridos.

La fertilización es, junto con el riego, la práctica que más influye en el desarrollo de la planta en vivero. La relación entre el estado nutricional y la respuesta en campo en especies mediterráneas muestra que el crecimiento en campo suele aumentar con el

incremento del aporte nutricional. Sin embargo, algunos estudios muestran resultados opuestos.

Por todo ello, la presente tesis doctoral tiene, como **objetivo principal**, *evaluar el efecto de diferentes regímenes nutricionales sobre las características de brinzales de especies leñosas mediterráneas, y determinar el impacto de estas prácticas sobre su establecimiento en campo*. Para alcanzar este objetivo, se plantean los siguientes objetivos específicos, objetivos que corresponden a los capítulos 2- 6 de esta memoria.

- Evaluar la utilidad del endurecimiento nutricional para reducir el shock post- trasplante.
- Evaluar la capacidad de establecimiento en campo de seis especies mediterráneas sometidas a diferentes regímenes nutricionales.
- Determinar qué características morfo-funcionales promovidas por la fertilización facilitan la supervivencia.
- Determinar si la respuesta a los tratamientos nutricionales es característica de cada especie.
- Establecer una definición de calidad óptima de brinzales para la restauración en medios semiáridos.
- Determinar el impacto de la deficiencia nutricional sobre la morfología y capacidad de transporte de agua del sistema radicular.
- Evaluar el efecto de los diferentes regímenes nutricionales sobre la topología del sistema radicular.
- Explorar la relación existente entre el estado nutricional, la arquitectura radicular y la conductividad hidráulica específica radicular.

Para llevar a cabo este estudio se realizó un cultivo en vivero de seis especies mediterráneas *Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Tetraclinis articulata*, *Rhamnus alaternus*, *Rhamnus lycioides* y *Quercus suber*, sometiéndolas a diferentes regímenes nutricionales:

solución nutritiva estándar, fertilizante de liberación lenta, solución nutritiva sin nitrógeno, solución nutritiva sin fósforo, y reducción del aporte de nitrógeno al final del periodo de crecimiento (endurecimiento nutricional). Al final del periodo de crecimiento se realizó una plantación en Albatera (Alicante, clima semiárido, las primeras 5 especies) y otra en Espadán (Castellón, clima seco sub-húmedo, la última especie).

La supresión de nutrientes en la solución nutritiva promovió una serie de modificaciones en diversos rasgos morfo-funcionales que permitieron aumentar el potencial de los brinzales de resistir la sequía intensa y mejorar su establecimiento en campo. Sin embargo, las diferencias entre especies fueron notables. A tenor de los resultados obtenidos, el reto de determinar qué atributos morfológicos y fisiológicos son los más apropiados para definir la calidad funcional del brinjal resulta muy complejo. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de revisar el concepto de calidad de brinzales en ambientes semiáridos.

La reducción de nitrógeno en la última fase de crecimiento (endurecimiento nutricional) en las cinco especies tratadas en el ensayo de ambiente semiárido tuvo un efecto análogo al provocado por la supresión de fósforo y nitrógeno. En ambos casos provocó una disminución del área específica foliar, del área foliar y del tamaño general de la planta, factores que potenciaron el establecimiento en campo. En cambio, el endurecimiento nutricional provocó una elevada mortalidad de brinzales de *Quercus suber* en ambiente seco sub-húmedo.

En referencia al sistema radicular, la eficiencia de éste se vio afectada por la fertilización. Se observó que la privación de nutrientes redujo la capacidad de transporte de agua del sistema radicular de brinzales de *Pistacia lentiscus*. Igualmente, la arquitectura y topología del sistema radicular se vio afectada por supresión de nitrógeno y fósforo. La privación de P provocó un aumento de la superficie absorbente, así como un aumento de la longitud específica radicular,

hecho que probablemente permitió la exploración de un volumen mayor de suelo. Los cambios en la arquitectura del sistema radicular tuvieron un impacto en la capacidad de transportar agua de *Pistacia lentiscus*. La variable que se relacionó más íntimamente con la conductividad hidráulica específica fue el número de nodos.

A grandes rasgos, podemos concluir que la nutrición mineral afecta significativamente a la calidad de planta para la repoblación de medios semiáridos y seco sub-húmedos, condicionando su establecimiento en campo. Estas modificaciones, en el caso de deficiencias nutricionales, son suficientemente eficaces para compensar el efecto deletéreo de la reducción de la reserva de nutrientes. Las cinco especies estudiadas en ambiente semiárido mostraron una relación negativa entre altura y la supervivencia en el campo, lo que sugiere la necesidad de revisar la normativa sobre calidad cabal y comercial de planta forestal para estos medios.

Índice

Capítulo 1. Introducción General.....	17
La restauración de ecosistemas mediterráneos.....	19
Calidad de planta forestal.....	22
Manipulación de la planta forestal mediante el régimen nutricional.....	35
Morfología y arquitectura del sistema radicular.....	44
Capacidad de transporte de agua y arquitectura hidráulica....	49
Objetivos.....	52
Estructura de la memoria.....	55
Referencias.....	57
Capítulo 2. Short term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species.....	71
Capítulo 3. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in <i>Pistacia lentiscus</i> (L.).....	109
Capítulo 4. Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in <i>Quercus suber</i> L.....	141
Capítulo 5. Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a degraded semi-arid shrubland.....	169
Capítulo 6. Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived <i>Pistacia lentiscus</i> L. seedlings.....	195
Capítulo 7. Discusión General.....	229
Manipulación de la morfología de los brinzales.....	232

Plasticidad de respuesta de las diferentes especies.....	234
Régimen de fertilización y morfología y función del sistema radicular.....	235
Rasgos morfo-fisiológicos y establecimiento.....	241
Endurecimiento nutricional.....	248
Crecimiento potencial de raíces (RGP).....	250
Regulación normativa de la calidad de planta.....	251
Referencias.....	254
Capítulo 8. Conclusiones y consideraciones finales.....	265
Apéndices.....	271
Manipulación de las dimensiones de los contenedores y su aplicación a la restauración.....	271
Tablas altura normativas.....	285

CAPÍTULO 1

Introducción General



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



1. La restauración de ecosistemas mediterráneos

En la cuenca mediterránea las perturbaciones constituyen un elemento fundamental para entender el paisaje (Tomás *et al.*, 1996, Naveh, 1982). La tala, el sobrepastoreo o los incendios han fragmentado el bosque, reduciendo su densidad y favoreciendo la expansión de comunidades vegetales más tolerantes a condiciones estresantes y a nuevos regímenes de perturbaciones (Costa *et al.*, 1990). Como resultado de ello, y de la elevada variabilidad temporal y espacial de los factores abióticos, los paisajes mediterráneos constituyen mosaicos en los que coexisten zonas muy variadas en cuanto a su potencial biológico, estabilidad y nivel de degradación. En la actualidad, y como producto de la interacción entre la actividad humana y un medio inestable, partes significativas de la cuenca mediterránea se encuentran afectadas por procesos de degradación, favoreciendo fenómenos de desertificación (Thornes y Brandt, 1994). La reducción de la demanda de recursos naturales de origen local en el norte del Mediterráneo ha permitido la recuperación de extensas zonas degradadas (Inventario forestal nacional, IFN). Sin embargo, la recuperación de paisajes degradados no siempre ocurre de forma espontánea o lo hace con excesiva lentitud (Cortina *et al.*, 2006). Se trata de situaciones en las que se ha cruzado un umbral de reversibilidad en los procesos degradativos (Whisenant, 1999). Cuando la regeneración natural es improbable o demasiado lenta, y cuando no intervenir podría conllevar a un aumento de la degradación, es cuando puede estar justificada la intervención, en forma de restauración ecológica (Bradshaw, 1983).

Los procesos de colonización y sucesión secundaria en zonas mediterráneas degradadas, pueden ser muy lentos (Miranda *et al.*, 2004). La escasez de propágulos y las características del clima mediterráneo, con una baja frecuencia de situaciones favorables para el reclutamiento, dificultan el re-establecimiento de una cubierta vegetal (García-Fayos y Verdú, 1998; Lázaro *et al.*, 2001; Foster 2002).

La introducción de especies clave para la recuperación del paisaje podría permitir una aceleración de la sucesión.

La restauración ecológica representa una de las alternativas para frenar los procesos de degradación y promover la recuperación de un ecosistema, teniendo en cuenta su función y estructura (Bradshaw y Chadwick, 1988). Con la restauración se pretende dirigir el sistema a través de una serie de estadios sucesivos para acelerar la recuperación de su composición y de las relaciones ecológicas que existían en la comunidad previa a la degradación (Cortina *et al.*, 2006). Con frecuencia, esta aceleración de las trayectorias sucesionales se consigue mediante la introducción de especies vegetales desaparecidas en el pasado, especies cuyo establecimiento espontáneo es improbable. Dependiendo del contexto de la intervención, será necesario utilizar plantas con una elevada capacidad de protección del suelo, que mejoren su fertilidad, y que puedan facilitar el establecimiento de otras especies.

En la cuenca Mediterránea coexisten ambientes muy diversos, sujetos a dinámicas diferentes que condicionan en buena medida los objetivos de la restauración y las técnicas utilizadas para alcanzarlos. Por ejemplo, en ambientes secos sub-húmedos, la proximidad entre plantas generalmente provoca un aumento de la competencia por recursos (Maestre, 2002). Por el contrario, en zonas de clima semiárido, el paisaje está dominado por formaciones vegetales abiertas, donde la distribución espacial de la vegetación es muy heterogénea (Cross y Schlesinger, 1999). La utilización de la heterogeneidad de las propiedades edáficas o la facilitación por parte de la vegetación preexistente, permiten aprovechar el propio funcionamiento del ecosistema para acelerar la restauración (Maestre *et al.*, 2001; Cortina *et al.*, 2004). En estos ambientes, la atenuación de las condiciones de estrés por parte de plantas vecinas, puede favorecer el desarrollo de nuevos individuos (Bertness y Callaway, 1994).

Uno de los aspectos más importantes de la actividad restauradora es la selección de las especies que se pretende introducir. Es necesario que la especie seleccionada se adecue a las necesidades de la intervención y a las características del hábitat. Como norma, la utilización de la especie dominante en las proximidades de la zona, y en hábitats próximos comparables, garantiza una adecuada selección de la especie. Por otra parte, se suele escoger especies que sean de interés por sí mismas, por razones de conservación, o que jueguen un papel importante en el funcionamiento del ecosistema (especies importantes y especies clave, sensu Hulbert, 1997). Más allá de las limitaciones ambientales, se debe tener en cuenta el régimen de perturbaciones, en el que ocupa un papel predominante el fuego, así como el pastoreo, los eventos climáticos extremos y las plagas (Vallejo y Alloza, 2004). Al mismo tiempo, se debe considerar el papel de la vegetación pre-existente. Por otra parte, el éxito de una plantación dependerá de si la especie elegida es compatible con las características ecológicas del área, de las condiciones climáticas del año de plantación (Navarro y Pemán, 1997), del método de preparación del suelo (Roldán *et al.*, 1996), y de la calidad de la planta utilizada (South, 2000). Cada uno de estos factores son, en realidad, complejos, y se encuentran interrelacionados (Chavasse, 1980), por lo que el estudio de la respuesta de la planta debe considerar las posibles interacciones entre ellos.

Resulta de vital importancia identificar qué factores limitan la introducción de la especie, en función de sus atributos, y posteriormente proceder al desarrollo de técnicas que permitan superar estas limitaciones. El reciente interés por la restauración de ecosistemas, ha promovido la incorporación de un número creciente de especies en las repoblaciones, incluyendo arbustivas y herbáceas. Esto es especialmente importante en medios semiáridos de la península ibérica, en los que existen pocas especies arbóreas nativas (Vallejo y Alloza, 2004). En este sentido, la introducción de arbustos esclerófilos con un alto índice de cobertura tiene una gran

importancia para mejorar el funcionamiento del ecosistema y aumentar la biodiversidad (Maestre *et al.*, 2009).

2. Calidad Planta Forestal

El cultivo de plantas forestales debe estar basado en el conocimiento de las características morfológicas y funcionales de las especies, y en la manipulación de los factores ambientales abióticos y bióticos para conseguir unos determinados objetivos. En este proceso intervienen varios factores: los sustratos, los contenedores, la densidad de plantación, la fertilización, el riego, la poda, la modificación de la atmósfera, los ajustes de radiación, etc. (Biel *et al.*, 2006).

La utilización de contenedores forestales ha aumentado en los últimos años debido a la necesidad de producir plantas con un sistema radicular sano y equilibrado, y con ello evitar los problemas derivados del cultivo a raíz desnuda. Hasta no hace mucho, la planta para repoblaciones era producida casi exclusivamente a raíz desnuda, técnica que favorece el desarrollo natural y equilibrado del sistema radicular y aéreo (Domínguez-Lerena *et al.*, 1997). Sin embargo, la producción de planta en contenedor permite atenuar el estrés post-trasplante, conservando el sistema radicular íntegro, y manteniendo la alimentación de la planta sin interrupción (Marien y Drovin, 1978). Además, los contenedores mantienen la humedad del sustrato durante el transporte del vivero al campo, protegen las raíces de daños mecánicos y alargan el periodo de plantación gracias a una velocidad de colonización más elevada (Riedacker, 1986). En plantaciones bajo condiciones particularmente limitantes (zona semiárida, terrenos intensamente degradados), la incertidumbre de los resultados y el coste que supone la reposición de marras, fácilmente justificarían el uso de contenedores más caros si su eficacia estuviera justificada.

El volumen, la profundidad y el tamaño de boca del contenedor se relacionan con el tamaño de la planta y su supervivencia en campo (Landis *et al.*, 1990; Domínguez-Lerena *et al.*, 1997; Trubat *et al.*, 2004). La mayor cantidad de agua y nutrientes disponibles en contenedores de mayores dimensiones suele proporcionar plantas más grandes, y mayores tasas de crecimiento y supervivencia (Landis, 1984; Peñuelas, 2000; Chirino *et al.*, 2008). Sin embargo, la mayoría de estudios sobre el efecto de diferentes tipos de contenedores sobre la morfología de brinzales y su comportamiento en el campo se centra en la comparativa entre contenedores que difieren en diversos parámetros simultáneamente (dimensión de la boca, profundidad, morfología, materiales), por lo que se hace difícil identificar qué características de los contenedores son más relevantes.

Algunos autores han observado que para un mismo volumen de contenedor, sería más importante el diámetro del mismo que la altura (Romero *et al.*, 1986). En un estudio previo, diseñamos contenedores a partir de un mismo modelo (*Superleach*®), variando sistemáticamente el diámetro de boca y la altura (3 niveles en cada caso), obteniendo 9 volúmenes de contenedor diferentes (Fig. 1; Trubat *et al.*, 2004). En ellos plantamos brinzales de *Pistacia lentiscus*. La biomasa de los plantones incrementó con la profundidad, y especialmente con la anchura de los contenedores. Las dimensiones medias (i.e., cercanas a 47 mm de boca, 19 cm de profundidad y 330 cm³ de volumen) proporcionaron los mejores resultados de campo a corto plazo (Anexo I).

Tabla 1: Dimensiones de los 9 tipos de contenedores (M1 a M9) resultantes de manipular contenedores del tipo *Superleach*.

MODELOS	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Diámetro boca (mm)	35	35	35	47	47	47	56	56	56
Altura (cm)	14	19	24	14	19	24	14	19	24
Volumen (cm ³)	135	183	230	243	330	416	345	468	590

En relación con las dimensiones de los contenedores, cabe mencionar que la normativa de la Conselleria de Medio Ambiente de la Generalitat Valenciana establece un volumen mínimo de 150-300 cm³ para plantas resinosa de 1 savia, 225-350 cm³ para plantas resinosa de 2 savias, 200-400 cm³ para plantas frondosa de una savia, y 350-550 cm³ para plantas frondosa de dos savias. Además recomienda una altura mínima útil de 130 mm y una superficie de boca mayor de 13,5 cm² (DOGV 2780 28/06/1996), recomendaciones similares a las presentadas por diversos especialistas (Montoya y Cámara, 1986; Peñuelas, 2000), y algo menores que las propuestas por CEMAGREF (un mínimo de 400 cm³ y 25 cm² de sección; Argillier *et al.*, 1991).



Figura 1: Brinzales de *Pistacia lentiscus* sembrados en 9 Modelos de contenedores *Superleach* modificados, que corresponden a los modelos descritos en la Tabla 1.

Un factor que ha recibido menos atención que las dimensiones de los contenedores es la distancia entre alvéolos adyacentes. Sin embargo, el espaciamiento sería la tercera variable más importante en la conformación de contenedores, por detrás de volumen y profundidad (Peñuelas, 2000). Existen evidencias de que en algunas especies, una mayor distancia entre alvéolos mejora la calidad de la planta, permitiendo un mayor peso seco, menor esbeltez, y menor cociente biomasa aérea/biomasa subterránea (Landis, 1984; Trubat *et al.*, 2004). Por otra parte, la mayor separación entre los plantones evitaría efectos de sombreo entre ellos y mejoraría las condiciones de endurecimiento, al exponer las hojas a la radiación directa (Fig. 2). Entre los principales inconvenientes de un elevado espaciado de los

brinzales se encuentra un excesivo desarrollo de la parte aérea y, especialmente, el coste que supone la ocupación de una mayor superficie de vivero.

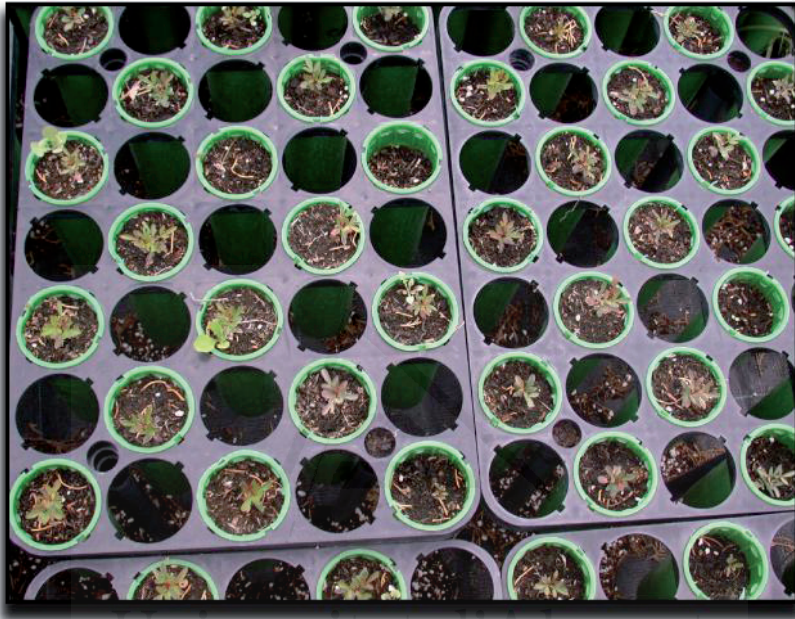


Figura 2: Brinzales de *Pistacia lentiscus* sembrados al tresbolillo.

Los sustratos deben tener suficiente consistencia como para producir un cepellón firme, que facilite los trabajos de plantación, y evite el desmoronamiento del mismo y la desecación de las raíces. Las plantas cultivadas en contenedor disponen de un volumen de sustrato limitado, lo que obliga a efectuar riegos y aplicaciones de fertilizantes frecuentes. Por ello, es necesario utilizar sustratos porosos con capacidad de retención de agua a tensiones muy bajas. Las características óptimas de estos sustratos son: porosidad alrededor del 80%, agua fácilmente asimilable entre 20 y 30%, y capacidad de aireación entre 20 y 30% (Ansorena, 1994). El principal tipo de sustrato utilizado actualmente en viveros es la turba rubia

mezclada con diferentes proporciones de otros sustratos. Debido a su escasez y precio, sustratos como la perlita, la vermiculita y la arena, está siendo sustituidos, en los últimos años, por materiales alternativos, como los residuos ganaderos o de la industria agroalimentaria, residuos de la industria forestal (como la corteza de pino), fibra de coco y residuos orgánicos como los lodos de depuradora (Biel *et al.*, 2006). Según el destino y la demanda de grado de calidad de planta que se emplee, el viverista deberá elegir qué herramientas de las mencionadas anteriormente utilizará.

La calidad de planta es un concepto amplio, dependiente de múltiples factores. Podemos entender el significado de este término como el conjunto de características morfológicas y fisiológicas que están cuantitativamente relacionadas con un desarrollo óptimo (supervivencia y crecimiento) en un ambiente determinado, y que cumplen los objetivos definidos en un plan de restauración (Duryea, 1985). Sin embargo, no existe un único modelo de calidad ideal para cada especie. Una calidad de planta determinada puede ser válida para ciertos objetivos de restauración, pero no para otros (Landis, 1985; Villar-Salvador, 2003). La manipulación de la calidad de planta constituye una de las opciones fundamentales para aumentar el éxito de una reforestación (Puértolas *et al.*, 2003; Oliet *et al.*, 2004; Vilagrosa *et al.*, 2005). La calidad de la planta viene determinada por un conjunto de características morfológicas y fisiológicas, siendo el resultado de la combinación de la calidad genética, sanitaria, morfológica y fisiológica (Fig. 3; Landis, 1985). La gestión de la calidad de la planta también tiene una vertiente económica, ya que una buena calidad de planta contribuye a evitar la reposición de marras.

La calidad genética hace referencia al origen de la semilla u otros materiales de reproducción a partir de los cuales se obtiene el brinjal. La necesidad de responder a la demanda de material de reproducción de calidad, que se adapte a las características ecológicas del lugar donde se empleará, y que garantice la diversidad

genética futura de la masa forestal ha motivado que diversas organizaciones internacionales hayan desarrollado normas relativas a la comercialización de semilla de especies forestales con la finalidad de proteger el suelo.



Figura 3: Diagrama que representa las variables cuya interacción determina la calidad de la planta forestal.

La calidad sanitaria se refiere a la presencia de agentes patógenos que pueden mermar el desarrollo de la planta y el de otras plantas presentes en la zona restaurada (Peñuelas y Ocaña, 2000). La calidad morfológica está relacionada con un conjunto de caracteres relacionados con la forma y estructura de la planta o alguna de sus partes. Los caracteres morfológicos de naturaleza cuantitativa son

empleados habitualmente en el control de calidad de los lotes de plantas o en estudios científicos. Dentro de estos atributos están, entre otros, la altura y el diámetro del tallo, y la acumulación de biomasa aérea y radicular (Mexal y Landis, 1990; Puttonen, 1997). La importancia de los atributos morfológicos, especialmente la altura y el diámetro del tallo, sobre la respuesta post-trasplante ha recibido mucha atención en los últimos años. Existe una tendencia, cada vez más generalizada, a considerar las variables morfológicas como indicadores de la supervivencia en el campo, por estar a menudo correlacionadas con ésta (Ritchie, 1984; Mexal y Landis, 1990; Puértolas *et al.*, 2003; Villar-Salvador, 2003; Trubat *et al.*, 2010). Reflejo de ello, es la normativa de calidad de planta de la Unión Europea y sus correspondientes transposiciones (RD 1356/1998, BOE 153, 27 de junio de 1998) en la que se define la altura y el diámetro del tallo que deben cumplir los lotes de plantas de especies forestales comunes para ser considerados de calidad cabal y comercial (Pemán *et al.*, 2000).

Las variables utilizadas para estimar la calidad fisiológica de las plantas pueden ser divididas en dos categorías; variables de estado y de respuesta. Las variables de estado más utilizadas son la concentración de nutrientes y la concentración de carbohidratos de reserva en tejidos foliares. De todos los macronutrientes, el N es, probablemente, el que con más frecuencia limita el crecimiento de las plantas. Al igual que sucede con el contenido de nutrientes, las reservas de carbohidratos juegan un papel fundamental en el desarrollo de la planta en campo, especialmente en la fase de arraigo. Durante este período, cuando la actividad fotosintética está interrumpida por la descompensación hídrica derivada de la depresión temporal del funcionamiento del sistema radicular, los carbohidratos de reserva se movilizan (Marshall, 1985).

Los atributos fisiológicos de respuesta evalúan el comportamiento de la planta al ser sometida a determinadas condiciones ambientales. Dichos atributos se pueden definir como atributos de síntesis, ya que poseen la capacidad de integrar varios caracteres morfo-fisiológicos (Burdett, 1990). Son pruebas que analizan la capacidad de formación de nuevas raíces, o la resistencia de una planta como respuesta a una situación de estrés (Simpson *et al.*, 1994; Grossnickle, 2000). Para poder superar la fase post-trasplante, la planta tiene que promover el rápido crecimiento de raíces que favorezca el contacto con el suelo y restablezca el equilibrio hídrico de la planta (Burdett, 1990). En este sentido, varios estudios han demostrado la existencia de una relación positiva entre el potencial de crecimiento de nuevas raíces y la supervivencia en el campo (80% de los estudios analizados; McKay, 1999). El Potencial de Crecimiento Radicular (RGP), entendido como la capacidad de una planta para producir nuevas raíces bajo condiciones ambientales óptimas, es un buen indicador del vigor de la misma y de su potencial supervivencia tras la plantación (Ritchie y Dunlap, 1980; Ritchie y Tanaka, 1990). Es seguramente el atributo de comportamiento más utilizado, e incluso ha sido integrado en protocolos de clasificación de lotes de planta de calidad (Grossnickle, 2000).

Universidad de Alicante



Figura 4: Raíces nuevas producidas por un brinzal de *Pistacia lentiscus* 21 días después de haber sido sometido a condiciones óptimas de temperatura y riego (izquierda), en una cámara semi-controlada (derecha).

La interpretación de los resultados de este tipo de tests debe hacerse con prudencia, debido a que unas condiciones normalizadas no pueden recoger el amplio rango de variabilidad que se producen en situaciones naturales, especialmente en zonas áridas (Sutton, 1979).

Tabla 2: Atributos funcionales y tests de respuesta empleados para controlar la calidad de plantas forestales (Villar-Salvador, 2003).

<i>Atributos morfológicos</i>	<i>Atributos fisiológicos de estado</i>	<i>Atributos fisiológicos de respuesta</i>
<p><u>Cualitativos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ·Plantas con heridas no cicatrizadas ·Plantas parcialmente o totalmente secas ·Tallos con curvaturas ·Tallos múltiples ·Tallos con muchas guías ·Tallos y ramas con parada vegetativa incompleta ·Tallos desprovistos de una yema terminal sana ·Inexistencia de ramificaciones ·Follaje reciente y cuello de raíz dañado <p><u>Cuantitativos</u></p> <ul style="list-style-type: none"> ·Altura de la parte aérea ·Diámetro del cuello de la raíz ·Biomasa aérea y radicular ·Esbeltez del tallo ·Proporción entre la biomasa aérea y radicular ·Índice de Dickson * ·Longitud de las yemas 	<ul style="list-style-type: none"> ·Concentración de nutrientes ·Concentración de carbohidratos de reserva ·Letargo de yemas terminales ·Fluorescencia de pigmentos fotosintéticos ·Liberación de electrolitos en raíces finas ·Conductancia estomática y tasa de fotosíntesis ·Termografía foliar por infrarrojos ·Emisión de compuestos volátiles inducidos por estrés ·Estimación del vigor con colorantes vitales ·Concentración de clorofilas ·Potencial hídrico 	<ul style="list-style-type: none"> ·Potencial de formación de nuevas raíces (RGP) ·Resistencia a las heladas ·Resistencia a la desecación

$$\text{QI} = \frac{\text{peso seco total (g)}}{\frac{\text{altura tallo (cm)}}{\text{diámetro tallo (mm)}} + \frac{\text{peso seco tallo (g)}}{\text{peso seco raíces (g)}}}$$

En los últimos años, investigadores y viveristas han explorado la manera de mejorar la calidad de la planta mediante técnicas de cultivo en vivero. Estudios basados en variables morfológicas, análisis de nutrientes y carbohidratos, tests de respuesta o aplicando distintas técnicas de endurecimiento, ya sea por frío, nutrición, hídrico o almacenamiento (Mena-Petite *et al.*, 2006; Vilagrosa *et al.*, 2006; Trubat *et al.*, 2008). La mejora de supervivencia en los últimos años justifica la necesidad de prolongar el estudio de esta herramienta (Villar-salvador, 2003). Las propiedades que deben caracterizar una planta idónea para su introducción en medios semiáridos aún no han sido definidos, y probablemente su definición dependa en gran parte de la especie implicada y de su estrategia ecológica. La identificación de qué características morfo-funcionales óptimas del plantón para cada uno de los hábitats a restaurar es donde parece que reside la principal dificultad. En ambientes mediterráneos parece que los atributos morfológicos de la planta muestran una baja capacidad de predicción de la respuesta en condiciones de campo. Esto sugiere que otros factores tienen la misma o más importancia que la calidad de la planta en la fase de establecimiento. Estos factores pueden ser, por ejemplo, el clima del año de plantación, el tipo de preparación del suelo, la fertilidad del suelo y la competencia. Uno de los aspectos que tiene mayor incidencia sobre la fase de establecimiento es la viabilidad y funcionalidad del sistema radicular. Una vez plantado, el brinjal debe recuperarse del posible estrés sufrido durante su manejo, estableciendo contacto entre sus raíces y el suelo; eso le permitirá retomar rápidamente las funciones de absorción de agua y

nutrientes. En climas secos existe una tendencia a valorar positivamente a las plantas tengan una proporción baja entre el tamaño de la parte aérea y la radical. Existen evidencias de que las plantas con menor PA/PR pueden mantener un mejor estado hídrico con un consumo más moderado de agua en situaciones de deficiencia hídrica (Stewart y Bernier, 1995). Al igual que sucede con otros atributos como la altura, no existe un PA/PR idóneo universal que garantice un mejor desarrollo en campo.

Uno de los factores primordiales en el éxito de una plantación es el *shock* post-trasplante supone un importante filtro para el establecimiento de los brinzales (Burdett, 1990). El trasplante genera una situación de estrés en la planta: se modifica la temperatura y la radiación a la que estaba sometida, se limita el aporte de agua del que disfrutaba en vivero y la planta puede ser objeto de daños mecánicos. Si la transpiración supera la absorción radical se altera el balance hídrico, lo que puede conllevar cierre estomático y reducción de la fotosíntesis. Se asume que el final de un estrés de trasplante tiene lugar cuando los atributos fisiológicos retornan a un nivel normal (Hierro *et al.*, 2005).

Para prevenir o atenuar el efecto del shock post-trasplante se puede promover mecanismos de resistencia al factor de estrés, sometiendo a la planta a dosis sub-letales del mismo (Levitt, 1980). Esta técnica se denomina endurecimiento. Los tres principales tipos de endurecimiento son: endurecimiento por estrés hídrico, endurecimiento por reducción de la fertilización y endurecimiento por bajas temperaturas. Frente al estrés hídrico las plantas perennes muestran dos tipos de estrategias. (i) La estrategia de evitar el estrés, que se basa en mecanismos que impiden que el contenido de agua en la planta se reduzca. (ii) La estrategia de tolerancia a la desecación de los tejidos. El endurecimiento hídrico se basa en que los procesos fisiológicos esenciales se mantengan relativamente poco afectados cuando se produzca una deshidratación de los tejidos. Una planta

sometida a endurecimiento hídrico debería incrementar su resistencia mediante mecanismos de tolerancia o a través de mecanismos para evitarlos (Vilagrosa *et al.*, 2006).

La interacción entre nutrición, especialmente nitrogenada, y endurecimiento, ha recibido cierta atención en coníferas de climas fríos. Sin embargo, la utilización de la fertilización para promover la resistencia al estrés hídrico ha recibido poca atención en especies mediterráneas. Diversos estudios han mostrado que altos aportes de N pueden retrasar y reducir el grado de endurecimiento al frío (Aronson, 1980; Levitt, 1980), mientras que otros muestran que no tiene efecto o incluso mejora la resistencia a este tipo de estrés (Hawkins *et al.*, 1995; Rikala y Repo, 1997). En climas con fuertes limitaciones hídricas, una reducción del aporte de N al final de la fase de cultivo puede ser beneficiosa, ya que genera un menor crecimiento de la parte aérea y, por lo tanto, una reducción del consumo de agua (Vilagrosa *et al.*, 2006). Aunque se han realizado diversos estudios para evaluar el uso del endurecimiento para mejorar la calidad de la planta, queda por definir la duración y la intensidad óptimas de éste, y la adaptación de las técnicas de endurecimiento en función de la especie y de su estrategia de resistencia a situaciones de estrés (Trubat *et al.*, 2010; Vilagrosa *et al.*, 2006).

3. Manipulación de la planta forestal mediante el régimen nutricional

La fertilización es, después del riego, la práctica que más directamente influye en el desarrollo de las plantas en vivero (Peñuelas y Ocaña, 2000). La disponibilidad de nutrientes regula el crecimiento y la asignación de biomasa a las diferentes partes de la planta (Fig. 5). La relación entre la concentración de un nutriente esencial en los tejidos vegetales y el crecimiento de la planta da lugar a fenómenos de deficiencia, consumo de lujo o toxicidad. Cada

especie tiene unos requerimientos particulares de nutrientes, que le permiten un crecimiento y vigor óptimos. Estos requerimientos cambian a lo largo del desarrollo ontogénico (Birchler *et al.*, 1998).



Figura 5: Brinzales de *Tetraclinis articulata* cultivados bajo distintos regímenes de fertilización (izquierda). De izquierda a derecha: fertilizante de liberación lenta, fertirrigación estándar, endurecimiento nutricional (reducción del aporte de N en un 40% un mes antes de la plantación), supresión de micronutrientes, reducción del 50% de la concentración de la solución control, supresión de fósforo y supresión de nitrógeno. En la imagen de la derecha se muestran brinzales de *Pistacia lentiscus* con fertirrigación estándar (fondo) y privados de N (frente).

Según Arnon y Stout (1939), un elemento es esencial para los vegetales (i) si su carencia hace imposible que se completen las fases vegetativas o reproductoras que componen el ciclo vital de la planta, (ii) si la deficiencia es específica y no puede ser prevenida o corregida más que con el aporte de este elemento, y (iii) si el elemento está relacionado con la nutrición de la planta (Marschner, 1985). Todos los nutrientes esenciales son imprescindibles para el mantenimiento de las estructuras y de las funciones vitales de la planta. No obstante los macronutrientes primarios, nitrógeno, fósforo y potasio, constituyen

el 75% del contenido de nutrientes de un tejido vegetal (Landis, 1997).

El N es el macroelemento más abundante y mejor relacionado con el crecimiento en vivero, siendo parte constituyente de muchos compuestos vitales para el desarrollo de la planta, como la clorofila, los aminoácidos y las proteínas. La concentración de N en hojas está relacionada con la capacidad de recuperación de la actividad tras la plantación, a través de una mayor eficiencia fotosintética (Folk *et al.*, 1996). Este aspecto es de particular importancia cuando el estrés hídrico post-trasplante provoca un descenso de la conductancia estomática. Sin embargo, un exceso de N también podría afectar negativamente al comportamiento de las plantas. La absorción de nutrientes en vivero suele ser elevada, ya que las condiciones del medio de crecimiento, tales como la temperatura, la humedad y el pH, propician una rápida absorción de iones. La absorción de N es la más susceptible de alcanzar niveles de consumo excesivos durante la fase de crecimiento rápido en vivero, cuando se emplean niveles altos de fertilización. En estos casos, los efectos de un exceso de N se pueden manifestar en diferentes aspectos de la fisiología de la planta. Algunos atributos fisiológicos relacionados con la tolerancia no selectiva a diversas formas de estrés se pueden perder o pueden disminuir como consecuencia de un exceso de nitrógeno (Tan y Hogan, 1997; Fløistad y Kohmann, 2004). En segundo lugar, incrementos de N por encima de ciertos niveles pueden conducir a desequilibrios entre las partes aérea y radical de la planta. Finalmente, si el aumento del aporte de N no va acompañado del aumento de otros nutrientes, se puede llegar a provocar la dilución de éstos (Grossnickle, 2000), lo que puede conllevar desequilibrios nutricionales y una disminución de la acumulación de carbohidratos de reserva (Marshall, 1985). Los síntomas de deficiencia del nitrógeno (Fig. 6) incluyen clorosis y reducción del crecimiento, que puede ir acompañada de una disminución del tamaño de las células fotosintéticas y de un aumento del grosor de las paredes celulares

(Wild y Jones, 1992). Además de la dosis de N suministrada, el tipo de fuente de nitrógeno utilizada puede ser de gran importancia. Las plantas pueden absorber este elemento en forma de nitrato (NO_3^-) o de amonio (NH_4^+), aunque la preferencia por una u otra fuente es una característica de cada especie (Grossnickle, 2000). Existe escasa información sobre la preferencia de especies leñosas mediterráneas por las diferentes fuentes de N, a pesar de la importancia de este aspecto en el desarrollo de los fertilizantes. Experimentos en curso sugieren que *Quercus ilex* tendría preferencia por el N en forma de nitrato (P. Villar, Universidad de Alcalá, España, comunicación personal).

El fósforo interviene decisivamente junto con el nitrógeno en el crecimiento y desarrollo de la planta, ya que forma parte de moléculas esenciales como el ATP o los ácidos nucleicos, y tiene un papel regulador en la síntesis de almidón y otros carbohidratos. Asimismo, es parte esencial de moléculas que participan en la fotosíntesis, la respiración y otros procesos metabólicos. En cuanto a su efecto sobre la morfología de la planta, el fósforo estimula el desarrollo del sistema radical frente al aéreo (Salisbury y Ross, 1994). Además, otros trabajos han observado una relación positiva entre la concentración de P y la producción de nuevas raíces (Domínguez-Lerena *et al.*, 2000). Los síntomas de deficiencia del fósforo son extremadamente variables entre especies, lo que dificulta el diagnóstico visual de la deficiencia de este nutriente. Uno de los primeros síntomas de deficiencia del P es una coloración morada de las hojas (Fig. 6 y 7). Igualmente, un síntoma habitual en plantas con deficiencia de P es la disminución del crecimiento y la reducción de la longitud de entrenudos del tallo (Salisbury y Ross, 1994).

El potasio, después del nitrógeno, es el elemento esencial requerido en mayores cantidades por la planta, y posee importantes funciones metabólicas. El papel más conocido de este elemento, en parte por la abundancia de cationes K^+ libres, es en el ajuste osmótico,

contribuyendo a la mejora de la tolerancia de la planta al estrés hídrico y a las bajas temperaturas (Salisbury y Ross, 1994). Estas propiedades confieren a dicho elemento una importancia esencial en el proceso de arraigo (Oliet *et al.*, 2006).

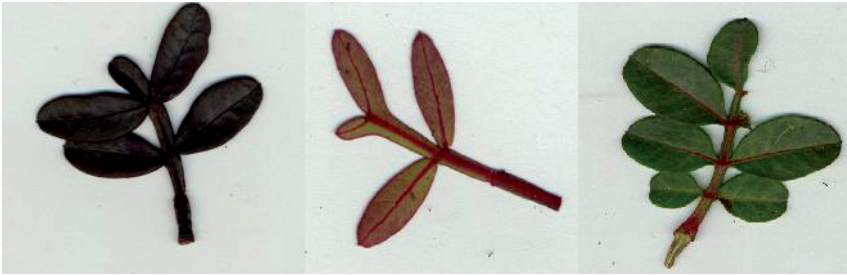


Figura 6: Hojas de *Pistacia lentiscus* sometidas a diferentes regímenes de fertilización. De izquierda a derecha: deficiencia de P, deficiencia de N y nutrición óptima.



Figura 7: Brinzales de *Quercus coccifera* sometidos a deficiencia de nitrógeno (izquierda) y solución estándar (derecha).

El crecimiento de los brinzales depende no sólo de la cantidad de macroelementos disponibles, sino también de la proporción existente entre ellos (Tabla 2). La proporción entre los elementos minerales esenciales es específica para cada especie y para las diferentes etapas de crecimiento (Landis, 1989). El exceso de determinados iones en la solución nutritiva puede afectar a la utilización y captación de otros nutrientes por la planta, y puede afectar al mismo tiempo al pH del medio de crecimiento.

Como sucede para muchos atributos de calidad de planta, la capacidad de predecir la respuesta en campo de brinzales, a partir del estado nutricional es un asunto muy debatido (Oliet *et al.*, 2006). Los resultados obtenidos son, en muchos casos, contradictorios, siendo difícil determinar un patrón general de respuesta. Por ejemplo, el N produce cambios muy acusados en los caracteres

morfo-funcionales de la planta. La combinación de diferentes caracteres puede suponer un aumento de la supervivencia, en la medida en que el efecto positivo de una mayor y más rápida extensión radical sea más decisivo que el efecto negativo de, por ejemplo, la disminución de la resistencia al estrés, la reducción de las reservas de carbohidratos o el aumento de la superficie transpirante (Oliet *et al.*, 2006). El P suele ser el elemento más limitante en muchos suelos mediterráneos, especialmente sobre sustratos básicos (Sardans y Peñuelas, 2005), por lo que las reservas de este nutriente en la planta de vivero pueden condicionar su respuesta post-trasplante (Trubat *et al.*, 2004). En el caso del K, se han presentado resultados contradictorios (van den Driessche, 1992). Esto es debido, en parte, a que su papel en el crecimiento es menos marcado que el del nitrógeno y el fósforo, no formando parte de las estructuras de la planta. Por ello, su efecto sobre la morfología de la planta o sobre la posible dilución y demanda de otros nutrientes no suele ser evidente dentro de los niveles habituales de ensayo (Oliet *et al.*, 2006). La mayor demanda de potasio tiene lugar al final del cultivo, en la fase de inicio del endurecimiento, momento en que la planta acumula este elemento, independientemente de su disponibilidad (Fernández *et al.*, 2003).

El efecto de la fertilización varía en función de la cantidad de nutrientes, de su proporción y del calendario de aplicación (Ingstad, 1997; Ågren, 1988). A causa del fuerte efecto que suele provocar la fertilización en el crecimiento de las plantas, los niveles de nutrientes tradicionalmente se ajustan para las diferentes etapas de crecimiento de la planta: la *fase de establecimiento*, que comprende la germinación y el crecimiento de la plántula, la *fase de crecimiento rápido*, cuando las plantas crecen a una tasa exponencial y la *fase de endurecimiento*, que comienza cuando las plantas tienen formadas sus yemas terminales y el crecimiento de la parte aérea cesa, pero el diámetro basal y el crecimiento de la raíz aumenta (Landis, 1989). Varios autores han recomendado una fertilización de N moderada

durante la fase de establecimiento, elevados niveles durante la fase de crecimiento, y bajos niveles de N durante la fase de endurecimiento. Sin embargo otros autores introducen otras prácticas nutricionales como la fertilización exponencial, que se establece a partir del concepto del “estado regular de nutrientes”, según el cual las plantas deben crecer con una concentración interna de nutrientes constante, libres de estrés nutricional (Ingestad y Lund, 1986).

Lo mismo que sucede con las reservas de nutrientes minerales (ver arriba, atributos fisiológicos), las reservas de carbohidratos acumuladas en vivero tienen un papel fundamental en el arraigo post-trasplante (Marshall, 1985). La acumulación de reservas en vivero tiene lugar en la última parte de la fase de crecimiento (Duryea y McClain, 1984), y se ve favorecida por aquellos tratamientos que favorecen el balance producción/consumo. Sin embargo, hay que tener en cuenta que, a diferencia de lo que ocurre con los nutrientes, los carbohidratos acumulados antes de la plantación sólo son determinantes durante el periodo de estrés post-trasplante, ya que una vez restablecida la actividad fotosintética, la planta puede producirlos de nuevo. Por ello, se ha observado en frondosas mediterráneas un descenso de la acumulación de carbohidratos con un aumento de la fertilización, ya que ésta promueve el crecimiento y, por tanto, la demanda de asimilados a expensas del almacén de reservas (Sanz *et al.*, 2005).

Tabla 2: Rangos de variación de concentración de nutrientes en hojas (mg g^{-1}) en brinzales de un año de *Quercus suber*, *Quercus coccifera* y *Pistacia lentiscus*.

	<i>Quercus suber</i>		<i>Quercus coccifera</i>		<i>Pistacia lentiscus</i>	
	N	P	N	P	N	P
Orgeas <i>et al.</i> , 2002	10.6-16	0.9-1.6	-	-	-	-
Trubat <i>et al.</i> , 2008/2010	12.9	0.6	13.5-15	0.4-0.5	12.9-13.5	0.5-0.7
Navarro <i>et al.</i> , 2004	9.5	0.7	-	-	-	-
Spetch, 1988	15.3	0.8	9-13.5	0.7-0.8	-	-
Robert <i>et al.</i> , 1996	16	1.6	-	-	-	-
De Lillis y Fontanella, 1992	12-16.6	0.6-1.1	-	-	-	-
Dogan <i>et al.</i> , 2003	-	-	-	-	12	0.33
Querejeta <i>et al.</i> , 2007	-	-	-	-	8.6-9.2	0.2
Milla <i>et al.</i> , 2005	-	-	9.3	0.6	11.5	0.3
Papatheodorou y Stamou, 2004	-	-	12.8	0.8	-	-

La relación entre el estado nutricional y la respuesta en campo ha sido observada en coníferas (van den Driessche, 1984; Larsen *et al.*, 1988). En especies mediterráneas, las diferentes experiencias con niveles de fertilización contrastados muestran que el crecimiento en campo y la supervivencia suelen aumentar con el incremento del aporte de nutrientes (Oliet, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2000; Luis *et al.*, 2009) incluso bajo condiciones de estrés hídrico (van den Driessche, 1992). Aunque algunas experiencias muestran signo opuesto (Cortina *et al.*, 1997; Trubat *et al.*, 2008). Como se ha comentado anteriormente, el N es el elemento que produce cambios más acusados en la calidad de la planta. El rango de concentraciones de N foliar para el que se puede observar tasas de supervivencia contrastadas es bastante amplio (Oliet *et al.*, 2006). Igualmente, algunas experiencias en medios mediterráneos sugieren un efecto positivo del P sobre la supervivencia (Planelles, 2004; Oliet *et al.*, 2005). Sin embargo, algunos estudios llevados a cabo por la Fundación CEAM muestran que la relación entre la concentración foliar de N, P y K y el porcentaje de supervivencia varía en función de la especie y su estrategia ecológica, del tipo de suelo, del ombroclima y del termoclima de la estación (Valdecantos *et al.*, 2006).

4. Morfología y arquitectura del sistema radicular

La raíz lleva a cabo varias funciones básicas: absorción de agua y nutrientes, transporte de estos hasta el cuello de la raíz, anclaje, y en muchos casos almacenamiento de yemas, nutrientes, agua y sustancias de reserva. La funcionalidad del sistema radicular está condicionada por aspectos morfológicos, de arquitectura y topología. En general, el estudio de los sistemas radiculares se ha realizado teniendo en cuenta su morfología y, en especial, aspectos como la longitud, el diámetro, la biomasa, la relación biomasa aérea-radicular. Estos aspectos, si bien reflejan algunas de sus características, no nos permiten una evaluación completa de su

capacidad para ocupar y explotar los recursos del suelo. Estas propiedades las podemos analizar mediante el estudio de su arquitectura (Fitter *et al.*, 1991). Igualmente, ésta puede aportar información ecológica relevante sobre los posibles fenómenos que conllevan a la expresión de una determinada conformación espacial y estructural de los sistemas radiculares, frente a modificaciones producidas por la manipulación de las condiciones de cultivo o de la plantación.

En ambientes semiáridos las raíces profundas adquieren particular relevancia para evitar el estrés hídrico (Levitt, 1980) ya que permiten acceder a horizontes edáficos que se conservan húmedos durante la sequía estival (Canadell *et al.*, 1996). Es importante también poseer raíces laterales que permiten la exploración del suelo superficial, en el que se da una mayor acumulación de nutrientes y pueden retener el agua aportada por lluvias poco abundantes. Las raíces finas realizan principalmente la función absorbente de la raíz. En este contexto es particularmente relevante la longitud específica radicular (SRL). Este cociente entre la longitud de raíces y su peso, es una característica estructural que ha sido relacionada con la eficiencia de la exploración del suelo y la adquisición de agua y nutrientes (Ostonen *et al.*, 2007; Hernández *et al.*, 2010). También se ha definido como la relación entre el beneficio (longitud de la raíz) y el coste (peso seco de la raíz) (Fitter, 1991).

La configuración espacial del sistema radicular es responsable del patrón de exploración del suelo (Fitter y Stickland, 1991). La arquitectura de la raíz determina la capacidad para explorar sectores de mayor fertilidad a través de la respuesta de la actividad meristemática (Caldwell, 1994). Para el estudio de la arquitectura radicular, Fitter (1982) define los sistemas radiculares haciendo referencia a un concepto empleado en la descripción de estructuras ramificadas (Werner y Smart, 1973). Estos autores diseñaron un protocolo de clasificación topológica de redes diferenciadas, llamadas

redes de canales o redes de árbol. En este sentido, se define un sistema de ramificación como un árbol matemático con un patrón de ramificación trivalente, es decir, por cada punto de origen de una ramificación o nodo se tienen tres elementos o segmentos que surgen de este punto. El análisis topológico de los sistemas radiculares se realiza teniendo en cuenta la representación del árbol matemático. A partir del número de segmentos exteriores se determina la magnitud (μ) del sistema radicular. A cada segmento exterior se le asigna un valor de uno, de esta forma la suma del número de segmentos exteriores da como el resultado la magnitud (Fig. 8). La segunda variable utilizada para definir la topología radicular es la longitud, entendida como la distancia entre un segmento exterior y los siguientes segmentos de ramificación para cada una de las ramificaciones del sistema radicular. Se calcula contando el número de segmentos presentes en un trayecto determinado, desde el nodo hasta el último de los segmentos exteriores (Fig. 8). Para calcular la longitud total del recorrido (Pe) del sistema, se suman las longitudes de cada uno de los segmentos exteriores. La tercera variable es la altitud (a) que es el número de segmentos presentes en el recorrido más largo (Fig. 8 y 9).

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

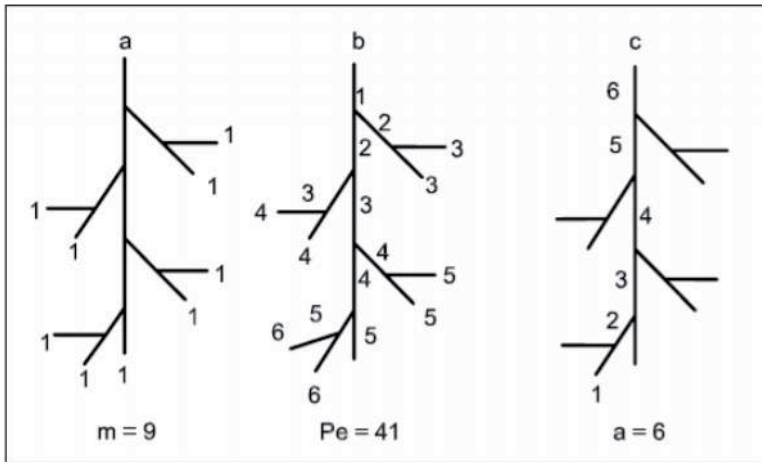


Figura 8: Determinación de los atributos topológicos según Fitter (1991). A la izquierda la magnitud (μ), la longitud total del recorrido (Pe) en el centro de la figura, y la altitud (a) a la derecha de la figura.

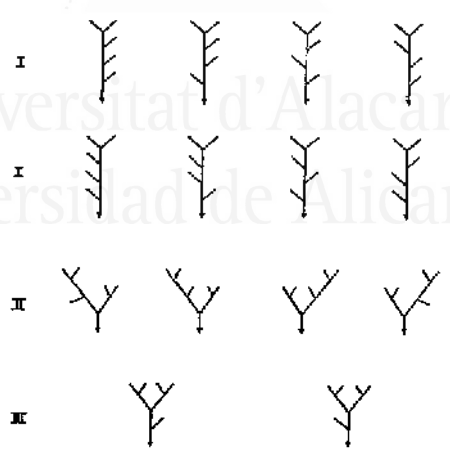


Figura 9: Las 14 redes de canales topológicamente distintas con una magnitud de 5 (Werner y Smart, 1973).

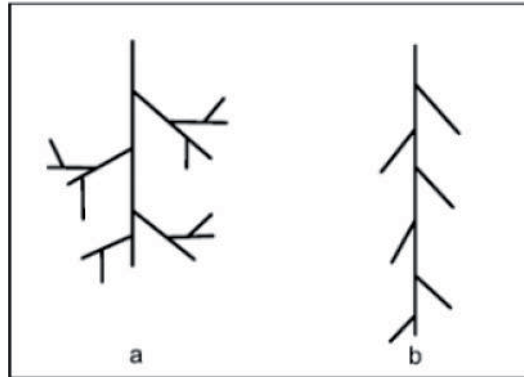


Figura 10: Sistema radicular dicotómico (a) y sistema radicular en espina de pez (b).

La longitud total del recorrido, la altitud y la magnitud no son independientes. Las tres variables se relacionan mediante las ecuaciones (Fitter, 1982):

$$p_e = 1.63\mu^{1.52} \quad (1)$$

$$a = 1.98\mu^{0.59} \quad (2)$$

A partir de las variables mencionadas se puede estimar el valor de longitud total del recorrido y altitud esperados para un sistema de una magnitud μ ($E(p_e)$ y $E(a)$, respectivamente) de acuerdo con un patrón de ramificación al azar, en el que cada meristema tiene igual probabilidad de ramificarse (Berntson, 1997):

$$E(p_e) = 2.17\mu^{1.42} \quad (3)$$

$$E(a) = 2.65\mu^{0.50} \quad (4)$$

Para una magnitud dada se pueden encontrar dos extremos de posibles topologías. En un extremo, el dicotómico (Fig. 10a), y en el otro, un patrón de ramificación denominado en espina de pez (Fig. 7b), aunque entre los dos extremos encontremos una amplia gama de topologías. Valores de longitud total del recorrido y altitud por encima de lo esperado por azar, corresponderían a una topología en forma de espina de pez, con elevada dominancia del meristema apical, mientras que valores inferiores indicarían una topología dicotómica.

El significado ecológico de los sistemas topológicos se establece en función de los costos de producción, y la eficacia de la obtención y transporte de los recursos presentes en el suelo. Los sistemas en espina de pez suelen permitir la exploración de un mayor volumen de suelo. Son raíces ventajosas en ambientes poco fértiles, al facilitar la captación de recursos muy móviles, como el agua o el nitrógeno (Fitter, 1987; Fitter, 1991). Los sistemas dicotómicos implican un menor costo de construcción y son más eficientes en el transporte de agua, pero menos eficientes en la adquisición de recursos móviles.

5. Capacidad de transporte de agua y arquitectura hidráulica

El rasgo climático más característico de los ecosistemas mediterráneos es la estacionalidad, con la existencia de un periodo de altas temperaturas y baja disponibilidad hídrica. El acceso al agua y la regulación de las pérdidas por transpiración afecta a la supervivencia y al crecimiento de las especies, principalmente en el estadio de plántula, ya que es cuando las limitaciones ambientales producen un efecto más intenso (Larcher, 1995; Vilagrosa *et al.*, 2005). Existen tres mecanismos por los cuales las plantas fueron capaces de colonizar el medio terrestre (Weatherley, 1976): un sistema de soporte y captación de agua del suelo (sistema radicular), un sistema de impermeabilización de las estructuras aéreas como las

hojas (cutículas), y por último, la génesis de un tejido conductor destinado a proveer de agua las distintas partes de la planta.

La capacidad de absorción de agua no sólo depende de la cantidad de raíces de la planta, sino de su morfología, de la profundidad a la que llegue el sistema radicular, del tipo de ramificación, del diseño del sistema conductor y de la capacidad de transporte del sistema (arquitectura hidráulica). La capacidad de transporte de agua viene determinada por las diferentes adaptaciones de las especies a la sequía (Tyree *et al.*, 1999; Villar-Salvador *et al.*, 1997; Nardini y Tyree, 1999). La arquitectura hidráulica se puede ver afectada por las condiciones de cultivo de la planta y, por lo tanto, se puede manipular mediante técnicas viverísticas (Vilagrosa, 2002; Trubat *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2009; Chirino *et al.*, 2011). En ambientes con fuertes limitaciones hídricas las plantas deben desarrollar estrategias que sean lo más eficientes posibles para mejorar la absorción y transporte de agua (Levitt, 1980). Entre todos los medios de que disponen para amortiguar el déficit hídrico, las plantas actúan de tres maneras posibles, que se combinan entre sí y actúan en distintos momentos: reducción de la superficie foliar, aumento de la profundidad de las raíces y actividad de los estomas (Joffre *et al.*, 2001). La respuesta de la superficie foliar permite a la planta superar las oscilaciones de baja frecuencia como los cambios de precipitaciones anuales. El sistema radicular amortigua las oscilaciones de mediana frecuencia como los cambios de distribución estacional de las precipitaciones y por último la actividad de los estomas permite optimizar el uso diario del agua. Cada uno de estos mecanismos está relacionado con el inmediatamente superior, desarrollando así una estrategia integrada en la cual la planta obtiene el equilibrio más apropiado de cada conjunto de condiciones.

El concepto de continuo suelo-planta-atmósfera (SPAC) analiza el flujo en las plantas como un proceso continuo desde el suelo hasta las hojas, donde tienen lugar los fenómenos de intercambio gaseoso

(fotosíntesis y transpiración). Para que el agua pueda ascender desde el suelo hasta las hojas a través de las raíces y tallos por los tejidos del xilema, es necesaria una fuerza motriz, La teoría de la tensión-cohesión proporciona una explicación del funcionamiento de este flujo (Böhm, 1893). Esta teoría postula que la cohesión de las moléculas de agua y las tensiones que se generan en la columna de agua son esenciales para la ascensión. En el transporte de agua intervienen dos factores, una fuerza conductora, que está originada por un gradiente de potencial entre el suelo y la atmósfera, y, en segundo lugar, la conductancia, que es inversamente proporcional a la resistencia que impone el xilema al paso del agua. La capacidad de transporte de agua por los vasos del xilema recibe el nombre de conductividad hidráulica (K_h). Esta variable mide el flujo de agua (Kg) para un determinado gradiente de presión (MPa) y unidad de tiempo. En términos prácticos, cuanto mayor sea esta variable, mayor será el abastecimiento de agua al resto de la planta. En este sentido, la conductividad hidráulica es la variable más utilizada para estudiar el transporte y la mecánica de los fluidos dentro de la planta. Como la conductividad hidráulica se ve influenciada por características anatómicas (por ejemplo, el tamaño de los vasos o área del xilema), comúnmente se utiliza la conductancia hidráulica específica (K_s), que se obtiene tras dividir la conductividad hidráulica (K_h) por el área de la sección transversal, conductora, del tallo. Normalmente para realizar estudios comparativos se estandariza la K_h en función de la superficie foliar (conductancia hidráulica específica foliar, K_L). Cuando se expresa la capacidad conductora de agua por la raíz se denomina conductancia hidráulica radicular (K_R) o en función de la superficie absorbente de la raíz (conductancia específica radicular, K_{RR})(Nardini *et al.*,1998).

En las últimas dos décadas se ha estudiado con mayor énfasis la conductividad hidráulica radicular. En condiciones de déficit hídrico y nutricional se han encontrado modificaciones de la conductividad no solo en el tallo, sino también en la raíz (Peterlunger *et al.*, 2000;

Trubat *et al.*, 2006; Hernández *et al.*, 2009). En tales casos, la restricción al paso del agua puede producirse por reducción del área xilemática, del grosor de los vasos del xilema o la arquitectura del sistema radicular. Incluso en una misma rama o en un sistema radicular, la resistencia al paso del agua puede aumentar ligeramente en la zona de los nudos de las ramas (Salleo *et al.*, 1985) o entre los nodos de las raíces (North *et al.*, 1992). La disminución de la capacidad de conducción del flujo se puede traducir en un menor tamaño de la planta (Bates y Lynch, 1996) y en menores tasas de consumo de agua. Una baja conductividad hidráulica producirá una disminución del potencial hídrico de la planta para una tasa de transpiración determinada, ya que el potencial hídrico foliar viene determinado por el potencial hídrico del suelo y la conductividad hidráulica desde las raíces hasta las hojas (Pallardy, 1989). Esto significa que a mayor K_n , menor será el gradiente de potencial experimentado por la planta y, por lo tanto, menor será el grado de estrés hídrico sufrido por la planta en términos de fijación de carbono, conductancia estomática o crecimiento (Nielsen y Orcutt, 1996).

Objetivos de la tesis doctoral

El presente trabajo se enmarca dentro de los proyectos *Selección de Procedencias y Producción de Planta en Vivero para la Restauración de la Cubierta Vegetal y el Control de la Erosión en Clima Semiárido* (Fundación CEAM) y *Conservation and Restoration of European Cork Oak Woodlands: a Unique Ecosystem in the Balance* (CREOAK; QLK5-CT-2002-01594). Su principal objetivo es evaluar el efecto de diferentes regímenes nutricionales sobre las características morfofuncionales de brinzales de especies leñosas mediterráneas, y determinar el impacto de estas prácticas sobre su establecimiento en el campo. Con ello, pretendemos explorar la relación entre la morfología, la fisiología y la respuesta en condiciones naturales de brinzales de especies leñosas. Para ello hemos elegido cinco especies

típicas de ambientes mediterráneos semiáridos del SE de la Península Ibérica (*Pistacia lentiscus* L., *Quercus coccifera* L., *Rhamnus lycioides* L., *Rhamnus alaternus* L. y *Tetraclinis articulata* Valh.) y una especie característica de ambiente seco-subhúmedo *Quercus suber* L., y hemos realizado diversos experimentos de laboratorio, vivero y campo. Los objetivos específicos planteados se pueden agrupar en dos bloques:

1. Evaluar las relaciones entre el estado nutricional de brinzales de especies leñosas mediterráneas (*Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Tetraclinis articulata*, *Rhamnus alaternus*, *Rhamnus lycioides* y *Quercus suber*), y su capacidad potencial y real de establecimiento en ambientes Mediterráneos.
 - 1.1. Evaluar la utilidad del endurecimiento nutricional para promover mecanismos de resistencia al estrés hídrico y reducir el shock post-trasplante.
 - 1.2. Evaluar la capacidad de establecimiento en el campo de cinco especies leñosas típicas de ambientes semiáridos (*Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Rhamnus lycioides*, *Rhamnus alaternus* y *Tetraclinis articulata*), y una de ambientes subhúmedos (*Quercus suber*) del E de la Península Ibérica sometidas a diferentes regímenes nutricionales. Explorar la relación entre variables morfológicas y funcionales, y éxito de las plantaciones.
 - 1.3. Determinar qué características morfo-funcionales promovidas por la fertilización facilitan la supervivencia tras el shock post-trasplante.
 - 1.4. Determinar si la respuesta a los tratamientos nutricionales es característica de cada especie.

- 1.5. Contribuir a establecer una definición de calidad óptima de brinzales para la restauración de zonas mediterráneas semiáridas.

2. Analizar los efectos de las deficiencias de nitrógeno y fósforo en la morfología, arquitectura y funcionalidad del sistema radicular de brinzales de *Pistacia lentiscus*.
 - 2.1. Determinar el impacto de la deficiencia de N y P sobre los patrones de asignación de biomasa, la morfología del sistema radicular y la capacidad de transporte de agua del sistema radicular de los brinzales de *Pistacia lentiscus*.

 - 2.2. Evaluar el efecto de diferentes niveles nutricionales sobre la topología del sistema radicular de brinzales de *Pistacia lentiscus*.

 - 2.3. Explorar la relación entre los diferentes niveles nutricionales, la arquitectura del sistema radicular y la capacidad de transporte del mismo, en brinzales de *Pistacia lentiscus*.

Estructura de la memoria de la tesis doctoral

La memoria de esta tesis está compuesta por ocho capítulos, incluyendo la Introducción (Capítulo 1). En los cinco capítulos siguientes (Capítulos 2 a 6) se presentan los resultados de los trabajos realizados para desarrollar los objetivos planteados. Estos capítulos corresponden a artículos ya publicados o en revisión en revistas especializadas.

En el Capítulo 2, **Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a semi-arid shrubland** se evalúa el efecto del estado nutricional de los brinzales de las cinco especies leñosas seleccionadas, propias de medios semiáridos, sobre su morfología, y comportamiento en el campo. En este trabajo se aborda la tarea de determinar cómo los diferentes estados nutricionales afectan a las características morfológicas de las especies y como la magnitud de estos cambios afecta al comportamiento en campo en ambiente semiárido. La hipótesis principal de este trabajo es evaluar si las plantas más pequeñas se verán favorecidas por las condiciones de los ambientes semiáridos comparadas con las plantas de más tamaño y más fertilizadas.

En el Capítulo 3, **Nursery fertilization affects seedling traits and field performance in *Quercus suber* L.** se analiza, como en capítulo anterior, el estado nutricional de brinzales de *Quercus suber* sometidos a diferentes regímenes nutricionales y cómo éstos afectan el comportamiento en campo en ambiente sub-húmedo, y teniendo como punto de partida los resultados del capítulo anterior, comparar los resultados en diferentes ambientes. La hipótesis principal de este trabajo es que los rasgos asociados al estrés nutricional, como la asignación de biomasa o cambios en la morfología de la raíz, pueden estimular la resistencia del brinzal a condiciones de estrés hídrico.

En el Capítulo 4, **Short- term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species**, el estudio se centra en el endurecimiento químico de brinzales de cinco especies mediterráneas y los efectos de éste en las características morfo-funcionales. A partir del endurecimiento se pretende mejorar el establecimiento de estas especies en ambiente semiárido, y evaluar si los cambios provocados son específicos de cada especie. La hipótesis principal de éste capítulo es que la disminución del aporte de nitrógeno en la fase final del cultivo en vivero puede mejorar el rendimiento de los brinzales bajo las condiciones en ambiente semiárido.

Capítulo 5, **Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.)**, El objetivo de esta parte del trabajo es analizar las consecuencias de las deficiencias de nitrógeno y fósforo sobre la morfología de la planta y la capacidad de transporte de agua por parte del sistema radicular para brinzales de *Pistacia lentiscus*.

En el Capítulo 6, **Root system architecture and water transport in *Pistacia lentiscus* seedlings subjected to contrasted nutrient availability**, en este capítulo se evalúa los cambios en la morfología y arquitectura radicular resultado de las deficiencias nutricionales de fósforo y nitrógeno, y la relación que pueda existir entre estos cambios y la capacidad de transporte de agua por la raíz. Este trabajo también explora qué aspectos de la arquitectura radical influyen en la capacidad de transporte de agua por parte de la raíz.

A continuación de los seis capítulos, se presenta el Capítulo 7, donde se recoge una síntesis de los principales resultados del trabajo y finalmente el Capítulo 8 donde se muestran las conclusiones finales del trabajo.

Referencias

- Ågren, G.I. 1988. Ideal nutrient productivities and nutrient proportions in plant growth. *Plant Cell Environment* 11: 613-620.
- Ansorena, J. 1994. Sustratos, propiedades y caracterización. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.
- Argillier, C., Falconnet, G., Gruez, J. 1991. Guide technique du forestier méditerranéen français. Chapitre 6 : production de plants forestiers . CEMAGREF AIX EN PROVENCE FMAX
- Arnon, D. I., Stout, P.R. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology* 14:371-375.
- Aronson, A. 1980. Frost hardiness in Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) *Studia Forestalia Suecica* 155: 1- 27.
- Bates, T.R., Lynch, J.P. 1996. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant, Cell Environment* 19: 529-538.
- Berntson, G.M. 1997. Topological scaling and plant root system architecture: developmental and functional hierarchies. *New Phytologist* 135: 621- 634.
- Bertness, M.G., Callaway, R.M. 1994. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 191-193.
- Biel, C., Savé, R., Verdaguer, D., Peñuelas, J.L. 2006. Nuevas tecnologías de producción de plantas en vivero. In: Cortina J. et al. (ed) *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos*, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, 2006, pp. 141- 159.
- Birchler, T., Rose, R., Rose, A., Pardos, M. 1998. La planta ideal: revisión del concepto parámetros definitorios e implantación práctica. *Investigación agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 7: 109-121.
- Böhm, J. 1893. Kapillarität und Saftsteigen. *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 11: 506-515.
- Bradshaw, A. D. 1983. The reconstruction of ecosystems. *Journal of Applied Ecology* 20: 1-17.
- Bradshaw, A.D., Chadwick, M.J. 1988. Restauració de terres. Diputació de Barcelona, Servei de Medi Ambient. Barcelona.

- Burdett, A.N. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal Forest Research* 20: 415-427.
- Caldwell, M. 1994. Exploiting nutrients in fertile soil microsites. In *Ecophysiological processes above and below ground*. Ed: M Caldwell, RP Percy, Acad Press. San Diego, pp. 325-347.
- Canadell, J., Jackson, R.B., Ehleringer, J.R., Mooney, H.A., Sala, O.E., Schulze, E-D. 1996. Maximum rooting depth of vegetation types at the global scale. *Oecologia* 4: 583-595.
- Chavasse, C.G.R. 1980. Planting stock quality: a review of factors affecting performance. *New Zeland. Journal Forestry* 25: 144-171.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Hernández., Vallejo, V.R. 2008. Effects of the use of deep container on morpho-functional characteristics of *Quercus suber* L. seedling for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology Management* 256: 779-785.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Vallejo, V.R. Using hidrogel and clay to improve the water status of seedlings for dryland restoration. *Plant Soil* 344: 99-110.
- Cortina, J., Bellot, J., Vilagrosa, A., Caturla, R., Maestre, F., Rubio, E., Martínez, J.M., Bonet, A. 2004. Restauración en semiárido. In *Avances en el estudio de la Gestión del Monte Mediterráneo*. (V.R. Vallejo y J.A. Alloza, Eds.), pp. 345-406. Fundación CEAM, Valencia.
- Cortina, J., Maestre, F.T., Vallejo, V.R., Baeza, J., Valdecantos, A., Perez-Devesa. M. 2006. Ecosystem function and restoration success: are they related? *Journal for Nature Conservation* 14: 152-160.
- Cortina, J., Navarro, R.M., del Campo, A. 2006. Evaluación del éxito de la reintroducción de especies leñosas en ambientes mediterráneos, in: Cortina J. et al. (Eds.), *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos*. Estado actual de conocimientos, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, pp. 67-88.
- Cortina, J., Valdecantos, A, Seva J.P., Vilagrosa, A., Bellot J, Vallejo, V.R. 1997. Relación tamaños supervivencia en plantones de especies arbustivas mediterráneas producidos en vivero. *Actas del II Congreso Forestal Español. Mesa 3*. Pamplona, Gobierno de Navarra, pp. 159-164.

- Costa Tenoiro, M., García Anton, M., Morla Juaristi, C., Sainz Ollero, H. 1990. La evolución de los Bosques de la Península Ibérica: una interpretación basada en datos paleobiogeográficos. *Ecología, Fuera de Serie* 1: 31-58.
- Cross, A.F., Schlesinger, W.H. 1999. Plant regulation of soil nutrient distribution in the northern Chihuahuan Desert. *Plant Ecology* 145: 11-25.
- De Lillis, M. Fontanella, A. 1992. Comparative phenology and growth in different species of the Mediterranean maquis of Central Italy. *Vegetatio* 99-100: 83-96.
- Dogan, O., Baslar, S., Aydin, H., Mert, H.H. 2003. A study of the soil-plant interactions of *Pistacia lentiscus* L. distributed in the western Anatolian part of Turkey. *Acta Botanica Croatica* 62: 73-88.
- Domínguez-Lerena, S., Carrasco, I., Herrero, N., Ocaña, L., Nicolás, J.L., Peñuelas, J.L. 2000. Las características de los contenedores influyen en la supervivencia y crecimiento en campo de las plantas de *Pinus pinea* en campo. En 1er Simposio del pino piñonero (*Pinus pinea*), Vol. I. Páginas 203-209, Valladolid.
- Domínguez-Lerena, S., Herrero, N., carrasco, I., Ocaña, L., Peñuelas, J.L. 1997. Ensayo de diferentes tipos de contenedores para *Quercus ilex*, *Pinus halepensis*, *pinus pinaster* y *pinus pinea*: resultados en vivero. *Actas del II Congreso forestal español*. Pamplona.
- Duryea, M.L., McClain, K.M. 1984. Seedling physiology and reforestation succes. Nijhoff/Junk Pub. Pp 77-114.
- Duryea, M.L. 1985. Evaluating seedling quality : Principles, Procedures, and Predictive Abilities of Major trees. Forest. Rest. Lab., Oregon State Univ., Corvallis.
- Fernández, M., Royo, A., Gil, I., Pardos, J.A. 2003. Effects of temperatura on growth and stress hardening development of phytotron-grown seedlings of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.). *Annals Forest Science* 60: 277-284.
- Fitter, A.H. 1987. An architectural approach to the comparative ecology of plant systems. *New Phytol* 106 (Suppl.): 61-67.

- Fitter, A.H. 1982. Morphometric analysis of root systems: application of the technique and influence of soil fertility on root system development in two herbaceous species. *Plant Cell Environment* 5: 313-322.
- Fitter, H.A. 1991. The ecological significance of root system architecture; an economic approach. In: Atkinson, D. (Ed.), *Plant Root Growth: an Ecological Perspective*. Blackwell, Oxford, pp. 229-243.
- Fitter, H.A., Stickland, T.R. 1991. Architectural analysis of plant root systems 2. Influence of nutrient supply on architecture in contrasting plant species. *New Phytologist* 118: 383-389.
- Fitter, A.H., Stickland, T.R., Harvey, M.L., Wilson, G.W. 1991. Architectural analysis of plant root systems. I. Architectural correlates of exploitation efficiency. *New Phytologist* 118: 375-382.
- Fløistad, I.S., Kohmann, K. 2004. Influence of nutrient supply on spring frost hardiness and time of bud break in Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings. *New Forests* 27: 1-11.
- Folk, R.S., Grossnickle, S.C., Arnott, J.T., Mitchell, A.K., Puttonen, P. 1996. Water relations, gas exchange and morphological development of fall and spring planted yellow cypress seedlings. *Forest Ecology Management* 81: 197-213.
- Foster, B.L. 2002. Constraints on colonization and species richness along a grassland productivity gradient: the role of propagule availability. *Ecology Letters* 4: 530-535.
- García-Fayos, P., Verdú, M. 1998. Soil seed bank, factors controlling germination and establishment of a Mediterranean shrub: *Pistacia lentiscus* L.. *Acta Oecologica* 19: 357-366.
- Grossnickle, S.C. 2000. *Ecophysiology of Northern Spruce Species: The performance of Planted Seedlings*. NCR Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 409 p.
- Hawkins, B. J., Davradou, M., Pier, D., Shortt, R. 1995. Frost hardiness and winter photosynthesis of *Thuja plicata* and *Pseudotsuga menziesii* seedlings grown at three rates of nitrogen and phosphorus supply. *Canadian Journal of Forest Research* 25: 18-28.
- Hernández, E.I., Vilagrosa, A., Luis, V.C., Llorca, M., Chirino, E., Vallejo, V.R. 2009. Root hydraulic conductance, gas exchange and leaf water potential in seedlings of *Pistacia lentiscus* L. and

- Quercus suber* L. grown under different conditions of fertilization and light regimes. *Environmental Experimental Botany* 67:269–27.
- Hernández, E.I., Vilagrosa, A., Pausas, J.G., Bellot, J. 2010. Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology* 207: 233-244.
- Hierro, R.S., Navarro, R.M., Pemán, J. 2005. La calidad de las repoblaciones forestales: una aproximación desde la silvicultura y la ecofisiología. *Investigaciones Agrarias: Sistema Recursos Forestales* 14: 462-481.
- Hulbert, S.H. 1997. Functional importance vs. keystone-ness: reformulating some questions in theoretical biocenology. *Australian Journal Ecology* 22: 369-382.
- Ingestad, T. 1997. A shift of paradigm is needed in plant science. *Physiologia Plantarum* 101: 446-450.
- Ingestad, T., Lund, A.-B. 1986. Theory and techniques for steady state mineral nutrition and growth of plants. *Scandinavian Journal Forest Research* 1: 439-453.
- Joffre, R., Rambal, S., Winkel, T. 2001. Respuestas de las plantas mediterráneas a la limitación de agua: desde la hoja hasta el dosel. Páginas: 37-85 En: R. Zamora y F. I. Pugnaire, edit. *Aspectos funcionales de los ecosistemas mediterráneos*. CSIC-AEET, Granada.
- Landis, T.D., 1984. The container tree nursery manual. Vol. 2: Containers and growing media. Ch. 1 Containers: Types and Functions. Pp. 1-39. USDA FS.
- Landis, T.D. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality. In: Duryea ML, editor. *Proceedings: evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests*; 1984 Oct. 16-18; Corvallis, OR. Corvallis (OR): Forest Research Laboratory, Oregon State University. pp 29-48.
- Landis, T. 1997. Monitoring seedling nutrition in bareroot and container nurseries. En: Haase, D.L.; Rose, R. (Eds.). *Forest seedling nutrition from the nursery to the field*. Symposium Proceedings. NTC. Oregon State University: pp 69-83.
- Landis, T.D., 1989. The container tree nursery manual. Vol. 4: Seedling nutrition and irrigation. USDA FS. *The Container Tree Nursery Manual*. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. 119 pp.

- Landis, T.D. Tinus, R.W., McDonald, S.E., Barnett, J.P. 1990. Containers and growing media, Vol. 2, The Container Tree Nursery Manual. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. 88 pp.
- Larcher, W. 1995. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Larsen, H.S., South, D.B., Boyer, J.N. 1988. Foliar nitrogen content at lifting correlates with early growth of Loblolly pine seedlings from twenty nurseries. *Southern Journal Applied Forestry* 12: 181-185.
- Lázaro, R., Rodrigo, F.S., Gutiérrez Carretero, L., Domingo, F. y Puigdefábregas, J. 2001. Analysis of a 30-year rainfall record (1967-1997) in semi-arid SE Spain for implications on vegetation. *Journal of Arid Environments* 48: 373-395.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses: chilling, reezing and high temperatures stresses. In TT Kozlowsky, ed, *Physiological Ecology: A Series of Monographs, Texts and Treatises*, Ed 2, Vol 1. Academic Press, New York, pp 23-64.
- Luis, V.C., Puértolas, J., Climent, J., Peters, J., González-Rodríguez, Á.M., Morales, D., Jiménez, M.S. 2009. Nursery fertilization enhances survival and physiological status in Canary Island pine (*Pinus canariensis*) seedlings planted in semiarid environment. *European Journal Forest Research* 128: 221-229.
- Maestre, F.T 2002. La restauración de la cubierta vegetal en zonas semia´ridas en función del patrón espacial de factores bióticos y abióticos. Ph.D. Thesis, University of Alicante, Spain.
- Maestre, F.T., Bautista, S., Cortina, J., Bellot, J. 2001. Potential of using facilitation by grasses to establish shrubs on a semiarid degraded steppe. *Ecological Applications* 11: 1651-1655.
- Maestre, F. T., Puche, M.D., Bowker, M.A., Hinojosa, M.B., Martínez, I., García-Palacios, P., Castillo, A.P., Soliveres, S., Luzuriaga, A.L., Sánchez, A.M., Carreira, J.A., Gallardo, A., Escudero. A. 2009. Shrub encroachment can reverse desertification in Mediterranean semiarid grasslands. *Ecology Letters* 12: 930–941.
- Marien, J.N., Drovin, G. 1978. Etudes sur les conteneurs a paroids rigides. *Annales des recherches sylvicoles. AFOCEL*.
- Marschner, H. 1985. Mineral nutrition of higher plants. London: Academic Press.
- Marshall, J.D. 1985. Carbohydrate status as an index of seedling quality. En: Duryea, M.(Ed.): *Evaluating seedling quality*.

- Principles, procedures and predictive abilities of major test. Forest Research Lab. Oregon State University. Corvallis. pp: 49-57.
- McKay, H.M. 1999. Root electrolyte leakage and root growth potential as indicators of spruce and larch establishment . *Silva Fennica* 32: 241-252.
- Mena-Petite, A., Lacuesta, M., Muñoz-Rueda, A. 2006. Ammonium assimilation in *Pinus radiata* seedlings: effects of storage treatments, transplanting stress and water regimes after planting under simulate field conditions. *Environmental Experimental Botany* 55: 1-14.
- Mexal, J.G, Landis, T.D. 1990. Target seedling concepts: Height and diameter. *Proceedings of the Target seedling Symposium*, pp. 17-35.
- Milla, R., Castro-Diez, P., Maestro-Martinez, M., Montserrat-Marti, G. 2005. Relationships between phenology and the remobilization of nitrogen, phosphorus and potassium in branches of eight Mediterranean evergreens. *New Phytologist* 168: 167–178.
- Miranda, J.D., Padilla, F.I. 2004. Sucesión y restauración en ambientes semiáridos. *Ecosistemas* 13: <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=162>.
- Montoya, J.M., Cámara M.ªC. 1996. La planta y el vivero forestal. Mundiprensa. Madrid. 127 pp.
- Nardini, A., Salleo, S., Lo Gullo, M.A. 1998. Root hydraulic conductance of six forest trees: possible adaptive significance of seasonal changes. *Plant Biosystem* 132: 97–104.
- Nardini A., Tyree, M.T. 1999. Root and shoot hydraulic conductance of *Quercus* species. *Annals Forest Science* 556: 371-377.
- Navarro, R.M., Fernández, P., Trapero, A., Caetano, P., Romero, M.A., Sánchez, I., López. 2004. Los procesos de decaimiento de encinas y alcornoques. Monografía. Convenio Consejería de Medio Ambiente-Universidad de Córdoba. Dirección General de Gestión del Medio Natural. Consejería de Medio Ambiente. Junta de Andalucía. 32 pp.
- Navarro, R.M., Pemán, J. 1997. Apuntes de producción de planta forestal. Universidad de Córdoba. 267 pp.
- Naveh, Z. 1982. Mediterranean landscape evolution and degradation as multivariate biofunctions: theoretical and practical implications. *Landscape Planning* 9: 125-146.

- Nielsen, E.T., Orcutt, D.M. 1996. Physiology of plants under stress. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- North, G.B., Ewers, F.W., Nobel, P.S. 1992. Main-root lateral root junctions of two desert succulents: changes in axial and radial components of hydraulic conductivity during drying. *American journal of Botany* 79: 1039-1050.
- Oliet, J., Planelles, R., Segura, M.L., Artero, F., Jacobs, D.F. 2004. Mineral nutrition and growth of containerized *Pinus halepensis* seedlings under controlled-release fertilizer. *Scientia Horticulturae* 103: 113-129.
- Oliet, J.A., Planelles, R., López, M., Artero, F. 1997. Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de *Pinus halepensis*. *Cuadernos de la SECF* 4: 69-79.
- Oliet, J., Planelles, Valverde, R., Artero, F. 2005. Resultados de 7 años de plantación de *Pinus halepensis* en medio semiárido en respuesta a la fertilización en vivero. *Actas IV Congreso Forestal Español*. Mesa 3: 599-605.
- Oliet, J.A., Valdecantos, A., Puértolas, J., Trubat, R. 2006. Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones. In: Cortina J. et al. (ed) *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos*. Estado actual de conocimientos, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, 2006, pp. 89-118.
- Orgeas, J., Ourcival, J.M., Bonin, G. 2002. Seasonal and spatial patterns of foliar nutrients in cork oak (*Quercus suber* L.) growing on siliceous soils in Provence (France). *Plant Ecology* 164: 201-211.
- Ostonen, I., Püttsepp, Ü., Biel, C. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystem* 141: 424-442.
- Pallardy, S.G. 1989. Hydraulic architecture and conductivity: an overview. In *Structural and Functional Responses to Environmental Stresses: Water Shortage*. Eds. K.H. Kreeb, H. Richter and T.M. Hinckley. SPB Academic Publ., The Hague, pp 3-19.
- Papatheodoru, E.M., Stamou, G.P. 2004. Nutrient attributes of tissues in relation to grazing in an evergreen sclerophyllous shrub (*Quercus coccifera* L.) dominating vegetation in Mediterranean-type ecosystems, *Journal Arid Environments* 59: 217-227.

- Pemán, J., Ribelles, M., Navarro, C.M. 2000. Repoblaciones forestales: Análisis del marco legal. Universidad de Lérida. Lérida. 300 pp.
- Peñuelas, J.L. 2000. Calidad de la planta forestal. Calidad genética, biológica, morfológica y fisiológica. Normas de calidad. Control. In: Estrategias de restauración forestal en la Región Mediterránea. IAMZ. Zaragoza.
- Peñuelas, J., Ocaña, L. 2000. Cultivo de Plantas Forestales en Contenedor. Madrid, España. Ediciones Mundi-Prensa. 190 p.
- Peterlunger, E., Buccella, A., Lacono, F. 2000. Physiological changes in grapevine during adjustment to water stress: ABA, leaf gas exchanges and root hydraulic conductivity. *Acta Horticulturae* 526: 201-208.
- Planelles, R. 2004. Efectos de la fertilización N-P-K en vivero sobre la calidad funcional de planta de *Ceratonia Siliqua* L. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 150 pp.
- Puértolas, J., Gil, L., Pardos, J.A. 2003. Effects of nutritional status and seedling size on field performance of *Pinus halepensis* planted on former arable land in the Mediterranean basin. *Forestry* 76: 159-168.
- Puttonen, P. 1997. Looking for the "silver bullet"- can one test do it all?. *New Forests* 13: 9-27.
- Querejeta, J.I., Allen, M.F., Alguacil, M.M., Roldan, A. 2007. Plant isotopic composition provides insight into mechanisms underlying growth stimulation by AM fungi in a semiarid environment. *Functional Plant Biology* 34: 683-691
- Riedacker, A. 1986. Production et plantation de plants a racines nues ou en conteneurs. *Revue Forestière Française* XXXVIII-3.
- Rikala, R., Repo, T. 1997. The effect of late summer fertilization on the frost hardening of second-year Scots pine seedlings. *New Forests* 14: 33-44.
- Ritchie, G.A. 1984. Assessing seedling quality. In M. Duryea, M.L. y Landis, T.D. (ed.), *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. The Hague: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk publishers, for Forest Research Lab. Oregon State University, Corvallis, USA, pp. 242-259.
- Ritchie, G. A., Dunlap, J.R. 1980. "Root growth potential: its development and expression in forest tree seedlings". *New Zealand Journal of Forestry Science* 10: 218-248.

- Ritchie E, G., Tanaka. Y. 1990. Root growth potential and the target seedling. En: Rose, R; S. J. Campbell, y Th. D. Landis (eds.). *Target Seedling Symposium: Proceedings, combined meeting of the Western Forest Nursery Associations; August 13-17; Roseburg, Oregon. Gen. Tech. Rep. RM-200. FT. Collins, CO: U.S. Department of Agriculture; Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. U.S.A., p. 37-51.*
- Robert, B., Caritat, A., Bertoni, G., Vilar, L., Molinas, M. 1996. Nutrient content and seasonal fluctuations in the leaf component of cork-oak (*Quercus suber* L.) litterfall. *Plant Ecology* 122: 29-35.
- Roldán, A., Querejeta, I., Albaladejo, J., Castillo, V. 1996. Survival and growth of *Pinus halepensis* Miller seedlings in a semi-arid environment after forest soil transfer, terracing and organic amendments. *Annales Sciences Forestieres* 53: 1099-1112.
- Romero, A.E., Ryder, J., Fisher J.T., Mexal J.G. 1986. Rooting system modification of container stock for arid land planting. *Forest Ecology Management* 16: 281-290.
- Salisbury, F.B., Ross, C.W. 1994. *Fisiología vegetal*. Editorial Iberoamérica. 759 pp.
- Salleo, S., Lo Gullo, M.A., Oliveri, F. 1985. Hydraulic parameters in 1-year-old twigs of some mediterranean species with diffuse-porous wood: changes in hydraulic conductivity and their possible functional significance. *Journal of Experimental Botany* 36: 1–11.
- Sanz, V., Castro, P., Valladares, F. 2005. Efectos de la disponibilidad de agua y nutrientes en el patrón de acumulación de carbohidratos en plántulas de tres especies de *Quercus*. *Cuadernos de la S.E.C.F.* 20: 129-134.
- Sardans, J., Peñuelas, J. 2005. Disponibilidad y uso del fósforo en los ecosistemas terrestres mediterráneos. *La inspiración de Margalef. Ecosistemas* 2005/1 (URL: http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=85&Id_Categoria=2&tipo=portada).
- Simpson, D.G., Thompson, C.F., Sutherland, C.D. 1994. Field performance potential of interior spruce seedlings: effects of stress treatments and prediction by root growth potential and needle conductance. *Canadian Journal Forest Research* 24: 576-586.
- Specht, R.L. 1988. Natural vegetation—ecomorphological characters. *In Mediterranean-Type Ecosystems: A Data Source*

- Book. Ed. R.L. Specht. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 14–61.
- South, D.B. 2000. Planting morphologically improved pine seedlings to increase survival and growth. Forestry and Wildlife Research Series Nº 1. Alabama Agricultural Experiment Station. Auburn University, Alabama. 12pp.
- Stewart, J.D., Bernier, P.Y. 1995. Gas exchange and water relations of three sizes of containerized *Picea mariana* seedlings subjected to atmospheric and edaphic water stress under controlled conditions. *Annales Sciences Forestières* 52: 1-9.
- Sutton, F.R. 1979. Planting stock quality and grading. *Forest Ecology Management* 2: 123-132.
- Tan, W., Hogan, G.D. 1997. Physiological and morphological responses to nitrogen limitation in jack pine seedlings: potential implications for drought tolerance. *New Forests* 14: 19-31.
- Thornes, J.B., Brandt, J. 1994. Erosion-vegetation competition in stochastic environment undergoing climatic change. In: *Environmental Change in Drylands: Biogeographical and Geomorphical Perspectives*. (Millington A.C., Pye K. Eds). Cap. 16. J. Wiley & Sons. London, pp. 205-220.
- Tomás, C., Esteve, M., Alonso, D., Valverde, D. 1996. Análisis de los efectos producidos por los mecanismos erosivos del suelo, según los usos del mismo. Recomendaciones para su prevención y control. Pages 11-45 in V.R. Vallejo, editor. *La restauración de la cubierta vegetal en la Comunidad Valenciana*. CEAM. España.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A., 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Cuadernos de la SECF* 17: 245-251.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). *Trees* 20: 334-339.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A., 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments* 72: 879- 890.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A., 2010. Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber* L. *Journal Arid Environments* 74: 491-497.

- Tyree, M.T., Salleo, S., Nardini, A., loGullo, M.A., Mosca, R. 1999. Refilling of embolized vessels in young stems of laurel. Do we need a new paradigm?. *Plant Physiology* 120: 11-21.
- Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R. 2006. Nutrient status and field performance of tree seedlings planted don Mediterranean degraded areas. *Annals Forest Science* 63: 1-8.
- van den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium treatments. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 740-749.
- van den Driessche, R. 1984. Relationship between spacing and nitrogen fertilization of seedlings in the nursery, seedling mineral nutrition, and outplanting performance. *Canadian Journal Forest Research* 14: 431-436.
- Vallejo, V.R., Alloza, J.A. 2004. (Eds.). *Avances en la gestión del monte mediterráneo*. Fundación CEAM, Valencia.
- Vilagrosa, A. 2002. Estrategias de resistencia al déficit hídrico en *Pistacia lentiscus* y *Quercus coccifera*. Implicaciones en la restauración forestal. Tesis doctoral. Universidad de Alicante.
- Vilagrosa, A., Cortina, J., Rubio, E., Trubat, R., Chirino, E., Gil-Pelegrín, E., Vallejo, V.R. 2005. El papel de la ecofisiología en la restauración de ecosistemas mediterráneos. *Investigaciones Agrarias Sistema Recursos Forestales* 14: 446-461.
- Vilagrosa, A., Villar-Salvador, P., and Puértolas, J. 2006. El endurecimiento en vivero de especies forestales mediterráneas In J. Cortina, J.L. Peñuelas, R. Savé, J. Puértolas, and A. Vilagros. *Assessing Morphological and Physiological Plant Quality for Mediterranean Woodland Restoration Projects* 120 (eds). Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos. DGB. Ministerio de Medio Ambiente, Serie forestal. Madrid, Spain, pp. 119-140.
- Villar-Salvador, P. 2003. Importancia de la calidad de la planta en los proyectos de revegetación. En: *Restauración de Ecosistemas en Ambientes Mediterráneos*. Rey-Benayas, J.M., Espigares Pinilla, T. y Nicolau Ibarra, J.M. (Eds.), Universidad de Alcalá /Asociación Española de Ecología Terrestre. Pp 65-86.
- Villar-Salvador, P., Domínguez-Lerena, S., Peñuelas, J.L., Carrasco, I., Herrero, N., Nicolás Peregón, J.L., Ocaña, L. 2000. Plantas grandes

- y mejor nutridas de *P. pinea* L. tienen mejor desarrollo en campo. 1er Simposio de Pino piñonero. Libro de actas. Tomo I: 219-227.
- Villar-Salvador, P., Ocaña, L., Peñuelas, J., Carrasco, I., Domínguez, S., Renilla, I. 1997. Relaciones hídricas y potencial de raíces en plántulas de *Pinus halepensis* Mill. Sometidas a diferentes niveles de endurecimiento por estrés hídrico. Cuadernos de la S.E.C.F. 4: 81-92.
- Weatherley, P.E. 1976. Introduction: water movement through plants. Phil. Trans. R. soc. Lond. B. 273: 435-444.
- Werner, C., Smart, J.S. 1973. Some new methods of topologic classification of channel networks. Geographical Analysis 5: 271-295.
- Whisenant, S. 1999. Repairing Damaged Wildlands. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wild, S.R., Jones, K.C. 1992. Organic chemicals entering agricultural soils in sewage sludges: screening for their potential to transfer to crop plants and livestock. Science Total Environment 119: 85-119.

CAPÍTULO 2

Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a degraded semi-arid shrubland

Roman Trubat, Jordi Cortina y Alberto Vilagrosa

Ecological Engineering 2011 72: 879-890

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Capítulo 2

La supresión de nutrientes mejora el comportamiento en campo de brinzales de especies leñosas en ambientes semiáridos.

Este capítulo reproduce íntegramente el texto del siguiente manuscrito:

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2011. Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a degraded semi-arid shrubland. *Ecological Engineering* 37: 1164-1173.

Resumen

El comportamiento de los brinzales plantados en ambientes secos viene condicionado por sus características morfológicas y fisiológicas. Algunos estudios recientes apoyan la teoría de una relación positiva entre la altura del brinzal y su supervivencia. Sin embargo, las excepciones a este paradigma sugieren que esta relación puede ser dependiente de la especie y del grado de estrés. Para testar esta hipótesis, en condiciones semiáridas, brinzales de cinco especies leñosas mediterráneas (*Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Rhamnus lycioides*, *Rhamnus alaternus* y *Tetraclinis articulata*) y bajo contrastados regímenes de fertilización fueron cultivados al aire libre. La solución nutritiva se aplicó dos veces por semana con una solución fertilizada estándar, una con solución sin nitrógeno y una sin fósforo. La fertilización tuvo un efecto significativo sobre el estado nutricional de los brinzales, sobre la acumulación de biomasa aérea y radicular. La relación biomasa aérea y biomasa radicular fue mayor en los brinzales con deficiencia de nitrógeno respecto a los otros tratamientos. Un año después de la plantación en ambiente semiárido, la supervivencia de los brinzales se correlacionó negativamente con el tamaño de los brinzales.

Aunque el efecto nutricional sobre el comportamiento en campo de los brinzales los brinzales disminuyó en los siguientes dos años. Estos resultados nos muestran que los brinzales privados de nitrógeno o fósforo tienen más probabilidades de supervivencia en ambientes semiáridos que los brinzales más fertilizados, sugiriendo las características morfológicas y funcionales asociados con la deficiencia de nutrientes puede tener más importancia que la escasez de reservas nutricionales.

Palabras clave: sequía, fertilización, regresión logística, estrés nutricional, calidad de planta



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a degraded semi-arid shrubland

Roman Trubat¹, Jordi Cortina¹, Alberto Vilagrosa²

¹Dept. d'Ecologia and Multidisciplinary Institute for Environmental Studies, Universitat d'Alacant, Ap. 99, 03080 Alacant

²Fundcion Centro de Estudios Ambientales del Mediterraneo (CEAM), Parque Tecnologico, C/Charles Darwin, 46980 Paterna, Spain

Abstract

The performance of planted seedlings in drylands is affected by seedling morphological and physiological traits. Recent studies support a positive relationship between seedling size and field performance. However, exceptions to this paradigm suggest that this relationship may be dependent on species and degree of stress. To test the hypothesis that small seedlings would be favored under harsh semi-arid conditions over large seedlings, we produced seedlings of five Mediterranean woody species (*Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Rhamnus lycioides*, *Rhamnus alaternus* and *Tetraclinis articulata*) under contrasted fertilization regimes, and evaluated their performance after planting in a semi-arid area. Seedlings were cultivated under full sunlight and received either slow release fertilizer or bi-weekly applications of complete nutrient solution, diluted fertirrigation, or nutrient solutions containing no nitrogen or no phosphorus. Fertilization had a strong effect on nutrient status, above and belowground biomass accumulation, and biomass allocation patterns. Root: shoot ratio was higher in nitrogen and phosphorus deficient seedlings than in seedlings receiving complete nutrient solution or slow-release fertilizer. One year after planting, seedling survival was negatively correlated with plant size for all species. The effect of nutritional regime on field survival decreased over the 2 following years. Our results show that nutrient-deprived seedlings are more likely to establish under semi-arid conditions than well fertilized seedlings, suggesting that

morphological and functional characteristics associated with nutrient deficiency may outbalance the scarcity of nutrient reserves in seedling tissues.

Keywords: Drought; Fertilization; Logistic regression; Nutrient stress; Seedling quality



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. Introduction

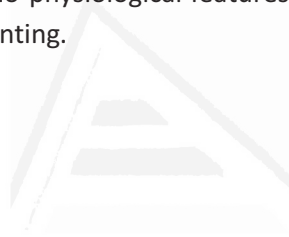
In arid and semi-arid areas, woody species frequently act as keystone species (*sensu* Hulbert, 1997), because they are positively associated with ecosystem functioning and community diversity whereas their cover is scarce (Whitford, 2002; Maestre and Cortina, 2004). Woody species have been intensely harvested, grazed and cleared in drylands worldwide, resulting in an overall reduction in cover (Le Houérou, 1986; Maestre and Cortina, 2003). Seedling recruitment, once anthropogenic pressure has stopped, is frequently too slow or absent (Martínez-Mena et al. 2002; Bonet and Pausas, 2004), increasing the risk of further land degradation. In degraded environments, planting seedlings of sprouting woody species represents a suitable alternative to foster succession and restore ecosystem integrity (Whisenant, 1999; Cortina et al. 2004).

The performance of planted seedlings is affected by various factors, such as environmental conditions, biotic interactions, and morphophysiological traits (South and Smith, 2000; Palacios et al., 2009). These factors are particularly important in drylands, as adverse environmental conditions exert a strong filter for seedling establishment (Maestre et al. 2003; Cortina et al. 2006). Morphophysiological traits are partly controlled by genetic origin (van Andel, 1998), but they can be modified by cultural practices such as sowing density, container size, irrigation and fertilization regimes (Vilagrosa et al. 2003a; Luis et al. 2004; Chirino et al. 2008). Nevertheless, there is currently no consensus on the optimum traits defining seedling quality in drylands (Cortina et al. 2006). In mesic environments, larger plants frequently show higher survival and growth in the field than smaller plants (Kormanik et al. 1997). The pattern may be similar in drylands (Oliet, et al., 2005; Luis et al 2009), but the literature shows several examples of neutral and negative relationships between seedling size and field performance, particularly under semi-arid conditions (Tuttle et al., 1988; Rose et al., 1993; Seva et al. 2000; Trubat et al. 2008).

Fertilization is a common nursery technique that strongly influences plant growth and modifies seedling morphological and physiological traits (Lambers and Poorter, 2004; Grossnickle, 2005; Olliet et al. 2006). Several studies have shown a positive relationship between nutritional status at planting and field performance (Puértolas et al. 2003; Milla et al. 2005; Luis et al. 2009). However, seedlings cultivated with low nutrient availability may be better prepared to drought because of their reduced size and leaf area, greater biomass allocation belowground, increased water-use efficiency and changes in xylem hydraulic architecture (Liu and Dickman, 1993; Forde and Lorenzo, 2001; Hernández et al. 2009). In fact, low growth rates are common in plants growing under nutrient and water stress (Chapin 1991). On the other hand, soil nitrogen availability is frequently low in degraded Mediterranean soils, and may limit seedling establishment (Martínez-Mena et al. 2002; Navarro et al., 2006a). Depletion of seedling N reserves could compromise seedling performance in the field (Cortina et al. 2009). But a reduction in N supply may increase the concentration of other nutrients in leaves, as potassium (Lee and Rudge, 1986). Nutrient hardening (i.e., the suppression of N inputs in late stages of seedling production) has shown promising results in semi-arid areas (Trubat et al. 2008). Effects of late- nitrogen deprivation, such as a reduction in water transport capacity (Ewers et al., 2000; Trubat et al., 2006), may also play a role in the water economy of N-limited plants by promoting a conservative use of water (Sperry, 2003).

Mediterranean species show contrasted strategies to cope with drought (Larcher, 1995; Vilagrosa et al. 2003b) and contrasted sensitivity to nutrient availability (Valdecantos et al. 2006). Some species and genotypes are less responsive to changes in resource supply than others (Coleman, 2007). Thus, the ability of seedlings receiving contrasted nutrient supply to withstand drought and establish under harsh field conditions will likely be species-specific (Cuesta et al. 2010).

The objective of the present work is to evaluate the effect of nutrient deficiency on the functional traits of seedlings of five Mediterranean woody species widely used in reforestation programs (Cortina et al., 2004; Vallejo et al., 2006), and to compare the performance of nutrient deficient seedlings with well fertilized seedlings after planting in a semi-arid degraded area. Our underlying hypothesis is that functional adjustments to nutrient stress outbalance the negative effect of nutrient deficiency, improving seedling capacity to withstand drought and their ability to establish under field conditions. To achieve the objectives, we grew seedlings of *Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Rhamnus alaternus*, *Rhamnus lyciodes* and *Tetraclinis articulata* under contrasted fertilization regimes, and evaluated their morpho-physiological features and field performance 1 and 2 years after planting.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

2. Materials and methods

2.1 Experimental design

Seedlings of *P. lentiscus* L. (Anacardiaceae), *Q. coccifera* L. (Fagaceae), *R. lycioides* L., *R. alaternus* L. (Rhamnaceae), and *T. articulata* (Valh) Masters Cupressaceae were grown in a nursery (Santa Faz, Alicante, SE Spain; 38°23'N, 0°26'E, 50 m elevation), under semi-arid climate, with a 30-year average annual precipitation and temperature of 353 mm and 18°C, respectively (Fig. 1).

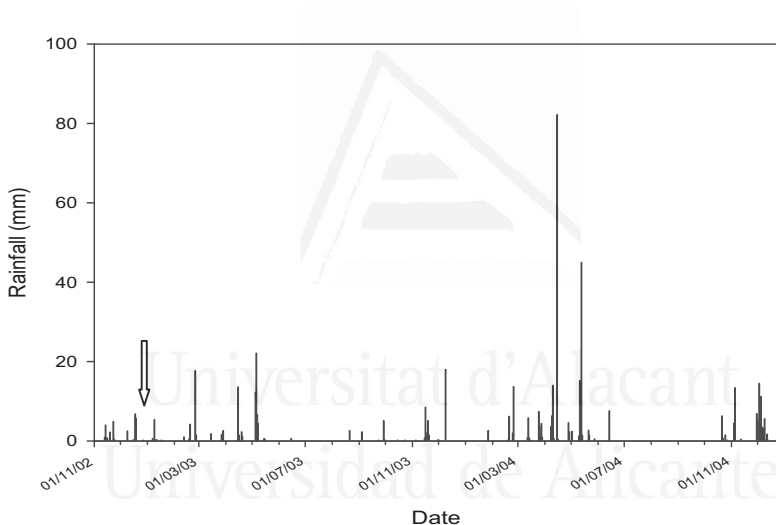


Figure 1: Rainfall events between November 2002 and December 2004 at the weather station nearest to the experimental area (Albatera, SE Spain). The arrow indicates the planting date.

The first four species are sprouting shrubs widespread in the western Mediterranean. In semi-arid steppes, they are considered keystone species affecting community composition and ecosystem function (Maestre and Cortina, 2003). *Tetraclinis articulata* is one of the few tree species that thrives in semi-arid SE Spain, where only a few small populations remain. They are all common species in the

Mediterranean basin and they are widely used in reforestation projects in SE Spain (Cortina et al., 2004; Vallejo et al., 2006; F. Gil, Regional Government of Valencia, personal communication).

Table 1: Composition of the nutrient solutions and the slow release fertilizer used in this study. Concentrations are in mg L⁻¹ and %, respectively.

	CON	NDF	PDF
KNO ₃	258		258
Ca(NO ₃) ₂ 4H ₂ O	689		698
NaH ₂ PO ₄ H ₂ O	356	356	
MgSO ₄ 7H ₂ O	570	570	570
KCl		191	
CaCO ₃		420	
SRF			
N total	14		
P ₂ O ₅	9		
K ₂ O	15		
MgO	2		

2.2 Morphological and physiological traits

We measured stem height, root collar diameter (RCD), leaf area, biomass accumulation, and foliar nutrient concentration at the end of the nursery period (February 2003). Measurements were taken in 10 randomly selected seedlings per species and treatment. Leaf area was measured by scanning the leaves (EPSON Expression 1680 Pro scanner with transparency adapter) and images were analyzed by means of specific software (WinRhizo, Régent Instruments Inc.,

Quebec, Canada). Biomass fractions were measured after drying at 65°C for 48 h. The root: shoot ratio (g g^{-1}) was calculated as the ratio between the root and the shoot dry weight. Specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) was calculated as the ratio between total leaf area and foliar dry weight. Dry leaves were ground in a ring mill and digested in a heating block at 250 °C with a mixture of H_2SO_4 and H_2O_2 (1:1, v/v). Total N concentration was determined by using semi-micro Kjeldahl distillation (Tecator Kjeltect Auto 1030 Analyzer, Hogana, Sweden), and P and K concentration by ICP spectrometry (Perkin Elmer Optima 3000, Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA).

Root growth potential (RGP) was measured in another 10 seedlings per species and treatment. *Tetraclinis articulata* was excluded from this analysis because of the lack of seedlings. Seedlings were transplanted to 3L PVC pots filled with vermiculite and watered with CON solution every two days. The growth chamber provided day conditions of 22°C for 16 h with a photosynthetic photon flux density of $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ and 18°C night temperature. The number of newly elongated white roots longer than 5 mm was recorded at the end of a 21-day period.

2.3 Field performance

On January 31st 2003, one 50m x 50m plot was established in a degraded area close to Albaterra (Alicante, SE Spain; 38°14'N, 0°56'E, 350 m a.s.l; 24° slope; 240° SW aspect). The area is covered with sparse vegetation and showed evidence of soil compaction and erosion. Thirty-five randomly selected seedlings per species and treatment were planted in 40 x 40cm x 40cm planting holes dug with a backhoe mounted on a spider tractor. Species and treatment distribution were also random. The climate of the experimental area is Mediterranean semi-arid, with a 30-year average annual precipitation and temperature of 277 mm and 18.2°C, respectively. Average annual rainfall and temperature in 2003 were 151 mm and 17.2°C, respectively. Soils are loam to silty loam, Lithic Calciorthiss (Soil Survey Staff, 1990). Seedling survival, stem height and root

collar diameter (RCD) were monitored in all seedlings before and after the summer of 2003, in winter 2004, and after summer 2004.

2.4 Statistical analyses

We used analysis of variance (ANOVA) to evaluate the effect of nutritional regime (fixed factor with five levels) on seedling traits and Student-Newman-Keuls test at $P < 0.05$ for pair-wise comparisons when results of the ANOVA were significant. All variables fulfilled ANOVA requirements of normality and homoscedasticity. The relationships between RGP and seedling survival, and RGP and RCD, were assessed by Pearson correlation analysis. Relationships between seedling size and seedling survival were analyzed using logistic regression. The regression coefficient (B) was transformed into the odds ratio to facilitate interpretation. Odds ratios were calculated as the probability of the event occurrence divided by the probability that the event would not occur: $(p_n)/(1 - p_n)$, where p_n is the probability of seedling survival. In this study, the odds ratio corresponds to the multiplicative factor that describes the increase in the probability of seedling survival when the independent variable (stem height) increases by one unit. The statistical significance of this parameter was evaluated with Wald's test (Hosmer and Lemeshow, 1989). Finally, comparisons of survival between CON seedlings and treated seedlings were performed using logistic regression analysis. All analyses were carried out with SPSS v.15.0 statistical package (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

3. Results

3.1 Nutrient status

Leaf N concentration ranged from 5 to 32 mg g⁻¹ (Table 2). *Rhamnus lycioides* and *T. articulata*, showed lower variability in N concentration in response to fertilization than the other species, as the differences between minimum and maximum concentration were

slightly higher than 100% in the former 2 species, and above 300% in the other species. *Rhamnus lycioides* showed the smallest relative changes in P concentration in response to fertilization, and *T. articulata* showed the highest variability. Foliar N and P concentration were strongly reduced in NDF and PDF seedlings, respectively. Foliar P concentration in NDF seedlings was significantly lower than in CON seedlings in *P. lentiscus*, *R. alaternus*, and *Q. coccifera*. The same trend was observed for the other two species, but the difference was not statistically significant. NDF seedlings showed an increase in foliar K which was statistically significant in *P. lentiscus*, *R. alaternus*, *Q. coccifera* and *R. lycioides*, and marginally significant in *T. articulata*. Seedlings receiving slow release fertilizer showed the highest N concentration in *P. lentiscus* and *Q. coccifera* but not in the other species. Slow release fertilizer decreased foliar P concentration as compared to CON seedlings in all species.

3.2 Seedling growth

Nutrient deprivation had a strong negative effect on seedling size (Table 3). Reductions in stem height in NDF seedlings ranged from 22% (*R. lycioides*) to 44% (*R. alaternus*) relative to CON seedlings. Seedlings receiving slow release fertilizer increased stem height compared to CON seedlings in all species but *Q. coccifera*. Root collar diameter showed a similar trend. *Rhamnus alaternus* showed the highest reduction in root collar diameter when N was removed from the nutrient solution (Table 3).

Fertilization showed a significant effect on the aboveground biomass, and biomass allocation patterns of the five species (Table 3). Changes in leaf area paralleled those in aboveground biomass. SLA decreased in NDF seedlings as compared to CON seedlings in *Q. coccifera*, *R. lycioides*, and *T. articulata*, but not in *P. lentiscus* where we observed the opposite trend. *Rhamnus alaternus* responded to SRF fertilization by increasing SLA. SRF application significantly enhanced

aboveground and belowground biomass in all species but *R. alaternus*, compared to the application of complete nutrient solution.

Despite the increase in root: shoot in NDF and PDF seedlings in all species but *R. alaternus*, root growth potential decreased in nutrient deficient seedlings as compared to seedlings receiving standard fertilization (Fig. 2). A decrease in RGP was observed in NDF and PDF seedlings compared to CON seedlings in *P. lentiscus*, *R. alaternus*, *Q. coccifera*, and *R. lycioides*. SRF promoted RGP in all species but *R. alaternus* and *R. lycioides*. The correlation between RGP and seedling size was highly significant for all species (*P. lentiscus* $r^2 = 0.788$; *R. alaternus* $r^2 = 0.629$; *Q. coccifera* $r^2 = 0.753$; *R. lycioides* $r^2 = 0.614$; $N = 10$ and $P < 0.05$ in all cases). The relationship between RGP and RCD showed a similar pattern (data not shown).

3.3 Field performance

Four months after planting seedling survival ranged between 60 and 100% (Fig. 3). Survival decreased to 18-79% after the first summer and to 2-54% after the second summer. The effect of nitrogen deficiency on seedling survival was evident after the first summer (October 2003) compared with other treatments in all species (Table 4). After the third summer (October 2005) only *P. lentiscus* showed a significant difference in survival rate between NDF and CON seedlings.

Table 2: Foliar nutrient concentration in seedlings of woody species growing in the nursery under a standard fertilization regime (CON), 50% reduction in nutrient supply (DEF), application of slow release fertilizer (SRF), and phosphorus (PDF) and nitrogen (NDF) deprivation. Data are means \pm S.E (n=10 plants). Asterisks indicate the statistical significance of ANOVA (* 0.05>P>0.01; ** 0.01>P>0.001 and *** P<0.001). Different letters indicate significant differences for a given species and nutrient at p<0.05.

Treatment	Nutrient	<i>P. lentiscus</i>	<i>R. alaternus</i>	<i>Q. coccifera</i>	<i>R. lycioides</i>	<i>T. articulata</i>
CON	N (mg g ⁻¹)	19 ±1.2a	32 ±2.0a	19 ±1.5b	17 ±1.3a	16 ±1.1a
	P (mg g ⁻¹)	6.4 ±0.5a	4.4 ±0.8a	3.8 ±0.5a	3.1 ±0.5a	6.1 ±0.9ab
	K (mg g ⁻¹)	8.3 ±0.5a	6.9 ±0.9a	5.4 ±0.3b	5.7 ±0.6a	8.1 ±1.4ab
DEF	N (mg g ⁻¹)	16 ±1.5a	12 ±1.2c	14 ±1.1b	13 ±1.2a	13 ±1.4b
	P (mg g ⁻¹)	3.8 ±0.3b	2.1 ±0.4b	3.4 ±0.3a	2.1 ±0.2a	3.2 ±1.4a
	K (mg g ⁻¹)	5.7 ±0.6b	3.9 ±0.4b	4.5 ±0.5c	4.1 ±0.3a	5.3 ±1.1a
SRF	N (mg g ⁻¹)	25 ±1.3a	24 ±2.1b	26 ±1.3a	13 ±1.0a	14 ±1.1b
	P (mg g ⁻¹)	2.7 ±0.3b	2.1 ±0.1b	2.5 ±0.1b	2.3 ±0.3a	3.3 ±0.2a
	K (mg g ⁻¹)	7.5 ±0.7ab	6.1 ±0.8c	7.5 ±0.7a	4.1 ±0.3a	7.3 ±0.7a
PDF	N (mg g ⁻¹)	22 ±1.6a	21 ±1.4b	12 ±1.2b	19 ±1.7a	16 ±1.3a
	P (mg g ⁻¹)	2.1 ±0.5c	1.6 ±0.1c	1.8 ±0.2b	1.6 ±0.8b	1.8 ±0.4c
	K (mg g ⁻¹)	6.1 ±0.9ab	5.2 ±0.4bc	4.2 ±0.5c	2.5 ±0.5b	6.7 ±0.6a
NDF	N (mg g ⁻¹)	6 ±1.0b	8 ±1.1c	5 ±1.0c	9 ±1.1b	7 ±2.1c
	P (mg g ⁻¹)	3.5 ±0.4b	2.8 ±0.4b	2.2 ±0.1b	2.6 ±0.1a	5.9 ±1.1b
	K (mg g ⁻¹)	7.8 ±0.5ab	3.9 ±0.5b	4.4 ±0.6c	5.6 ±0.2a	10.1 ±2.4b
F	N	4.8 ^{***}	33.8 ^{***}	33.6 ^{***}	7.1 ^{***}	7.1 ^{***}
	P	25.7 ^{***}	15.1 ^{***}	12.2 ^{***}	9.3 ^{***}	8.9 ^{***}
	K	3.1 [*]	13.7 ^{***}	4.32 ^{**}	7.5 ^{***}	6.2 ^{**}

Table 3: Morphological traits of seedlings of Mediterranean woody species growing under various fertilization regimes. See Table 1 for a description of the treatments. Data are means ± S.E. (n=10 plants). Asterisks indicate the statistical significance of ANOVA (* 0.05>P>0.01; ** 0.01>P>0.001 and ***

	Leaf dry weight (g)	Root dry weight (g)	Leaf area (cm ²)	Root: shoot	SLA (cm ² g ⁻¹)	Height (cm)	RCD (mm)
<i>Pistacia lentiscus</i>							
CON	1.14 ±0.06b	1.18 ±0.10b	37.55 ±2.35ab	0.72 ±0.08b	32.88 ±2.29ab	19.5 ±1.3	4.2 ±0.3c
DEF	1.09 ±0.10b	1.02 ±0.10b	29.96 ±4.58b	0.67 ±0.10b	28.17 ±1.58b	13.5 ±0.8c	3.4 ±0.2b
SRF	2.40 ±0.40a	2.57 ±0.29a	49.81 ±4.17a	0.76 ±0.07b	28.17 ±1.58b	24.8 ±0.9e	5.8 ±0.2d
PDF	0.25 ±0.10c	0.40 ±0.02c	8.63 ±1.13c	0.90 ±0.09a	34.03 ±1.76ab	7.7 ±0.5b	3.0 ±0.2b
NDF	0.10 ±0.01d	0.18 ±0.01d	4.78 ±0.85d	0.89 ±0.15a	57.05 ±1.168a	4.7 ±0.2a	1.6 ±0.1a
F	66.78***	151.29***	76.49***	5.44**	3.56*	145.87***	97.93***
<i>Rhamnus alaternus</i>							
CON	0.92 ±0.07a	0.86 ±0.10ab	81.30 ±7.60a	0.60 ±0.07c	90.56 ±9.25b	13.3 ±1.3c	3.0 ±0.2d
DEF	0.67 ±0.08b	0.66 ±0.08b	35.10 ±3.70b	0.65 ±0.07c	53.71 ±1.76c	11.0 ±1.0c	2.6 ±0.1c
SRF	0.94 ±0.07a	1.05 ±0.11a	97.80 ±4.74a	0.68 ±0.03c	107.20 ±5.43a	19.3 ±1.3d	3.8 ±0.2e
PDF	0.52 ±0.06b	0.13 ±0.01d	8.57 ±1.08c	0.81 ±0.03b	17.21 ±1.78d	4.2 ±0.3b	1.9 ±0.1b
NDF	0.11 ±0.01c	0.15 ±0.01d	5.61 ±0.40d	0.95 ±0.15a	50.43 ±1.76c	3.0 ±0.1a	1.2 ±0.1a
F	57.57***	53.67***	173.09***	18.07***	104.75***	84.43***	46.02***
<i>Quercus coccifera</i>							
CON	1.30 ±0.12b	4.52 ±0.66b	62.9 ±9.98b	2.08 ±0.21b	51.41 ±11.72a	17.3 ±1.3c	3.5 ±0.2b
DEF	0.87 ±0.10b	3.44 ±0.36c	49.6 ±4.50b	0.67 ±0.30a	59.15 ±4.52a	11.7 ±1.1b	3.2 ±0.2a
SRF	2.05 ±0.16a	7.30 ±0.49a	100.20 ±4.22a	0.42 ±0.08ab	50.63 ±2.74a	17.8 ±1.4c	3.7 ±0.2c
PDF	0.82 ±0.05b	4.10 ±0.26b	37.90 ±1.70c	0.64 ±0.15a	46.24 ±1.46ab	13.7 ±1.2b	3.4 ±0.1ab
NDF	0.48 ±0.17c	1.93 ±0.17d	13.10 ±2.05c	0.75 ±0.52a	35.17 ±7.20b	8.2 ±0.7a	3.0 ±0.2a
F	20.29***	20.99***	70.76***	4.38***	4.01***	13.18***	7.01***
<i>Rhamnus lycoides</i>							
CON	1.19 ±0.13b	0.92 ±0.12b	62.36 ±8.26cb	0.56 ±0.07b	54.11 ±17.11a	10.3 ±0.8b	2.3 ±0.1b
DEF	0.58 ±0.04c	0.89 ±0.07b	28.53 ±3.20c	0.71 ±0.08a	48.70 ±15.40a	9.1 ±0.6b	3.4 ±0.1b
SRF	2.65 ±0.20a	2.54 ±0.16a	97.30 ±4.77a	0.54 ±0.01b	37.81 ±11.96ab	21.5 ±1.7c	3.0 ±0.2c
PDF	0.15 ±0.05d	0.25 ±0.06c	5.38 ±0.75a	0.81 ±0.72a	48.70 ±15.40a	6.1 ±0.5a	1.4 ±0.1a
NDF	0.22 ±0.03d	0.26 ±0.03c	5.13 ±0.96d	0.75 ±0.03a	27.93 ±8.83b	4.5 ±0.3a	1.2 ±0.1a
F	84.09***	85.04***	135.21***	44.46***	4.05***	60.78***	51.95***
<i>Tetraclinis articulata</i>							
CON	0.31 ±0.06bc	0.22 ±0.05c	14.10 ±1.80b	0.66 ±0.16c	50.71 ±4.88a	9.8 ±0.6c	2.2 ±0.2b
DEF	±0.05bc	0.28 ±0.05c	18.61 ±1.74b	0.44 ±0.13c	31.12 ±0.84b	7.8 ±0.4b	2.1 ±0.1b
SRF	3.12 ±0.30a	3.30 ±0.19a	96.21 ±7.87a	0.84 ±0.05b	31.12 ±0.84b	16.1 ±1.1d	4.1 ±0.2c
PDF	0.29 ±0.03b	0.34 ±0.04b	9.13 ±1.20c	0.81 ±0.07b	31.30 ±1.44b	7.0 ±0.6b	1.7 ±0.1ab
NDF	0.10 ±0.01c	0.14 ±0.01d	3.05 ±0.40d	0.93 ±0.09a	28.32 ±1.80b	3.8 ±0.2a	1.4 ±0.1a
F	181.02***	113.87***	134.84***	13.81**	7.14***	58.24***	36.33***

P<0.001). Different letters indicate significant differences for a given species and nutrient at p<0.05.

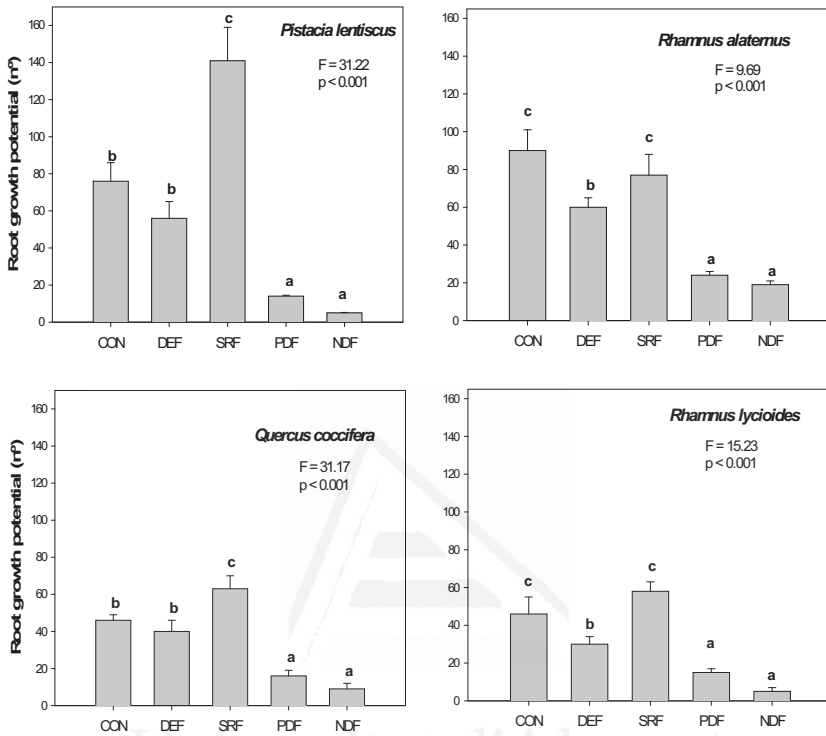


Figure 2: Root growth potential of *Pistacia lentiscus*, *Rhamnus alaternus*, *Quercus coccifera* and *Rhamnus lycioides* seedlings grown under a standard fertilization regime (CON), 50% reduction in nutrient supply (DEF), application of slow release fertilizer (SRF), and phosphorus (PDF) and nitrogen (NDF) deprivation. Data are means \pm S.E (N=10 plants). Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

Logistic regressions showed a significant increase in seedling mortality with plant size. There was a highly significant odds-ratio for all species (Fig. 5). *Tetraclinis articulata* showed the highest increases in mortality with seedling size, as denoted by the high value of the odds ratio. Logistic regressions also showed significant odds-ratios when each treatment was analyzed separately (data not shown).

4. Discussion

4.1 Fertilization and seedling traits

We found a strong effect of N and P deprivation on foliar nutrient concentration. Nitrogen concentration in NDF seedlings was close to levels of N deficiency described in Mediterranean species (Fernández-Escobar et al. 1999). All species showed similarities in the way they responded to contrasting nutrient availability, but there were substantial differences in the magnitude of such responses. Nitrogen and phosphorus deprivation resulted in an overall decrease in shoot and root biomass. The effect was stronger for aboveground biomass accumulation, as all species showed a significant increase in root: shoot ratio when N and P were removed from the nutrient solution. A shift in biomass allocation from shoots to roots is a well-documented response to nutrient limitation (Ingestad and Ågren, 1991; Poorter and Nagel, 2000), and may promote plant ability to access soil resources (Ingestad and Ågren, 1991) and improve water supply aboveground (Hernández et al. 2009). In contrast, changes in specific leaf area were highly dependent on species. The significant reduction in SLA with PDF in *R. alaternus*, *Q. coccifera*, *R. lycioides* and *T. articulata* may be a consequence of anatomical changes, such as reductions in cell diameter, increases in cell wall thickness and increases in the proportion of dense tissues (Castro-Díez et al. 1997). Increased biomass allocation belowground and decreased specific leaf area have been associated with a greater ability to withstand drought (Corcuera et al. 2002), as they may reduce water losses and increase seedling capacity to access soil water (Gratani and Bombelli, 2001).

4.2 Species-specific responses

Rhamnus alaternus and *P. lentiscus* showed the highest variability in stem height and RCD in response to changes in nutrient supply, whereas *Q. coccifera* was the least responsive species. Different responses to fertilization may be a result of interspecific

dissimilarities in nutrient transport and partitioning (Van de Dijk et al. 2006), morphological and anatomical structure (Mediavilla and Escudero, 2003), and nutrient resorption efficiency (Aerts and Chapin, 2000).

In addition, differences in species response to contrasted nutrient availability may be the result of differences in the amount of nutrients supplied by the seeds (Fenner, 1983; Jurado and Westoby, 1992; Wu et al. 2006). *Quercus coccifera* acorns were bigger than seeds from the other species tested (García-Fayos, 2001). Observations from another Mediterranean oak, *Quercus ilex*, suggest that nutrient reserves may supply seedling demands until the end of the first spring after germination (Villar-Salvador et al., 2010).

4.3 Root growth potential

New roots are critical for the establishment of woody seedlings in the field (Grossnickle, 2005) and there is a general consensus on the benefits of a high rooting capacity for seedling establishment in drylands (Lloret et al. 1999; Padilla and Pugnaire, 2007). Root growth potential tests (RGP) have been widely used to evaluate the effect of environmental stress on plant performance, and they have been recommended as an indicator of seedling vitality and stock quality (Simpson and Ritchie, 1997). Simpson and Ritchie (1997) suggested that the predictive ability of RGP increases with environmental stress, particularly in species with low resistance to stress. However, the use of RGP to predict seedling growth and survival in the field has been debated (Mohammed et al. 1997; L'Hirondelle et al. 2007) as several studies suggest that RGP does not necessarily reflect seedling ability to establish under harsh field conditions (Davis and Jacobs, 2005; Trubat et al. 2006). In the present study, RGP was positively correlated with shoot size in all species but *Q. coccifera*, suggesting that RGP could be a suitable indicator of seedling vitality under favorable environmental conditions. In contrast, the relationship between RGP and seedling performance in the field was opposite to

what was expected. We did not expect a direct negative effect of RGP on seedling performance in the field. As high RGP may be positive for seedling establishment, other traits covarying with RGP were probably responsible for the observed decrease in survival. Regardless of the causal relationship, our results show that RGP is a poor indicator of seedling performance under field conditions in semi-arid lands when other morpho-physiological traits are not taken into account.

4.4 Seedling traits and field performance

In Mediterranean areas, bigger seedlings commonly show higher survival and growth when planted in the field (Villar-Salvador et al., 2004; Oliet et al., 2005). But this relationship may be different in semiarid areas, where several studies have failed to find a positive relationship between seedling size and field survival (Cortina et al., 1997). The reasons for this may be related to the balance between root and foliar surface area (Trubat et al., 2006), and to the ability of seedlings to produce deep root systems before the onset of summer drought (Padilla and Pugnaire, 2007). Conceptual models describing the mechanisms that relate seedling size and N concentration with seedling survival in the field have been extensively discussed (Tan and Hogan, 1995; Villar-Salvador, 2003; Luis et al., 2009; Cuesta et al., 2010). But the increase in transpiration resulting from the increase in foliar surface area has received scarce attention. Decreases in leaf area commonly enhance convective heat loss and facilitate the maintenance of leaf energy balance. A reduction in leaf area may reduce transpiration rate in leaves exposed to high radiation, improving water use efficiency under drought (Miller and Stoner, 1979). Mediterranean plants may withstand drought by decreasing water losses and increasing water uptake and transport capacity to aboveground parts (Larcher, 1995). In the present study, both N and P deficiencies resulted in substantial decreases in leaf area, which probably lowered transpiration rates and reduced water demands. We may note that, however, that the lack of a positive relationship

between seedling size and field performance may have been favored by the lack of significant rainfall events between the planting date and the onset of summer.

In our study, biomass allocation belowground was reduced by N and P deprivation, but the proportional decrease was lower than the decrease observed in aboveground biomass. As a result, the root:shoot ratio increased in NDF and PDF seedlings as compared to CON and SRF seedlings in all species but *Q.coccifera*. Increased biomass allocation belowground may have enlarged root capacity to supply water per unit of leaf area, provided that changes in hydraulic conductivity did not outbalance changes in biomass allocation patterns. Studies of the effect of nutrient availability on seedling ability to transport water are scarce (but see Harvey and van den Driessche (1999) for an example from mesic environments). Previous works on *P. lentiscus* have shown that N and P deficiency decreases specific hydraulic conductivity on a root area basis, but does not significantly affect seedling capacity to transport water per unit of leaf area (Trubat et al. 2006). A decrease in hydraulic conductivity can be associated to reduced vulnerability to cavitation (Sperry 2000) and thus higher resistance to drought. Similar results were presented by Syvertsen and Graham (1985) in citrus. In contrast, Hernández et al. (2009) found a decrease in root hydraulic conductance with increasing fertilization in *P. lentiscus*, suggesting that the response of hydraulic conductivity to the direct and indirect effects of increased nutrient availability may not be linear.

Figure 3: Field survival of seedlings of Mediterranean woody species grown under various fertilization regimes. Bars correspond to consecutive sampling dates. Asterisks indicate the statistical significance of logistic regression.

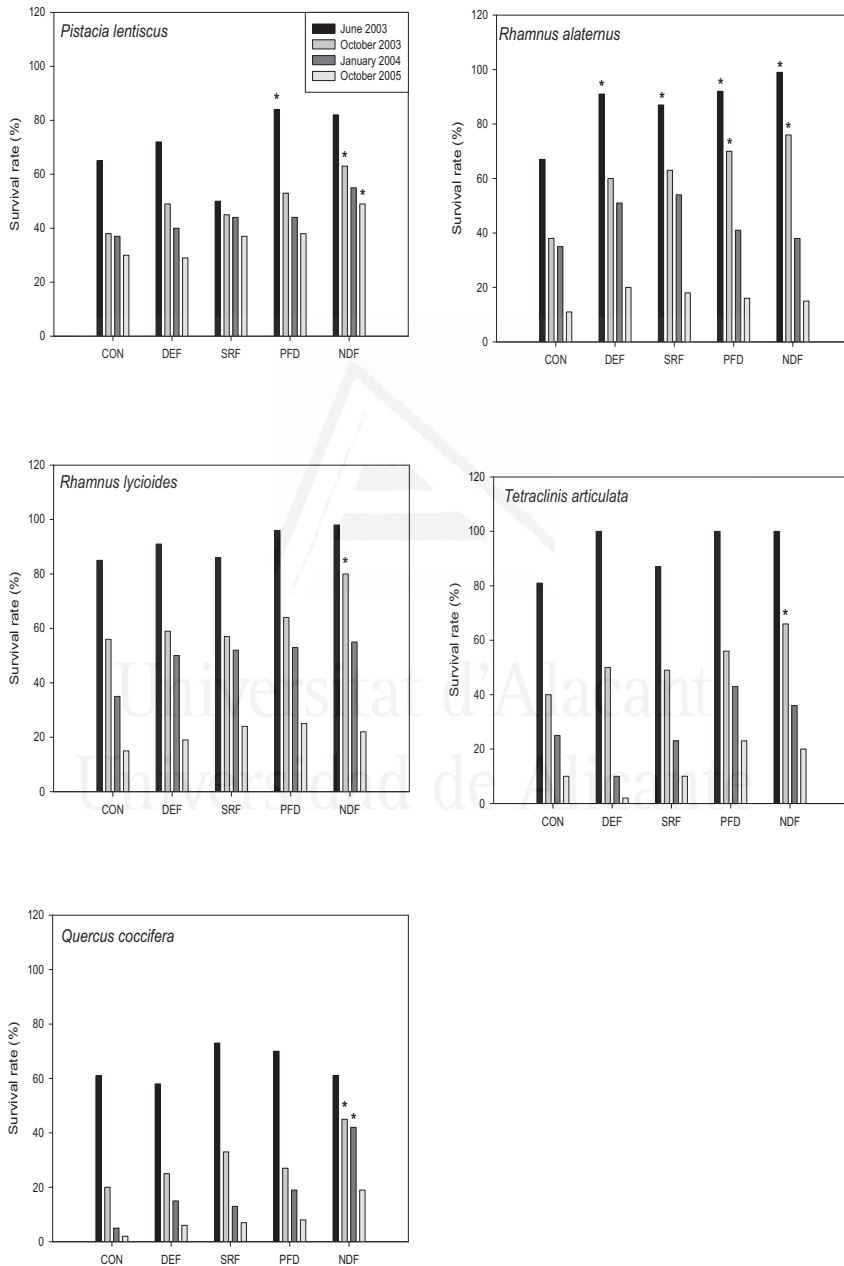


Figure 4: Logistic regression between seedling size and field survival of Mediterranean woody species four months after planting (N=150 for each species). Data from all fertilization regimes were pooled for these analyses. Parameters of the logistic regression, including the Odds ratio, probability, confidence interval and Nagelkerke R^2 are included in each graph.

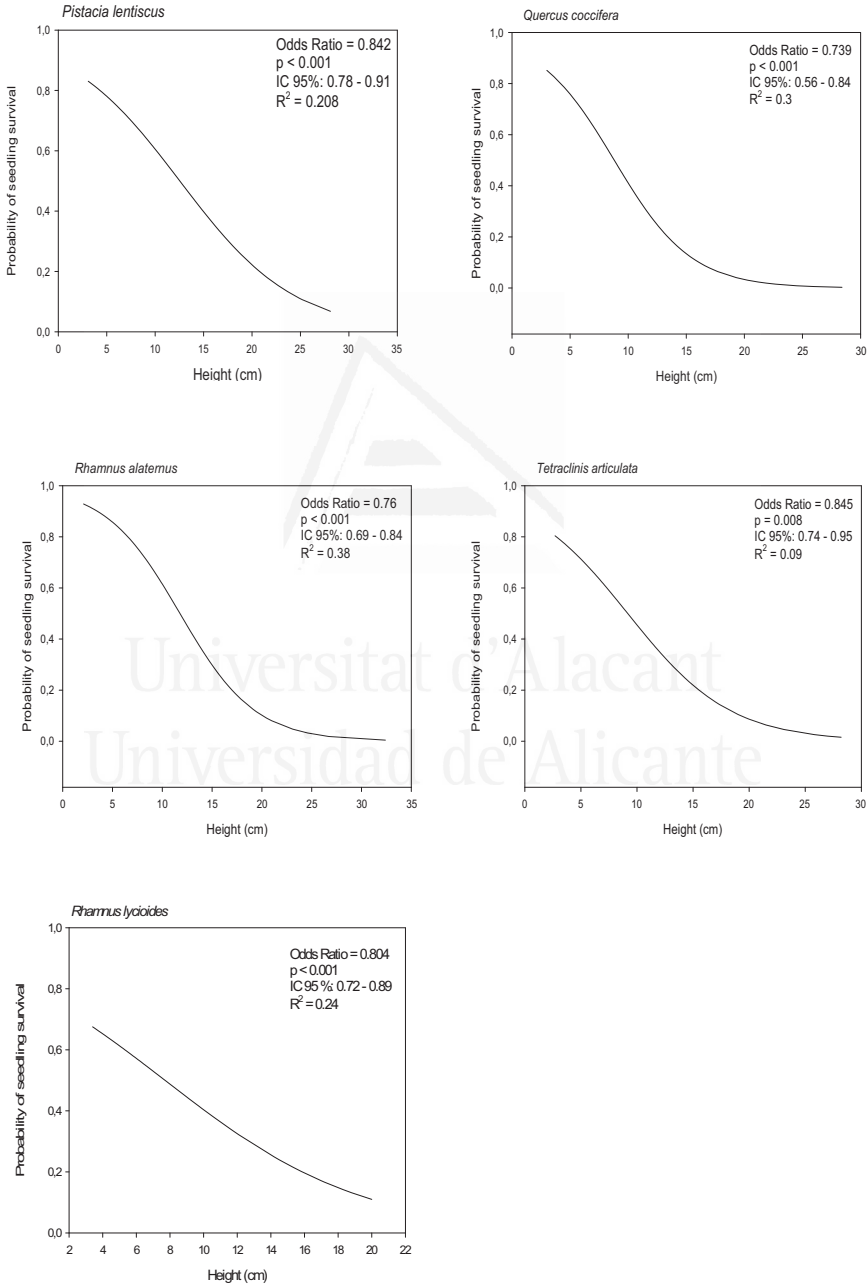


Table 4: Results of logistic regression analyses to compare the survival of CON seedlings and seedlings subjected to various nutritional regimes. See Table 1 for a description of the treatments.

	<i>P. lentiscus</i>			<i>R. alaternus</i>			<i>Q. coccifera</i>			<i>R. lycioides</i>			<i>T. articulata</i>								
	June 03	Oct 03	Jan 04	Oct 05	June 03	Oct 03	Jan 04	Oct 05	June 03	Oct 03	Jan 04	Oct 05	June 03	Oct 03	Jan 04	Oct 05					
DEF	Wald	0.42	0.72	0.26	0.36	4.64	3.37	1.58	0.35	0.04	0.25	0.58	0.07	0.43	0.08	1.44	0.19	1.01	0.13	0.87	0.21
	Exp (b)	0.70	0.65	0.76	0.71	0.16	0.36	0.50	0.64	1.13	0.72	0.53	0.75	0.60	0.86	0.54	0.74	0.31	0.778	2.27	1.75
SRF	Wald	1.54	0.24	0.53	1.39	2.95	3.72	2.80	0.17	0.99	1.51	0.19	1.46	0.01	0.04	1.71	0.88	0.26	0.34	0.005	0.02
	Exp (b)	1.84	0.78	0.69	0.53	0.32	0.35	0.40	0.73	0.57	0.48	0.69	0.34	0.92	0.89	0.51	0.54	0.62	0.68	1.05	0.85
PDF	Wald	3.00	1.94	0.70	1.61	5.52	6.42	0.28	0.13	0.49	1.57	2.24	1.17	2.26	0.41	2.47	0.95	0.62	1.01	0.95	1.173
	Exp (b)	0.35	0.5	0.65	0.51	0.14	0.24	0.75	0.77	0.68	0.48	0.33	0.38	2.52	0.72	0.45	0.53	0.40	0.49	0.49	0.37
NDF	Wald	1.81	4.53	2.62	5.33	6.03	0.64	0.28	0.13	4.42	4.29	6.95	2.37	0.01	3.72	2.46	0.88	2.12	3.34	0.78	0.88
	Exp (b)	0.47	0.34	0.45	0.30	0.07	0.24	0.75	0.77	0.25	0.29	0.15	0.26	0.92	0.33	0.44	0.54	0.19	0.34	0.58	0.47

Nutrient concentration in seedlings deprived of N and P was substantially lower than the values shown by well-fertilized seedlings. Nutrient deficiency has been associated with lower establishment success in Mediterranean species, probably as a result of impaired carbon assimilation (Cortina et al. 2008). On the other hand, we observed no significant increase in P concentration in NDF seedlings, N concentration in PDF seedlings and K concentration in NDF and PDF seedlings of most species compared to CON seedlings. These results suggest that the overall positive effect of N and P deficiency on field performance was not a result of luxury consumption or promoted storage of limiting nutrients.

4.5 Management implications

Several studies have shown a positive relationship between seedling size at planting and field performance (Cortina et al. 1997; Villar-Salvador et al., 2004; Luis et al. 2009). But the number of studies showing no significant or negative relationships is substantial (Navarro et al. 2006b). In our study, five species showed a negative relationship between size and survival which persisted for 1 year in the field. We should note that the improvement in seedling performance occurred despite that seedlings were severely nutrient deficient. Results of late-season fertilization experiments with seedlings of the species used in the current experiment suggest that improving nutrient status with small changes in seedling morphology increase seedling performance after planting (Trubat et al. 2008). Studies with *Quercus ilex* and *Quercus suber* suggest that late-season fertilization may also be suitable to improve plantation success under dry sub-humid conditions (Trubat et al. 2010). However small seedlings can be hard to handle, particularly if container size is large and the rooting system cannot hold the growing substrate. This limitation should be solved before the use of small seedlings can be recommended for the restoration of semi-arid lands.

Logistic regression models developed for *P. lentiscus*, *R. alaternus*, *Q. coccifera*, *R. lycioides* and *T. articulata* showed significant odds ratios,

indicating that stem height was significantly related to seedling survival and that seedling size could be used to predict short-term field mortality under the conditions of the study. In addition, the odds ratio was lower than one in all species, indicating a negative relationship between size and survival. From the regression equation, we were able to determine the height of the different species at planting for a 50% probability of survival (P_{50}). The values obtained (7.6 cm for *R. lycioides*, 8.8 cm for *Q. coccifera*, 9.0 cm for *T. articulata*, 11.7 cm for *R. alaternus* and 12.0 cm for *P. lentiscus*), are lower than those recommended by current regulations for tree species (Generalitat Valenciana, DOGV 2780 16/05/1996; RD 1356/1998; BOE 153 27/05/1998). These regulations are applied in a wide range of environmental conditions, and should be reviewed for semiarid lands in the light of the results obtained in this study.

5. Conclusions

Since resistance to drought is crucial for seedling establishment in drylands, our results highlight the importance of nutrition management during stock production in the nursery. Defining optimum morpho-physiological traits for the establishment of woody seedlings is a major step towards improving the efficiency of forest plantations in dryland restoration. Our results show that nutrient supply has a strong potential to modify the morphology of Mediterranean woody seedlings in the nursery. We have shown that nutrient deficient plants of 5 different species may be more likely to establish under harsh semi-arid conditions than well fertilized plants, suggesting that morphological and physiological traits associated with nutrient deficiency may outbalance the scarcity of nutrient reserves, supporting our first hypothesis. Despite small differences in species sensitivity to nutrient supply, the five species tested showed a consistent response to fertilization in the nursery and in the field. Thus, contrasting ecological strategies do not seem to separate from this general pattern. Our results stress the need to refine the concept of seedling quality in drylands, and to explore the interactions between seedling quality and site

conditions. These results emphasize the difficulty in establishing strict regulations on the quality of seedling stocks, and the need to focus on nursery techniques promoting rooting ability rather than aboveground traits.

6. Acknowledgements

This research was funded by the CEAM Foundation, and projects TRESECO (CGL 2004-06455-CO2-02/BOS), GRACCIE (Consolider-Ingenio Program, CSD2007-00067), RECVES (Spanish Ministry of the Environment, Rural and Marine Areas; 077/RN08/04.1), and FUME (EU FP7, GA nº 243888). CEAM Foundation is partly funded by Generalitat Valenciana and Fundació Bancaixa. We are grateful to Marian Pérez-Devesa, Juan José Torrecillas, José Huesca, and Santi Soliveres for their help with the field work, and to Felipe Gil and Conselleria de Medi Ambient, Aigua, Territori i Habitatge, Generalitat Valenciana for the use of the Sta. Faç public nursery.

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

7. References

- Aerts, R., Chapin III, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. *Advanced Ecological Restoration* 30: 1-67.
- Bonet, A., Pausas, J. 2004. Species richness and cover along a 60-year chronosequence in old-fields of southeastern Spain. *Plant Ecology* 174: 257-270.
- Castro-Díez, P., Villar-Salvador, P., Pérez-Rontomé, C., Maestro-Martínez, M., Montserrat-Martí, G. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Trees* 11: 127-134.
- Chapin, F. S. III. 1991. Integrated responses of plants to stress. *BioScience* 41: 29-36.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Hernández, E., Vallejo, R. 2008. Effects of the use of deep container on morpho-functional characteristics of *Quercus suber* L. seedling for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology Management* 256: 779-785.
- Coleman, M. 2007. Spatial and temporal patterns of root distribution in developing stands of four woody crop species grown with drip irrigation and fertilization. *Plant Soil* 299: 195-213.
- Corcuera, L., Camarero, J.J., Gil-Pelegrín, E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. *Trees* 16: 465-472.
- Cortina, J., Bellot, J., Vilagrosa, A., Catarla, R., Maestre, F., Rubio, E., Martínez, J.M., Bonet, A. 2004. Restauración en semiárido, in: Vallejo, V.R., Alloza, J.A. (Eds.), *Avances en el Estudio de la Gestión del Monte Mediterráneo*. Fundación CEAM, Valencia, pp. 345-406.
- Cortina, J., Monerris, J., Disante, K., Fuentes, D., Valdecantos, A. 2008. Abiotic factors limiting the establishment of *Quercus ilex* seedlings, in: *Mediterranean karstic lanscape. Drylands, Deserts & Desertification Conference*. Negev, pp. 46-47.

- Cortina, J., Monerris, J., Disante, K., Fuentes, D., Valdecantos, A. 2009. Fertilización tardía y establecimiento de *Quercus ilex* subsp. *ballota*, in: Resúmenes del 5º Congreso Forestal Español. SECF-Junta De Castilla y León, Ávila, pp. 10.
- Cortina, J., Peñuelas, J.L., Puértolas, J., Vilagrosa, A., Savé, R. 2006. Calidad de Planta Forestal para la Restauración en Ambientes Mediterráneos. Estado Actual de Conocimientos, Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Cortina, J., Valdecantos, A, Seva J.P., Vilagrosa, A., Bellot J, Vallejo, V.R. 1997. Relación tamaños supervivencia en plántones de especies arbustivas mediterráneas producidos en vivero. *Actas del II Congreso Forestal Español. Mesa 3*. Pamplona, Gobierno de Navarra, pp. 159–164.
- Cuesta, B., Villar-Salvador, P., Puértolas, J., Jacobs, D.F., Rey Benayas, J.M. 2010. Why do large, nitrogen rich seedlings better resist stressful transplanting conditions? A physiological analysis in two functionally contrasting Mediterranean forest species. *Forest Ecology Management* 260: 71-78.
- Davis, A.S., Jacobs, D.F. 2005. Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. *New Forests* 30: 295-311.
- Ewers, B.E., Oren, R., Sperry, J.S. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant, Cell Environment* 23: 1055–1066.
- Fenner, M. 1983. Relationships between seed weight, ash content and seedling growth in twenty-four species of compositae. *New Phytologist* 95: 697-706.
- Fernández-Escobar, R., Moreno, R., García-Creus, M. 1999. Seasonal changes of mineral nutrients in olive leaves during the alternate-bearing cycle. *Scientia Horticulturae* 82: 25-45.
- Forde, B.G., Lorenzo, H. 2001. The nutritional control of root development. *Plant Soil* 232: 51-68.
- García-Fayos, P., Gullas, J., Martínez, J., Marzo, A., Melero, J.P., Traveset, A., Veintinilla, P., Verdú, M., Cerdán, V., Gasque, M., Medrano, H. 2001.

- Bases ecológicas para la recolección, almacenamiento y germinación de semillas de especies de uso forestal de la Comunidad Valenciana. Banc de Llavors Forestals (Conselleria de Medi Ambiente, Generalitat Valenciana), Valencia.
- Gratani, L., Bombelli, A. 2001. Differences in leaf traits among Mediterranean broad-leaved evergreen shrubs. *Annales Botanici Fennici*. 38: 15–24.
- Grossnickle, S.C. 2005. Importance of root growth in overcoming planting stress. *New Forests* 30: 273-294.
- Harvey, H.P., van den Driessche, R. 1999. Nitrogen and potassium effects on xylem cavitation and water use-efficiency in poplars *Tree Physiology* 19: 943-950.
- Hernández, E.I, Vilagrosa, A., Luis, V.C., Llorca, M., Chirino, E., Vallejo, R.V. 2009. Root hydraulic conductance, gas exchange and water potential in seedlings of *Pistacia lentiscus* L. and *Quercus suber* L. under different conditions of fertilization and light radiation. *Environmental Experimental Botany* 67: 267-276.
- Hosmer, D.W., Lemeshow, S. 1989. *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons, New York.
- Hulbert, S. H. 1997. Functional importance vs. keystone: reformulating some questions in theoretical biocenology. *Australian Journal Ecology* 22: 369-382.
- Ingestad, T., Agren, G.I. 1991. The influence of plant nutrition on biomass allocation. *Ecological. Application* 1: 168-174.
- Jurado, E., Westoby, M. 1992. Seedling growth in relation to seed size among species of arid Australia. *Journal Ecology* 80: 407-416.
- Kormanik, P.P., Sung, S.S., Kass, D.J., Schlarbaum, S. 1997. Effect of Seedling Size and First-Order Lateral Roots on Early Development of Northern Red Oak on Mesic Sites. *Proceedings of the Ninth Biennial Southern Silvicultural Research Conference*, Feb. 25-27, 1997, Clemson, SC.

- Lambers, H., Poorter, H. 2004. Inherent Variation in Growth Rate Between Higher Plants: A Search for Physiological Causes and Ecological Consequences. *Advanced Ecology Restoration* 34: 283-362.
- Landis, T.D. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality, in: Duryea, M.L. (Eds.), *Evaluating Seedling Quality: Principles, Procedures, and Predictive Abilities of Major Tests*. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis, pp. 29-48.
- Larcher, W. 1995. *Physiological Plant Ecology*. Springer-Verlag, Berlin.
- L'Hirondelle, S.J., Simpson, D.G., Binder, W.D., 2007. Chlorophyll fluorescence, root growth potential, and stomatal conductance as estimates of field performance potential in conifer seedlings. *New Forests* 34: 235-251.
- Lee, R.B., Rudge, K.A. 1986. Effect of nitrogen deficiency on the absorption of nitrate and ammonium by barley plants. *Annals Botany* 57: 471-486.
- Le Houérou, H.N. 1986. The desert and arid zones of Northern Africa, in: Evenary, M., Noy-Meir, I., Goodall, D.W. (Eds.), *Ecosystems of the World 12B. Hot Deserts and Arid Shrublands B*. Elsevier, Amsterdam, pp. 101-147.
- Liu, Z., Dickmann, D.L. 1993. Responses of two hybrid *Populus* clones to flooding, drought, and nitrogen availability. II. Gas exchange and water relations. *Canadian Journal Botany* 71: 927-938.
- Lloret, F., Casanovas, C., Peñuelas, J. 1999. Seedling survival of Mediterranean shrubland species in relation to root:shoot ratio, seed size and water and nitrogen use. *Functional Ecology* 13: 210-216.
- Luis, V.C., Peters, J., González-Rodríguez, A.M., Jiménez, M.S., Morales, D. 2004. Testing nursery plant quality of Canary Island pine seedlings grown under different cultivation methods. *Phyton* 44: 231-244.
- Luis, V.C., Puértolas, J., Climent, J., Peters, J., González-Rodríguez, Á.M., Morales, D., Jiménez, M.S. 2009. Nursery fertilization enhances survival and physiological status in Canary Island pine (*Pinus canariensis*) seedlings planted in semiarid environment. *European Journal Forest Research* 128: 221-229.

- Maestre, F., Bautista, S., Cortina, J. 2003. Positive, negative, and net effects in grass-shrublands interactions in Mediterranean semiarid grasslands. *Ecology* 84: 3186-3197.
- Maestre, F., Cortina, J. 2004. Insights into ecosystem and function in a sequence of degraded semiarid steppes. *Restoration Ecology* 12: 494-502.
- Maestre, F., Cortina, J. 2003. Small-scale spatial variation in soil CO₂ efflux in a Mediterranean semiarid steppe. *Applied Soil Ecology* 23: 199-209.
- Martínez-Mena, M., Alvarez Rigel, J., Castillo, V., Alvadalejo, J. 2002. Organic carbon and nitrogen losses influenced by vegetation removal in a semiarid Mediterranean soil. *Biogeochemistry* 61: 309-321.
- Mediavilla, S., Escudero, A. 2003. Stomatal responses to drought at a Mediterranean site: A comparative study of co-occurring woody species differing in leaf longevity. *Tree Physiology* 23: 987-996.
- Milla, R., Castro-Díez, P., Maestro-Martínez, M., Montserrat-Martí, G. 2005. Relationships between phenology and the remobilization of nitrogen, phosphorus and potassium in branches of eight Mediterranean evergreens. *New Phytologist* 168: 167-178.
- Miller, P.C., Stoner, W.A. 1979. Canopy structure and environmental interactions, in: O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson, and P.H. Raven (Eds.), *Topics in Plant Population biology*. Columbia University Press, New York. Pp 428-458.
- Mohammed, G.H., Noland, T.L., Parker, W.C., Wagner, R.G. 1997. Pre-planting physiological stress assessment to forecast field growth performance of jack pine and black spruce. *Forest Ecology Management* 92: 107-117.
- Navarro, R.M., Retamosa, M.J., López, J., del Campo, A., Salmora, L. 2006a. Nursery practices and field performance for the endangered Mediterranean species *Abies pinsapo* Boiss. *Ecological Engineering* 27: 93-99.
- Navarro, R.M., Villar-Salvador, P., del Campo, A. 2006b. Morfología y establecimiento de los plantones, in: Cortina J. et al. (Eds.), *Calidad de*

- planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, pp. 67–88.
- Oliet, J., Planelles, R., Artero, F., Jacobs, D.F. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology Management* 215: 339–351.
- Oliet, J., Valdecantos, A., Puértolas, J., Trubat, R. 2006. Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones, in: Cortina J. et al. (Eds.), *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos*, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, pp. 89-118.
- Padilla, F.M., Pugnaire, F.I. 2007. Rooting depth and soil moisture control Mediterranean woody seedling survival during drought. *Functional Ecology* 21: 489-495.
- Palacios, G., Navarro, R.M., del Campo, A., Toral, M. 2009. Site preparation, stock quality and planting date effect on early establishment of *Quercus ilex* L. seedlings. *Ecological Engineering* 35: 38-46.
- Poorter, H., Nagel, O. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: A quantitative review. *Functional Plant Biology* 27: 595-607.
- Puértolas, J., Gil, L., Pardos, J.A. 2003. Effects of nutritional status and seedling size on field performance of *Pinus halepensis* planted on former arable land in the Mediterranean basin. *Forestry* 76: 159-168.
- Radin, J.W. 1984. Stomatal Responses to Water Stress and to Abscisic Acid in Phosphorus-Deficient Cotton Plants. *Plant Physiology* 76: 392-394.
- Rose, R., Gleason, J.F., Atkinson, M. 1993. Morphological and water- stress characteristics of three Douglas- fir stocktypes in relation to seedling performance under different soil moisture conditions. *New Forests* 7: 1-17.

- Seva, J.P., Valdecantos, A., Vilagrosa, A., Cortina, J., Bellot, J. 2000. Seedling morphology and survival in some Mediterranean tree shrub species, in: Balabanis, P., Peter, D., Ghazi A., Tsogas, M. (Eds.), Mediterranean Desertification. Research results and policy implications. EC Report EUR 19303. Brussels, pp. 397-406.
- Simpson, D.G., Ritchie, G.A. 1997. Does RGP predict field performance? A debate. *New Forests* 13: 253–277.
- Sperry, J.S. 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural Forest Meteorology* 104: 13-23.
- Sperry, J.S. 2003. Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal Plant Science* 164: S115-S127.
- Soil Survey Staff, Keys to Soil Taxonomy. 1990. sixth ed. USDA Soil Conservation Service, Pocahontas Press, Blacksburg.
- South, D.B., Smith, C.T. 2000. Harvest treatments and fertilizer application affect transplanting stress index of *Pinus radiata*. *New Zealand Journal Forest Science* 30: 308-314.
- Syvetsen, J.P., Graham, J.H. 1985. Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition and leaf gas exchange of citrus rootstocks. *Journal American Society Horticultural Science* 110: 865-869.
- Tan, W., Hogan, G.D. 1995. Effects of nitrogen limitation on water relations of jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings. *Plant Cell Environment* 18:757-764.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2010. Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber* L. *Journal Arid Environments* 74: 491-497.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal Arid Environment* 72: 879-890.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *P. lentiscus* (L.). *Trees* 20: 334-339.

- Tuttle, C.L., South, D.B., Golden, M.S., Meldahl, R.S. 1988. Initial *Pinus taeda* seedling height relationships with early survival and growth. *Canadian Journal Forest Research* 18: 867-871.
- Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R. 2006. Nutrient status and field performance of tree seedlings planted in Mediterranean degraded areas. *Annals Forest Science* 63: 249–256.
- Vallejo, R., Aronson, J., Pausas, J.G., Cortina, J. 2006. Mediterranean woodlands. in: van Andel, J., Aronson, J. (Eds) *Restoration ecology: the new frontier*. Blackwell, Oxford, pp. 193–207.
- Van Andel, J. 1998. Intraspecific variability in the context of ecological restoration projects. *Perspectives Plant Ecology Evolution System* 1: 221-237.
- Van de Dijk, S.J., Lanting, L., Lambers, H., Posthumus, F., Stulen, I., Hofstra, R. 2006. Kinetics of nitrate uptake by different species from nutrient-rich and nutrient-poor habitats as affected by the nutrient supply. *Physiologia Plantarum* 2: 103-110.
- Vilagrosa, A., Cortina, J., Gil-Peigrín, E., Bellot, J. 2003a. Suitability of growth preconditioning techniques in Mediterranean land restoration. *Restoration Ecology* 11: 208-216.
- Vilagrosa, A., Bellot, J., Vallejo, V.R., Gil-Peigrín, E. 2003b. Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal Experimental Botany* 54: 21015–22024.
- Villar-Salvador, P. 2003. Importancia de la calidad de la planta en los proyectos de revegetación. in: *Restauración de Ecosistemas en Ambientes Mediterráneos*. Rey-Benayas, J. M., Espigares Pinilla, T. and Nicolau Ibarra, J. M. (Eds.), Universidad de Alcalá/Asociación Española de Ecología Terrestre, pp. 65-86.
- Villar-Salvador, P., Heredia, N., Millard, P. 2010. Remobilization of acorn nitrogen for seedling growth in holm oak (*Quercus ilex*), cultivated with contrasting nutrient availability. *Tree Physiology* 30: 257- 263.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Enrique, E., Peñuela-Rubira, J. 2004. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes and field

performance relationship in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L.,
Forest Ecology Management 196: 257–26.

Whitford, W. 2002. Ecology of Desert Systems. Academic Press. San Diego.

Whisenant, S.G. 1999. *Repairing Damaged Wildlands: A process-oriented,
landscape-scale approach*. Cambridge University Press, Cambridge.

Wu, G.L., Chen, M., Zhou, X.H., Wang, Y., Du, G. 2006. Response of
morphological plasticity of three herbaceous seedlings to light and
nutrition in the Qing –hai Tibetan plateau. Asian Journal Plant Science 5:
635-642.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

CAPÍTULO 3

*Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber**

L.

Roman Trubat, Jordi Cortina y Alberto Vilagrosa

Journal of Arid Environments 2010 74: 491-497

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Capítulo 3

La fertilización en vivero afecta a las características de brinzales de *Quercus suber* L. pero no a su desarrollo en campo.

Este capítulo reproduce íntegramente el texto del siguiente manuscrito:

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2010. Nursery fertilization affects seedling traits but field performance in *Quercus suber* L. *Journal of Arid Environments* 74: 491-497.

Resumen

El éxito de las plantaciones forestales en áreas sometidas a una fuerte sequía estacional depende en gran parte de las características de los brinzales. Sin embargo, no existe aún consenso sobre cuáles de estas características son las que determinan el éxito de la plantación en determinados ambientes. La hipótesis principal de este trabajo es que los rasgos asociados al estrés nutricional, como la asignación de biomasa o cambios en la morfología de la raíz, pueden estimular la resistencia del brinzal a condiciones de estrés hídrico. Para ello, evaluamos el efecto de diferentes tipos y dosis de fertilizantes sobre la morfología y comportamiento en campo de brinzales de *Q. suber*. Esta hipótesis había sido anteriormente testada en cinco especies mediterráneas en ambiente semiárido. La privación de nutrientes provocó una disminución de la acumulación de biomasa total y de la esbeltez (relación entre la altura del tallo y el diámetro del cuello de la raíz). La supresión de nitrógeno en la solución nutritiva provocó un aumento de la asignación de biomasa subterránea y la disminución del crecimiento potencial de raíces. En condiciones de campo, el desarrollo a corto plazo no se relacionó con los diferentes regímenes nutricionales, el tamaño de los brinzales o con el potencial de

crecimiento de raíces. Las diferencias en altura entre los brinzales control y los sometidos a las manipulaciones nutricionales aumentaron en campo a consecuencia de la desaparición de brotes y un escaso crecimiento. Por el contrario, las diferencias entre el diámetro del cuello de la raíz entre tratamientos desaparecieron poco a poco. El manejo de la fertilización como herramienta para modificar las características morfológicas de los brinzales en el vivero mostró tener un fuerte potencial, aunque la relación entre las modificaciones obtenidas y el comportamiento en campo de los brinzales parecen estar aún lejos de nuestro alcance.

Palabras clave: atributos funcionales; supresión de nutrientes; crecimiento potencial de raíces; establecimiento en campo; calidad de planta.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber* L.

Roman Trubat¹, Jordi Cortina¹, Alberto Vilagrosa²

¹Dept. d'Ecologia and Multidisciplinary Institute for Environmental Studies, Universitat d'Alacant, Ap. 99, 03080 Alacant

²Fundcion Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM), Parque Tecnológico, C/Charles Darwin, 46980 Paterna, Spain

Abstract

The success of forest plantations in areas subjected to seasonal drought is strongly dependent on seedling traits. However, there is no consensus on the set of plant traits determining establishment success in these environments. We hypothesize that traits associated with nutritional stress, such as reduced biomass allocation and changes in root morphology, may promote seedling resistance to drought. We tested this hypothesis by assessing the effect of different fertilizer types and doses on the morphology and field survival of *Q. suber* seedlings. This hypothesis had been previously tested with five Mediterranean species in a semi-arid environment. Nutrient deprivation decreased total biomass accumulation and slenderness ratio (ratio between stem height and root collar diameter). Nitrogen deprivation increased biomass allocation and decreased root growth potential. Short-term seedling survival was not related to nutritional regimes, seedling size or root growth potential. Differences in stem height between control seedlings and those subjected to nutrient manipulations increased in the field as a result of shoot dieback and scarce growth. In contrast, differences in root collar diameter gradually vanished. Nutrient management in the nursery showed a strong potential for modifying the morphology of *Q. suber* seedlings but the relationship between these changes and seedling survival remains elusive.

Keywords: Functional attributes; Nutrient deprivation; Root growth potential; Seedling establishment; Seedling quality

1. Introduction

The establishment of forest plantations in areas subjected to seasonal drought is strongly limited by water availability ([Alloza and Vallejo, 1999], [Padilla and Pugnaire, 2007] and [Pérez-Devesa et al., 2008]). When irrigation is not feasible, plantation success can be greatly dependent upon seedling morpho-functional attributes. However, there is no consensus on the set of plant traits that determines establishment success in water-limited environments, or on the nursery methodologies needed to achieve these traits (Cortina et al., 2006). Several studies have shown that seedling survival under Mediterranean conditions can be positively affected by nursery practices that enhance seedling vigor ([Oliet et al., 1997], [Oliet et al., 2004] and [Villar-Salvador et al., 2004]) and drought resistance (Vilagrosa et al., 2003). In contrast, other studies suggest that nutrient-deficient seedlings may be better prepared to withstand transplant shock and summer drought ([Seva et al., 2000] and [Trubat et al., 2004]). This apparent disagreement may be the result of the differing effects of varying intensities of summer drought, although evidence is inconclusive (Navarro et al., 2006).

Nursery cultivation regimes can strongly determine the functional characteristics of seedlings and their field performance ([Burdett, 1990] and [Vilagrosa et al., 2003]), affecting post-transplant rooting and early growth capacity ([Landis, 1985] and [van den Driessche, 1984]). Fertilization can be particularly relevant in Mediterranean areas, since nutrients ultimately influence seedling resistance to drought (van den Driessche, 1992). Fertilization may increase drought tolerance in several ways. For example, root growth potential and root hydraulic conductance increase with P and N availability ([Singh and Sale, 2000] and [Trubat et al., 2006]), and thus the ability to capture soil water may be enhanced in fertilized seedlings (Reinbott and Blevins, 1999). This can be crucial in degraded areas showing low soil fertility (Valdecantos et al., 2006). Nevertheless, N and P deficient

plants commonly change their biomass accumulation and allocation patterns ([Poorter and Nagel, 2000] and [Rubio et al., 2003]), which may result in a decreased demand for water and a greater ability to endure drought. Nutrient deficiency may also enhance the accumulation of non-structural carbohydrates (Oliet et al., 2006), which may act as energy reserves and osmolites allowing seedlings to withstand transplant shock (Burdett, 1990).

Seedling response to contrasting nutrient availability can be highly species-specific (Rubio et al., 2003). *Quercus suber* L. (cork oak), the mainstay of certain multiple-use agroforestry systems with great socio-economic and environmental value in the western Mediterranean region, seems to be highly responsive to changes in growing conditions ([Chirino et al., 2008] and [Trubat et al., 2008]), and thus it represents a suitable species for studying the relationship between seedling traits and field establishment. *Quercus suber* seedlings are especially prone to allocate large amounts of biomass aboveground and develop high slenderness ratios (Almeida et al., 2009). Thus, an excess nutrient supply could have deleterious effects on the ability of *Q. suber* to withstand drought and establish under field conditions. Despite evidence of nutrient limitations in Mediterranean areas (Valdecantos et al., 2006), little information is currently available on the nutrient status of *Q. suber* seedlings or on its potential implications for afforestation programmes.

We carried out a greenhouse and field experiment to explore the relationship between seedling morpho-functional traits and field performance in *Q. suber* seedlings. Our hypotheses are: (1) *Quercus suber* morphology is very sensitive to changes in nutrient availability during the nursery phase, and different fertilized seedlings may develop morpho-functional changes that improve their capacity to withstand harsh conditions despite the decrease in nutrient status; (2) nutritional hardening will affect plant morphology and nutritional status by reducing seedling size, increasing biomass allocation to belowground parts, and reducing the N-to-P ratio in leaves.

2. Materials and methods

2.1. Plant growth and experimental design

Quercus suber seedlings were grown from selected seeds in a public nursery (Santa Faç, Alicante, SE Spain; 38° 23' N, 0° 26' E, 50 m a.s.l.), under semi-arid climate (annual precipitation and average temperature of 353 mm and 18 °C, respectively). Seedlings were grown from February 2003 to February 2004 in 305-cm³ forest containers (Super-leach[®]) filled with a mixture of peat and coco-peat (1:1). Acorns were collected from local provenance in the Valencia region (E. Spain) by the Regional Forest Service (Generalitat Valenciana, Forest Seed Bank). Seedlings were cultivated in the open air and abundantly watered on alternate days with a modified Hoagland's solution containing 150 mg N L⁻¹ (as Ca(NO₃)₂ and KNO₃), 80 mg P L⁻¹ (as KH₂PO₄), and 100 mg K L⁻¹ (control), or similar solutions containing either no N (nitrogen-deficient seedlings, hereafter ND), or no P (phosphorus-deficient, hereafter PD). In ND and PD seedlings, the osmolarity of the nutrient solution was adjusted with KCl (Radin, 1984). Another set of seedlings was grown by adding 1.8 g L⁻¹ growing substrate of a commercial 14-9-15 (N:P:K) slow-release fertilizer, (Peters Professional[™] Fertilizer; hereafter SRF).

In November 2003, an additional fertilization level was generated by imposing a short-duration N stress to half of the control seedlings, selected randomly. Nitrogen was excluded from the nutrient solution, while the supply rate of the other nutrients was kept constant (nutritional hardening treatment, hereafter NH). Nitrogen deprivation lasted from November 2003 to February 2004. Average temperature was 14.3 °C during the last phase of nursery culture (February 2004). Each treatment was replicated 39 times, as the total number of seedlings available for the experiment was 195.

2.2. Morphological, nutritional characteristics, and chlorophyll and carbohydrates determination

Measurements of stem height, root collar diameter (RCD), leaf area, belowground and aboveground biomass accumulation, and foliar nutrient content were carried out at the end of the nursery period (February 2004). Measurements were taken in 10 randomly selected seedlings per treatment. Leaf area was measured by scanning the leaves (EPSON Expression 1680 Pro scanner with transparency adapter) and analyzing the image by means of specific image analysis software (WinRhizo, Régent Instruments Inc., Québec, Canada). All biomass fractions were measured after drying at 65 °C for 48 h. The root weight ratio (RWR, g g^{-1}) was calculated as the ratio between root dry weight and total dry weight. The slenderness ratio was estimated as the ratio between stem height and root collar diameter. Specific root length (SRL, cm g^{-1}) was the ratio between root length and root dry weight. Dry leaves were fragmented by hand and digested in a heating block at 250 °C with a mixture of H_2SO_4 and H_2O_2 (1:1, v/v) for nutritional analyses. Total N concentration was determined by semi-micro Kjeldahl distillation (Tecator Kjeltac Auto 1030 Analyzer, Hogana, Sweden), and P and K concentration by ICP spectrometry (Perkin Elmer Optima 3000, Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA). A 130- mm^2 disk was cut from each leaf for pigment analysis. Each leaf disk was extracted for 24 h in the dark at 25 °C with dimethyl sulfoxide after which absorbance was measured and concentrations of chlorophyll *a* and chlorophyll *b* were computed using the equations of Lichtenthaler (1987). Samples of leaves were collected for non-structural carbohydrate determination in 5 seedlings per treatment. Fresh material was immediately frozen in liquid nitrogen and stored at -80 °C until analysis. Soluble sugars were extracted in ethanol (70%, v/v), and the residue was incubated in HCl (1.1%, v/v) for 30 min at 95 °C for starch extraction. Both soluble sugars and starch were determined colorimetrically at 635 nm with anthrone reagent.

2.3. Planting and field measurements

In February 2004, one 30 × 30-m plot was established in a previously cleared degraded shrubland in Serra Espadà (Chóvar, Castelló, E Spain; 38°91', 0°41'E, 540 m a.s.l.; 40° slope; 220° SW aspect). Twenty randomly selected seedlings per treatment were planted in 40 × 40 × 40-cm planting holes. The climate at the nearest weather station (Segorb HS meteorological station, Segorb, Castelló) is dry sub-humid thermo-Mediterranean, average annual rainfall is 485 mm and average temperature is 15.8 °C. Seedling survival, stem height, and RCD were monitored in all seedlings in May and December 2005, and in June 2006.

2.4. Root growth potential test

Root growth potential (RGP) was measured on 9 seedlings per treatment in March 2004. Seedlings were transplanted to 3-L PVC pots filled with vermiculite, and watered with a standard nutrient solution every 2 days. The growth chamber provided day conditions of 20 °C for 16 h with a photosynthetic photon flux density of 400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The number of newly elongated white roots longer than 5 mm was on each seedling at the end of a 21-day period. As both variables, new roots and seedling size, were highly correlated (Pearson bivariate $r = 0.791$, $N = 45$, $p < 0.001$), we only present the results for new white roots.

2.5. Statistical analyses

We used one-way analysis of variance (ANOVA) with treatments as a fixed factor and 5 levels to evaluate their effect on seedling morphology at the end of the nursery phase, and after planting. When these analyses showed a significant treatment effect, we carried out pairwise post-hoc comparisons using Tukey's HSD test at $p = 0.05$. As heterogeneous first summer mortality resulted in an unbalanced design, we randomly selected 6 seedlings per treatment

for post-summer seedling size analyses. RGP was log-transformed to meet requirements of normality and homoscedasticity. Analyses of survival frequency data were based on Pearson's χ^2 tests. We used Pearson correlation analysis to evaluate the degree of covariation between root growth potential and seedling size. The relationship between seedling size and summer mortality was evaluated using logistic regression. All statistical analyses were performed with the SPSS 9.0 package (SPSS, Chicago, IL).

3. Results

3.1. Nursery measurements

Foliar concentrations of P and N were greatly reduced in seedlings without P or N in the nutrient solution (Table 1). Foliar P concentration was above 0.66 mg g^{-1} in control seedlings and decreased to 0.3 mg g^{-1} in PD seedlings. Nitrogen concentration ranged from 12.9 mg g^{-1} in control seedlings to less than 5.7 mg g^{-1} in ND seedlings. Potassium concentration was higher in ND plants than in other seedlings. NH resulted in a significant but weak decrease in foliar N concentration as compared to control seedlings. Seedlings from NH and ND presented significantly lower chlorophyll contents (both chl. *a* and chl. *b*) (Table 2). Nonstructural carbohydrate concentrations were decreased in NH and ND treatments (Table 2).

Seedlings receiving slow-release fertilizer showed higher stem height and root collar diameter than other treatments, while ND and PD seedlings showed an important decrease with respect to the other treatments (Table 3). NH resulted in a trend towards lower stem height and root collar diameter, but the differences were not statistically significant compared to the control treatment.

Table 1: Foliar nutrient concentrations (mg g^{-1}) of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a nitrogen-deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer (SRF).

	Control	NH	ND	PD	SRF	F	P <
N (mg g^{-1})	12.9 ±0.5a	11.1 ±0.2c	5.7 ±0.4d	11.5 ±0.3b	11.3 ±0.5b	37.7	0.01
P (mg g^{-1})	0.66 ±0.03a	0.72 ±0.02a	0.78 ±0.05a	0.30 ±0.01b	0.70 ±0.02a	4.8	0.01
K (mg g^{-1})	3.31 ±0.08a	2.95 ±0.04a	4.91 ±0.10b	3.24 ±0.14a	2.57 ±0.09a	10.7	0.01

Data are means ± SE (N = 10 plants). Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

The proportion of dry weight allocated below- and aboveground was significantly affected by the nutritional regimes; ND, NP and NH showed significant differences in the multiple mean comparisons. Both the number of leaves per plant and the leaf area were lower in the ND, NH, and NP treatments than in the control treatment. ND and NP showed a significant increase in SRL as compared to control and SRF seedlings. SRF seedlings showed an important increase in SLA with respect to control seedlings, while ND seedlings showed a significant decrease compared to the other treatments (Table 2).

The slenderness index was significantly lower in ND seedlings, followed by PD and NH seedlings ($F_{4,45} = 24.0$, $p < 0.001$; Fig. 1). Control and SRF seedlings showed the highest slenderness ratio.

Only ND seedlings differed from the other treatments in the RGP test ($F_{4,40} = 13.2$, $p < 0.001$; Fig. 2). RGP was positively related to seedling size ($r = 0.507$, $N = 45$, $p < 0.001$, and $r = 0.724$, $N = 45$, $p < 0.001$ for the comparisons between RGP and root collar diameter and stem height, respectively).

Table2: Non-structural carbohydrate and chlorophyll content in the leaves of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a nitrogen-deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer(SRF).

	TNC ($\mu\text{mol g}^{-1}$)		Chlorophyll content ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	
Control	10.16	$\pm 0.09\text{b}$	51.6	$\pm 3.62\text{c}$
NH	10.06	$\pm 0.01\text{ab}$	36.3	$\pm 2.64\text{ab}$
ND	10.01	$\pm 0.06\text{a}$	21.1	$\pm 2.72\text{a}$
PD	10.27	$\pm 0.05\text{b}$	49.5	$\pm 3.38\text{bc}$
SRF	10.17	$\pm 0.02\text{b}$	30.1	$\pm 3.21\text{abc}$
F	3.64		6.13	
P	0.029		0.002	

Data are means \pm SE ($N = 10$ plants). Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Table 3: Morphological characteristics of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a **nitrogen**-deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer (SRF).

	Control	NH	ND	PD	SRF	F	p
Height (cm)	31.52 ±0.38ab	28.08 ±0.91bc	11.14 ±0.14d	26.52 ±0.19c	35.94 ±0.35.0	65.17	<0.001
RCD (mm)	5.83 ±0.11ab	5.52 ±0.06ab	3.64 ±0.06c	4.99 ±0.11b	6.18 ±0.41.0	17.37	<0.001
Root dry weight (g)	4.90 ±0.37a	3.22 ±0.45b	3.17 ±0.47b	2.71 ±0.46b	5.06 ±0.45.0	5.56	0.01
Shoot dry weight (g)	1.38 ±0.09a	1.03 ±0.09b	0.49 ±0.09d	0.76 ±0.07c	1.58 ±0.21.0	26.01	<0.001
Leaf area (cm ²)	116.81 ±4.80c	85.42 ±6.12b	38.12 ±3.46a	61.44 ±3.51ab	121.16 ±7.26.5	27.39	<0.001
Nº Leaves	59.4 ±6.24c	44.1 ±3.06b	15.2 ±1.29a	16.2 ±1.67a	70.2 ±7.67.6	32.66	<0.001
RWR (g g ⁻¹)	0.64 ±0.02b	0.62 ±0.02b	0.82 ±0.01a	0.64 ±0.03b	0.59 ±0.20.0	16.62	<0.001
SLA (cm ² g ⁻¹)	88.42 ±1.21bc	84.93 ±1.72a	83.51 ±1.13ab	82.63 ±1.24ab	92.17 ±7.0.2	7.02	<0.001
SRL (cm ² mg ⁻¹)	2.31 ±0.24	2.15 ±0.29	3.91 ±0.359	2.86 ±0.31	2.35 ±61.0	1.94	0.134

Data are means ± SE (N = 10 plants). Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$

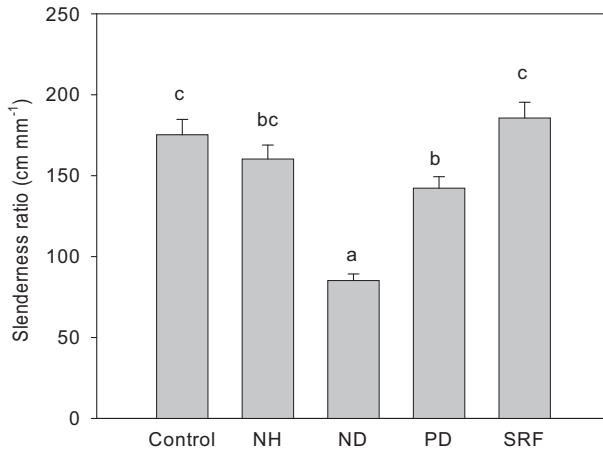


Figure 1: Slenderness ratio of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a nitrogen- deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer (SRF). Data are means \pm SE (N = 10 plants). Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

3.2. Field measurements

Rainfall was especially high after planting (Fig. 3). Field survival was high before the summer (>95%) and was not affected by the treatments (data not shown). Post-summer survival, October 2004, was highest for the seedlings receiving slow-release fertilizer, and lowest for the NH seedlings, but the overall effect of the nutritional regimes was statistically marginal (Pearson's $\chi^2 = 8.0$, $p = 0.098$, power = 7.88; Fig. 4). Differences in survival rates between control, and ND and PD seedlings were small, despite substantial differences in their morphology and nutrient content. Differences in survival rates between control, and ND and PD seedlings were small, despite substantial differences in their morphology and nutrient content. Differences in survival rates between the different treatments were reduced in spring 2006, 16 months after planting (Pearson's $\chi^2 = 4.2$, $p = 0.411$).

Aboveground growth was very low before and after the first summer. Moreover, some treatments (NH, PD, SRF) showed some degree of shoot dieback as reflected in a decrease in stem height that was particularly patent during the first summer (Table 4). Treatments had a significant effect on stem height and root collar diameter before the summer ($F_{4,91} = 22.8$, $p < 0.001$, and $F_{4,91} = 8.3$, $p < 0.001$, respectively), and on stem height, but not on root collar diameter, after the summer ($F_{4,25} = 4.9$, $p = 0.005$, and $F_{4,25} = 1.6$, $p = 0.206$). Size differences among treatments were maintained before the summer, with ND seedlings showing the lowest stem height and root collar diameter, and control and SRF seedlings showing the highest stem height. Differences were less evident after the first summer, when only the stem height of control seedlings was significantly higher than those of the other treatments. We should note, however, that the power of the analysis decreased after the summer as a result of seedling mortality.

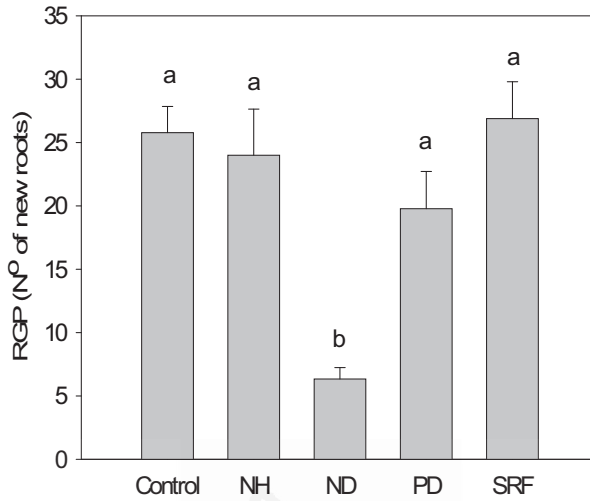


Figure 2: Root growth potential (RGP) of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a nitrogen-deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer (SRF). Data are means \pm SE ($N = 10$ plants). Different letters indicate significant differences at $p < 0.05$.

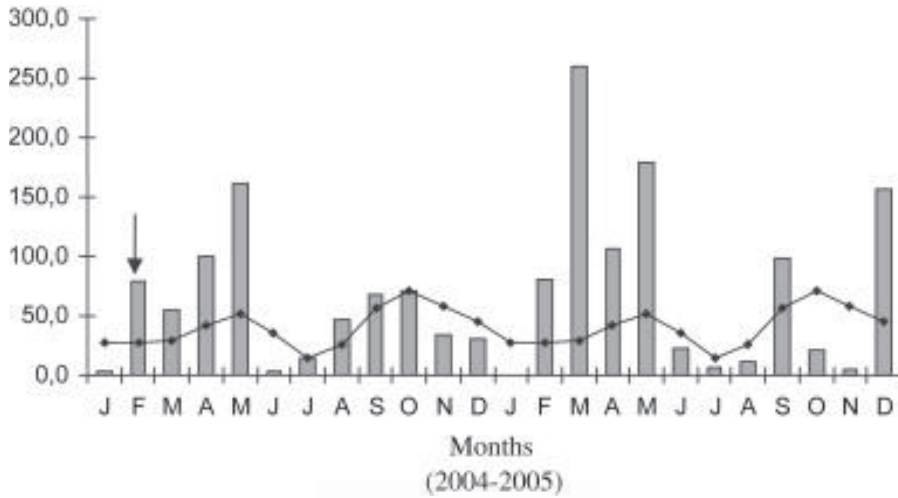


Figure 3: Monthly precipitation between January 2004 and December 2005 at the weather station nearest to the experimental plot (Segorb HS, Castelló). The line indicates the average rainfall for the last 30 years. The arrow indicates the month of planting.

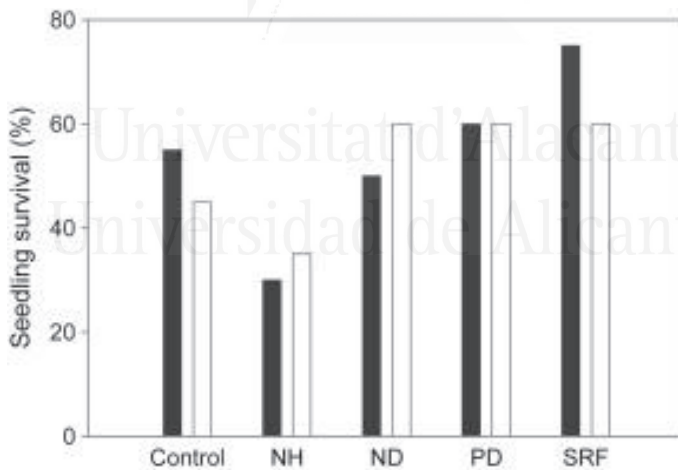


Figure 4: Survival (%) of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a nitrogen-deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer (SRF), 8 months (black bar) and 16 months (white bar) after outplanting in a degraded shrubland.

4. Discussion

Foliar N concentration in seedlings receiving no N was below the levels that have been commonly associated with N deficiency for other Mediterranean forest species ([Bonneau, 1988], [Robert et al., 1996] and [Trubat et al., 2006]). Similarly, foliar P levels were very low in seedlings receiving no P, and these seedlings were likely to be P deficient ([Cornelissen et al., 1997] and [Oliveira et al., 1996]). Foliar potassium concentration was low in all seedlings except those receiving no N. This fact probably resulted from luxury consumption (Marschner, 1995). Both ND and PD seedlings were small, but the effect of nutrient deficiency was much stronger in ND seedlings, which may not have been suitable for commercial purposes (RD 1356/1998 for 26 June 1998; BOE 153). Our results suggest that *Q. suber* acorns cannot supply seedlings with enough N and P to sustain growth for 1 year, and these results are consistent with N and P budget estimations in acorns and seedlings. Acorns may contain substantial amounts of P (Gea-Izquierdo et al., 2006). Scarce information is available on the N content of *Q. suber* acorns, but J. Oliet (University of Córdoba, 2007; personal communication) showed that N concentration in *Quercus ilex* acorns was 0.95 mg g^{-1} .

Considering an average *Q. suber* acorn dry weight of 3.3 g for this area (M. Pérez-Devesa, CEAM Foundation personal communication), acorns could supply 9.5 mg g^{-1} of the 1st year requirements for N and P. The same observation has been reported for other oaks ([García-Cebrián et al., 2003] and [Newton and Pigott, 1991]). The effect of NH on the nutritional status was weak. Slow-release fertilizer produced seedlings with N, P and K concentrations similar to control seedlings. In addition, seedling biomass was similar in control and SRF seedlings, suggesting either that the seedlings subjected to both treatments were not nutrient-limited, or that the increased nutrient availability resulting from SRF application had vanished by the end of the nursery period. Different fertilization regimes

significantly affected TNC status in the leaves. Nutrient limitation generally promotes carbohydrate accumulation in leaves of actively growing plants ([Bollmark et al., 1999], [Sanz-Pérez et al., 2007] and [Waring et al., 1985]). Several studies have reported that during the growing season the starch concentration was lower in current foliage from high fertility sites than from low fertility sites. According to these findings, the relationship between starch and nitrogen concentrations may be positive during the dormant season and negative during the growing season ([Birk and Matson, 1986] and [Ludovici et al., 2002]). In our study, the nitrogen-deficient treatments (ND and NH) decreased the non-structural carbohydrate concentration in leaves. When growth declined in autumn, the larger leaf area and possibly higher photosynthetic capacity allowed the control, NP, and SRF seedlings to accumulate TNC faster than the NH and ND seedlings. The generally high chlorophyll content observed in all but the ND treatments was due to nitrogen-supply availability. Several studies indicate that N fertilization increases leaf area and chlorophyll content under optimum conditions (Kathju et al., 2001).

ND, NH, and PD resulted in a decrease in the number of leaves and the whole plant leaf area. Reductions in leaf area in nutrient-deficient plants have been observed elsewhere (Trubat et al., 2008; Yates et al., 2002) and may result in a decrease in the overall plant transpiration rate, which would enhance a drought-avoidance strategy (Nielsen and Orcutt, 1996), improving water use efficiency under drought (Miller and Stoner, 1979). NH, ND, and NP also showed a significant reduction in SLA. These variations can be the consequence of several anatomical changes, such as reduction in cell diameter, an increase in cell wall thickness, an increase in the proportion of dense tissues, and an increase in cuticular waxes (Castro-Díez et al., 1997).

Both aboveground and belowground accumulations were reduced by low nutrient availability. This effect has been widely described in the literature (Rubio et al., 2003). Root weight ratio followed the

expected direct relationship with nutrient supply (Poorter and Nagel, 2000). An increase in RWR is predicted to be a better strategy for maintaining growth under water-limiting conditions, because it can increase water and nutrient absorption and return carbon and nutrient contents to a more favorable balance for storage (Vilela et al., 2003). ND and NP treatments showed a significant increase in specific root length, a trait that has been related to increased exploitation and uptake efficiency (Comas and Eissenstat, 2002; Fitter 1991).

Seedling survival was high before the summer, 4 months after planting (>95% in all treatments; data not shown). This is common in Mediterranean forest plantations and suggests that transplant shock may not be a major source of mortality in well-implemented plantations (Cortina et al., 2004; Maestre et al., 2003). The range of seedling survival rates observed after the first summer was similar to those found in other *Q. suber* plantations, except in NH seedlings, which was very low (Cortina et al., 2009). Seedling survival was not related to seedling size and morphology at the treatment level.

Table 4: Root collar diameter (mm) and stem height (cm) of *Quercus suber* seedlings grown under standard nutritional conditions (Control), under late-season N deprivation (N), under a nitrogen-deficient solution (ND), under a phosphorus-deficient solution (PD), and with slow-release fertilizer (SRF), planted in a degraded shrubland.

	<i>RCD (mm)</i>	<i>RCD (mm)</i>	<i>Height (cm)</i>	<i>Height (cm)</i>
	<i>May 2004</i>	<i>October 2004</i>	<i>May 2005</i>	<i>October 2005</i>
Control	4.7 ±0.3a	5.5 ±0.4a	31.3 ±2.2a	31.1 ±3.2a
NH	4.2 ±0.2a	4.3 ±0.8a	23.0 ±1.5b	13.7 ±3.1b
ND	3.1 ±0.2b	3.0 ±0.3a	11.6 ±1.0c	10.8 ±2.2b
PD	4.2 ±0.2a	4.3 ±0.4a	24.8 ±1.6b	10.0 ±2.8b
SRF	4.6 ±0.2a	4.6 ±0.2a	28.1 ±1.6ab	17.5 ±3.1b

Data are means and standard error of $N = 17\text{--}20$ seedlings per treatment (05/2004) and 15 seedlings per treatment (10/2004). Different letters indicate significant differences for a given sampling date (Tukey HSD, $p < 0.05$).

For example, the correlation between seedling dry in the nursery and post-summer survival was not significant when considering all planted seedlings ($r = 0.525$, $N = 5$, $P = 0.0363$), nor at the individual seedling level (Nagelkerke pseudo- $R^2 = 0.004$, $\chi^2 = 0.254$, $p = 0.614$ for the logistic regression between pre-summer stem height and summer mortality). Indeed, the survival rate of ND seedlings (50%) was similar to the rate shown by control seedlings (55%) in May 2005, despite substantial differences in size and nutritional status. In contrast, in control and NH seedlings, which showed small differences in size and foliar nutrient concentration, survival rates differed by almost 50%. Field survival was not related to the slenderness ratio, which was positively related to seedling size, nor to the proportion of biomass allocated belowground, which was higher only in ND seedlings. These results suggest that size and morphology are not strong indicators of field performance in this species. These results are thus in disagreement with those reported by Seva et al. (2000) and Villar-Salvador et al. (2004), who found that bigger seedlings of Mediterranean trees planted in dry sub-humid areas performed better in the field than smaller ones. In a recent review in this topic, Navarro et al. (2006) found that the frequency of studies showing no significant effect of initial seedling size on field survival was higher than the frequency of studies showing either a positive or a negative effect. These contrasting results are not clearly related to differences in drought intensity (Navarro et al., 2006) and may reflect complex species x environment interactions.

The negative results of late-season NH were unexpected. Suppressing N during late stages of nursery growth resulted in small changes in foliar nutrient concentrations and stem height, but it generated a strong reduction in aboveground biomass accumulation. This suggests that, under the mild climatic conditions in the nursery, growth was not completely arrested during winter in well fertilized seedlings. After outplanting (May 2004), stem height gradually decreased in NH seedlings, as reflected in the significant differences between NH and control seedlings which appeared even before the

onset of summer drought. Thus, results suggest that NH seedlings failed to take advantage of the relatively favorable climatic conditions present in spring, and were unable to withstand summer drought. This result is particularly puzzling, as morpho-physiological changes in NH seedlings were less severe than changes experimented by ND and PD seedlings. In addition, in a previous study we found that late-season N deprivation had a positive effect on field performance of 5 Mediterranean woody species planted in semi-arid area (Trubat et al., 2008). In this study, nutritional hardening resulted in a wide range of reductions in seedling size, suggesting that this trait may not entirely responsible for the contrasted results obtained in both studies. Late-season N deprivation has been recommended as it may arrest late-season growth, promote carbohydrate storage, foster the accumulation of other essential nutrients, and improve seedling performance in the field, suggesting that further studies are needed before this technique can be incorporated into nursery protocols for this species.

RGP may be a suitable indicator of field performance, as the formation of new roots is critical for seedling establishment (Kaushal and Aussenac, 1989). RGP in *Q. suber* seedlings was well related to seedling size, and probably to short-term vitality, but not to field performance (Pearson correlation between RGP and field survival $r = 0.196$, $N = 5$, $p = 0.752$). Thus, this technique cannot be recommended as an indicator of field performance for this species. This is somewhat surprising since seedling initial response and, particularly, seedling rooting ability are crucial for ensuring a summer water supply and successful establishment under Mediterranean conditions ([Fonseca, 1999] and [Reader et al., 1993]). According to Simpson and Ritchie (1997), the ability of seedling vigor to predict field performance may be low when planting site conditions are mild, or when they are harsh but seedlings are highly resistant to stress.

Interestingly, the residuals of the linear relationship between stem height in nursery seedlings and RGP were significantly affected by the

treatments ($F_{4,40} = 4.232$, $p = 0.006$), suggesting that nutrient regimes had an effect on RGP beyond that resulting from seedling size. Resource storage probably played a role in determining RGP in these seedlings.

In conclusion, nutrient management in the nursery showed a strong potential to modify morpho-functional characteristics of *Q. suber* seedlings, and thus it represents a powerful tool to manipulate seedling quality. However, field performance was not related to initial seedling size or root growth potential, suggesting that other factors may be stronger drivers for field performance in this species. According to our results, standard fertilization seems the best option for producing high quality *Q. suber* seedlings.

5. Acknowledgements

This study was funded by the Government of the Region of Valencia (Generalitat Valenciana), the Bancaixa Foundation, the European project CREOAK (QLRT-2001-01594) and the projects SUROS (MICINN, REN2002-11326-E), GRACCIE (MICINN, Consolider-Ingenio 2010, CSD2007-00067) and ESTRES (MARM, 063/SGTB/2007). We are grateful to Marian Perez, Adolfo Miravet and Oret Subericultura SA for their help. JC acknowledges support from the Secretaría de Estado de Universidades e Investigación, Ministerio de Educación y Ciencia (PN Ayudas para la Movilidad), and thanks the Ecological Restoration Institute and the School of Forestry, Northern Arizona University for their hospitality.

6. References

- Alloza, J.A., Vallejo, R. 1999. Relación entre las características meteorológicas del año de plantación y los resultados de las plantaciones. *Ecología* 13: 173–187.
- Almeida, H., Merouani, H., Costa e Silva, F., Trubat, R., Khaldi, A., Stiti, B., El Alami, L., Vallejo, R. 2009. Manipulation of cork oak

- regeneration materials and nurseries techniques. In: J. Aronson, J.S. Pereira and J.G. Pausas, Editors, *Cork Oak Woodlands in Transition: Ecology, Adaptive Management, and Restoration of an Ancient Mediterranean Ecosystem*, Island Press.
- Birk, E.M., P.A. Matson, P.A. 1986. Site fertility affects seasonal carbon reserves in loblolly pine. *Tree Physiology* 2: 17–27.
- Bollmark, L., L. Sennerby-Forsse, L., Ericsson, T. 1999. Seasonal dynamics of nitrogen supply rate on nitrogen and carbohydrate reserves in cutting-derived *Salix viminalis* plants. *Canadian Journal of Forest Research* 29: 85–94.
- Bonneau, M. 1988. Le diagnostic foliaire, *Revue Forestière Française*. 40: 19–28.
- Burdett, A.N. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal of Forest Research* 20: 415–427.
- Castro-Díez, P., Villar-Salvador, P., Pérez-Rontomé, C., Maestro-Martínez, M., Montserrat-Martí, G. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Trees* 11: 127–134.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Hernandez, E.I., Matos A., Vallejo, R. 2008. Effects of a deep container on morpho-functional characteristics and root and root colonization in *Quercus suber* L. seedlings for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology Management* 256: 779–78.
- Comas L.H., Eissenstat, D.M. 2002. Linking fine roots traits to maximal potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology* 18: 388–397.
- Cornelissen, J.H.C., Werger, M.J.A., Castro-Díez, P., van Rheenen, J.W.A. Rowland, A.P. 1997. Foliar nutrients in relation to growth, allocation and leaf traits in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia* 111: 460–469.
- Cortina, J. Bellot, J., Vilagrosa, A., Catarla, R., Maestre, F., Rubio, E., Martínez, J.M., Bonet, A. 2004 Restauración en semiárido. In: V.R. Vallejo and J.A. Alloza, Editors, *Avances en el Estudio de la*

- Gestión del Monte Mediterráneo*, Fundación CEAM, Valencia 345–406.
- Cortina, J., Navarro, R.M., del Campo, A. 2006. Evaluación del éxito de la reintroducción de especies leñosas en ambientes Mediterráneos. In: J. Cortina, J.L. Peñuelas, J. Puértolas, A. Vilagrosa and R. Savé, Editors, *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos. Organismo Autónomo Parques Nacionales*, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid. 67–69.
- Cortina, J., Pérez-Devesa, M., Vilagrosa, A., Abourouh, M., Messaoudène Berrahmouni, N. 2009. L.N. Silva and A. Khaldi, Artificial regeneration of cork oak. In: J. Aronson, J.S. Pereira and J.G. Pausas, Editors, *Cork Oak Woodlands in Transition: Ecology, Adaptive Management, and Restoration of an Ancient Mediterranean Ecosystem*, Island Press.
- Fitter, A.H. 1991. Characteristics and functions of root systems. In: Y. Waisel, E. Eshel and U. Kafkafi, Editors, *Plant Roots, the Hidden Half* (first ed), Marcel Dekker, New York, USA.
- Fonseca, D., 1999. Manipulación de las características morfoestructurales de plantones de especies forestales mediterráneas producidos en vivero. Implicaciones sobre su viabilidad y adaptación a condiciones de campo en ambiente semiárido. MSc thesis, IAMZ, Zaragoza.
- García-Cebrián, F., Esteso-Martínez, J., Gil-Pelegrín, E. 2003. Influence of cotyledon removal on early seedling growth in *Quercus robur* L. *Annals of Forest Science* 60: 69–73.
- Gea-Izquierdo, G., Canellas, I., Montero, G. 2006. Acorn production in Spanish holm oak woodlands. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 15: 339–354.
- Kathju, S., Burman, U., Garg, B.K. 2001. Influence of nitrogen fertilization on water relations, photosynthesis, carbohydrate and nitrogen metabolism of diverse pearl millet genotypes under arid conditions. *Journal of Agricultural Science* 137: 207–318.

- Kaushal, P., Aussenac, G. 1989. Transplanting shock in Corsican pine and cedar of Atlas seedlings: internal water deficits, growth and root regeneration. *Forest Ecology Management* 27: 29–40.
- Landis, T.D. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality. In: M.L. Duryea, Editor, *Evaluating Seedling Quality: Principles, Procedures, and Predictive Abilities of Major Tests. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis*, pp. 29–48.
- Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymology* 148: 350–382.
- Ludovici, K.H., Allen, H.L., Albaugh, T.J., Dougherty, P.M. 2002. The influence of nutrient and water availability on carbohydrate storage in loblolly pine. *Forest Ecology Management* 159: 261–27.
- Maestre, F.T., Cortina, J., Bautista, S., Bellot, J., Vallejo, V.R. 2003. Small-scale environmental heterogeneity and spatio-temporal dynamics of seedling establishment in a semiarid degraded ecosystem. *Ecosystems* 6: 630–643.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher Plants* (second ed.), Academic Press, London.
- Miller, P.C., W.A. Stoner, W.A. 1979. Canopy structure and environmental interactions. In: O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson and P.H. Raven, Editors, *Topics in Plant Population Biology*, Columbia University Press, New York, USA, pp. 438–458.
- Navarro, R.M., Villar-Salvador, P., del Campo, A. 2006. Morfología y establecimiento de los plantones. In: J. Cortina, J.L. Peñuelas, J. Puértolas, A. Vilagrosa and R. Savé, Editors, *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos. Organismo Autónomo Parques Nacionales*, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, pp. 67–69.
- Newton and Pigott, 1991 A.C. Newton and C.D. Pigott, Mineral nutrition and mycorrhizal infection of seedling oak and birch. I. Nutrient uptake and the development of mycorrhizal infection during seedling establishment. *New Phytologist* 117: 37–44.

- Nielsen, E.T., Orcutt, D.M. 1996. *Physiology of Plants Under Stress: Abiotic Factors*, Wiley, New York.
- Oliet, J., Planelles, R., López, M., Artero, F. 1997. Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de *Pinus halepensis* Mill. *Investigaciones Agrarias: Sistema y Recursos Forestales* 8: 207–228.
- Oliet, J., Planelles, R., Segura, M.L., Artero, F., Jacobs, D.F. 2004. Mineral nutrition and growth of containerized *Pinus halepensis* seedlings under controlled-release fertilizer. *Scientia Horticulturae* 103: 113–129.
- Oliet, J., Valdecantos, A., Puértolas, J., Trubat, R. 2006. Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones. In: J. Cortina, J.L. Peñuelas, J. Puértolas, A. Vilagrosa and R. Savé, Editors, *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos*, Organismo Autónomo Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid (2006), pp. 109–111.
- Oliveira, G., Martins-Louçao, M.A., Correia, O., Catarino, F. 1996. Nutrient dynamics in crown tissues of cork oak (*Quercus suber* L). *Trees* 10: 247–254.
- Padilla, F.M., Pugnaire, F.I. 2007. Rotting depth and soil moisture control Mediterranean woody seedling survival during drought. *Functional Ecology* 21: 489–495.
- Pérez-Devesa, M., Cortina, J., Vilagrosa, A., Vallejo, V.R. 2008. Shrubland management to promote *Quercus suber* L. establishment. *Forest Ecology Management* 255: 374–382.
- Poorter, H., Nagel, O. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 595–607.
- Radin, J.W. 1984. Stomatal responses to water stress and to abscisic acid in phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiology* 75: 372–377.

- Reader, R.J., Jalili, A., Grime, J.P., Spencer, R.E., Matthews, N. 1993. A comparative study of plasticity in seedling rooting depth in drying soil. *Journal of Ecology* 81: 543–550.
- Reinbott, T.M., Blevins, D.G. 1999. Phosphorus nutritional effects on root hydraulic conductance, xylem water flow and flux of magnesium and calcium in squash plants. *Plant and Soil* 209: 263–273.
- Robert, B., Bertoni, G., Sayag, D., Masson, P. 1996. Assessment of mineral nutrition of cork oak through foliar analysis. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 27: 2091–2109.
- Rubio, G., Zhu, J.M., Lynch, J.P. 2003. A critical test of the two prevailing theories of plant response to nutrient availability. *American Journal of Botany* 90: 143–152.
- Sanz-Pérez, V., Castro-Díez, P., Valladares, F. 2007. Growth versus storage: responses of Mediterranean oak seedlings to changes in nutrient and water availabilities. *Annals of Forest Science* 64: 201–210.
- Seva, J.P., Valdecantos, A., Vilagrosa, A., Cortina, J., Bellot, J., Vallejo, V.R. 2000. Seedling morphology and survival in some Mediterranean tree and shrub species EC Report EUR 19303, Brussels. In: P. Balabanis, D. Peter, A. Ghazi and M. Tsogas, Editors, *Mediterranean Desertification*. Research Results and Policy Implications Vol. 2: 397–406.
- Simpson, D.G., Ritchie, G.A. 1997. Does RGP predict field performance? A debate. *New Forests* 13: 249–273.
- Singh, D.K., Sale, P.W.G. 2000. Growth and potential conductivity of white clover roots in dry soil with increasing phosphorus supply and defoliation frequency. *Agronomy Journal* 92: 868–874.
- Tan, W., Hogan, G.D. 1997. Physiological and morphological responses to nitrogen limitation in jack pine seedlings: potential implications for drought tolerance. *New Forests* 14: 19–31.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Cuadernos de la SECF*. 17: 245–251.

- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* L. *Trees* 20: 334–339.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments* 72: 879–890.
- Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R. 2006. Nutrient status and field performance of tree seedlings planted in Mediterranean degraded areas. *Annals of Forest Science* 63: 249–256.
- van den Driessche, R. 1984. Relationship between spacing and nitrogen fertilization of seedlings in the nursery, seedling mineral nutrition and outplanting performance. *Canadian Journal of Forest Research* 14: 431–436.
- van den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen and potassium treatments. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 740–749.
- Vilagrosa, A., Cortina, J., Gil-Pelegrín, E., Bellot, J. 2003. Suitability of drought-preconditioning techniques in Mediterranean climate. *Restoration Ecology* 1: 208–216.
- Vilela, A.E., Rennella, M.J., Ravetta, D.A. 2003. Response of tree-type and shrub-type *Prosopis* (Mimosaceae) taxa to water and nitrogen availabilities. *Forest Ecology Management* 186: 327–337.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Enrique, E., Peñuelas, J.R. 2004. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest Ecology Management* 196: 257–266.
- Waring, R.H., McDonald, A.J.S., Larson, S., Ericsson, T., Wiren, A., Arwidson, E., Ericson A., Lohammar, T. 1985. Differences in chemical composition of plants grown at constant relative rates with stable mineral nutrition. *Oecologia* 66: 157–160.
- Yates, E.J., Ashwath, N., Midmore, D.J. 2002. Responses to nitrogen, phosphorus, potassium and sodium chloride by three mangrove species in pot culture. *Trees* 16: 120–12.

CAPÍTULO 4

Short term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings in Mediterranean woody species

Roman Trubat, Jordi Cortina y Alberto Vilagrosa

Journal of Arid Environments 2008 72: 879-890

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Capítulo 4

El endurecimiento nutricional incrementa la supervivencia de brinzales de especies leñosas Mediterráneas

Este capítulo reproduce íntegramente el texto del siguiente manuscrito:

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments* 72: 879-890.

Resumen

El establecimiento de brinzales en áreas del Mediterráneo está fuertemente limitado por el agua y los nutrientes. En este estudio evaluamos el efecto de la reducción en el aporte de nitrógeno en la última fase de crecimiento en vivero, noviembre del 2003, sobre las características morfo-funcionales y comportamiento en campo de brinzales de *Pistacia lentiscus*, *Rhamnu salaternus*, *Rhamnus lycioides*, *Quercus coccifera*, y *Tetraclinis articulata*. La plantación se llevó a cabo en una zona degradada del semiárido situado al Sureste de la Península. Para determinar la efectividad del endurecimiento sobre los brinzales, se analizó la morfología, distribución de biomasa, y la supervivencia en campo. Se examinó la relación entre la concentración de nutrientes foliar y supervivencia de los brinzales. El endurecimiento provocó una reducción del tamaño del brinjal, del diámetro del cuello de la raíz, área foliar, área foliar específica y del crecimiento potencial de raíces. Los brinzales endurecidos mostraron un rango de supervivencia superior a los del tratamiento Control después de tres y seis meses a partir de la plantación. La supervivencia a corto plazo fue muy dependiente de la especie y las condiciones nutricionales. Concluimos que el endurecimiento

nutricional puede aumentar la resistencia de los brinzales a la sequía.

Palabras clave: atributos funcionales; supresión de nutrientes; crecimiento potencial de raíces; establecimiento en campo; calidad de planta.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species

Roman Trubat¹, Jordi Cortina¹, Alberto Vilagrosa²

¹ Dept. d'Ecologia and Multidisciplinary Institute for Environmental Studies,
Universitat d'Alacant, Ap. 99, 03080 Alacant

² Fundacion Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo (CEAM),
Parque Tecnológico, C/Charles Darwin, 46980 Paterna, Spain

Abstract

Tree seedling establishment in Mediterranean areas is strongly limited by water and nutrients. In this study, we address the effect of nitrogen deprivation during the late phase of nursery growth, in November 2003, on the morpho-functional traits and field performance of *Pistacia lentiscus*, *Rhamnus alaternus*, *Rhamnus lycioides*, *Quercus coccifera*, and *Tetraclinis articulata* seedlings. A field experiment was carried out in degraded semi-arid land in eastern Spain. To assess the effectiveness of nitrogen hardening of seedlings on their establishment in this area, we analyzed plant morphology, biomass partitioning, and field survival. The relationships between foliar nutrient concentrations and plant survival were also analyzed. Nitrogen hardening reduced shoot size, root collar diameter, leaf area, specific leaf area, and root growth potential. Seedlings deprived of N showed a higher survival range than those subjected to standard fertilization both 3 months after outplanting and 6 months later. Short-term field survival was highly dependent on the species and the nutritional conditions. We conclude that nutrient hardening may enhance plant resistance to drought.

Keywords: Drought; Functional attributes; Seedling establishment; Nutrient status; Root Growth Potential; Seedling performance; Seedling quality



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. Introduction

In Mediterranean areas the establishment of woody seedlings is strongly limited by water and nutrients. Seedling mortality can be very high, especially during the first summer after outplanting (Cortina et al., 2004). Nursery techniques may help to improve seedling performance in the field (Howell and Harrington, 2004; Landis, 1985). However, desirable seedling morpho-functional traits, and cultural practices to obtain them, are still under discussion (Cortina et al., 2006). In these areas, nursery seedlings have traditionally been grown under stress to promote acclimation to unfavorable field conditions. More recently, several studies demonstrated that seedling survival was positively affected by nursery practices aimed at increasing seedling vigor ([Oliet et al., 1997] and [Oliet et al., 2004]; Villar-Salvador et al., 2004). Nevertheless, exceptions have been found, particularly under semi-arid conditions (Seva et al., 2000; Trubat et al., 2004).

Hardening woody seedlings by exposing them to mild or short-term stress has been recommended to promote acclimatization to harsh environmental conditions in the field (Villar-Salvador et al., 1999). Several studies have evaluated the effect of drought preconditioning on field performance of Mediterranean woody species (Vilagrosa et al., 2003b; Villar-Salvador et al., 1999). In contrast, nutritional hardening, that is, a reduction in nutrient supply (particularly nitrogen) to promote stress-resistance mechanisms, has received less attention.

Some studies have shown that plants growing under high nutrient availability may be more able to sustain growth, and maintain photosynthesis and stomatal conductance at higher levels, than plants growing under low nutrient availability (Abrams, 1988). Other studies, however, have shown opposite results (Hechler et al., 1991). Seedling response to nutritional hardening may depend on the duration and intensity of the reduction in resource supply, and on the

seedling developmental stage. When hardening is performed during winter, when active growth ceases, it may affect the assimilation and storage of nutrients and carbohydrates (Balsberg Pålsson, 1992; van den Driessche, 1983). When it is applied during the phase of active growth, we can expect seedlings to show more morpho-functional responses. These processes imply a high degree of feedback. For example, nutrient limitation may reduce aboveground growth rates, but promote biomass allocation belowground and root uptake rates (Trubat et al., 2006).

Seedlings subjected to low N availability may be better adapted to drought because of reduced leaf size and increased allocation of biomass and nutrients belowground (Chapin, 1991b; Liu and Dickmann, 1993). This shift in biomass allocation is a common response to drought as well (Mooney and Winner, 1991; Tan et al., 1995). On the other hand, soil nitrogen availability is frequently low in degraded Mediterranean soils, and may limit seedling establishment (Bottner et al., 1995; Martínez-Mena et al., 2002; Valdecantos et al., 2006). The depletion of seedling N reserves resulting from a reduction in the N application rate could compromise seedling performance in the field. However, a reduction in the N supply could also favor the luxury consumption of phosphorus and other macronutrients (Jupp and Newman, 1987) and improve seedling capacity to withstand the low P availability common in basic dryland soils (Valdecantos, 2003).

The aim of this experiment is to evaluate the effect of late-season N deprivation on the morpho-functional traits and field performance of nursery seedlings of five Mediterranean woody species. To our knowledge, nutritional hardening has not been evaluated in Mediterranean woody species. Our hypotheses are: (1) N hardening will affect plant morphology and nutritional status by reducing seedling size, increasing biomass allocation belowground, and reducing the N-to-P ratio in leaves, (2) the magnitude of the changes may be species-dependent, and (3) morpho-functional changes

resulting from N hardening may improve seedling performance in the establishment phase.

2. *Materials and methods*

Seedlings of *Pistacia lentiscus* (L.), *Quercus coccifera* (L.), *Rhamnus lycioides* (L.), *Rhamnus alaternus* (L.), and *Tetraclinis articulata* (L.) were grown in a public nursery (Santa Faç, Alicante, SE Spain; 38°23'N, 0°26'E, 50 m a.s.l.), under semi-arid climate, with a 30-yr average annual precipitation and average temperature of 353 mm and 18 °C, respectively. Seedlings were grown from February 2002 to February 2003 in 305 cm³ forest containers (Super-leach[®]) filled with a mixture of peat and coco-peat (1:1). Seeds from the five species were collected from local provenances (Region of Valencia, Eastern Spain) by the Forest Services (Generalitat Valenciana Forest Seed Bank). Seedlings were cultivated in the open air and fertilized every two days with 40 mL of a modified Hoagland's solution containing 150 mg N L⁻¹ [as Ca (NO₃)₂ and K (NO₃)], 80 mg P L⁻¹ (as KH₂PO₄), and 100 mg K L⁻¹ (Control, hereafter C).

In November 2003 another fertilization level was differentiated. Nutritional hardening was imposed on half of the seedlings, selected randomly. The nitrogen concentration was reduced from 150 to 40 mg N L⁻¹ while the supply rate of the other nutrients was kept constant (Nutritional hardening, hereafter NH). Nitrogen deprivation lasted from November 2002 to February 2003.

Measurements of stem height, root collar diameter (RCD), leaf area, biomass accumulation, and foliar nutrient content were carried out at the end of the nursery period (February 2003). Measurements were taken in 10 randomly selected seedlings per species and treatment. Leaf area was measured by scanning the leaves (EPSON Expression 1680 Pro scanner with transparency adapter) and analyzing the image by means of specific image analysis software (WinRhizo, Régent Instruments Inc., Que., Canada). All biomass

fractions were measured after drying at 65 °C for 48 h. The root weight ratio (RWR, g g^{-1}) was evaluated by calculating the ratio between root dry weight and total dry weight. Specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) was calculated as the ratio between leaf area and foliar dry weight. Dry leaves were fragmented by hand and digested in a heating block at 250 °C with a mixture of H_2SO_4 and H_2O_2 (1:1, v/v). Total N concentration was determined by semi-micro Kjeldahl distillation (Tecator Kjeltect Auto 1030 Analyzer, Hogana, Sweden), and P and K concentration by ICP spectrometry (Perkin Elmer Optima 3000, Perkin Elmer Corporation, Norwalk, CT, USA).

In February 2003, root growth potential (RGP) was measured on 10 seedlings per species and treatment. *T. articulata* was excluded from this analysis because of the lack of seedlings. Seedlings were transplanted to 3 L PVC pots filled with vermiculite, and watered every 2 days with a standard nutrient solution. The growth chamber provided day conditions of 20 °C for 16 h with a photosynthetic photon flux density of $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. The number of newly elongated white roots longer than 5 mm was counted on each seedling at the end of a 21-day period.

Finally, in February 2003, one 50 m×50 m plot was established in a degraded area close to Albaterra (Alicante, SE Spain; 38°14'N, 0°56'E, 350 m a.s.l.; 24° slope; 240° SW aspect). Thirty-five randomly selected seedlings per species and treatment were planted in $40 \times 40 \times 40 \text{ cm}^3$ manually dug planting holes. The species and treatment distribution was also random. The climate is semi-arid, with a 30-yr average annual precipitation and average temperature of 277 mm and 18.2 °C, respectively. Average annual rainfall and temperature in 2003 were 151 mm and 17.2 °C. Soils are loamy-silty loam, Lithic Calcicorthid (Soil Survey Staff, 1990). Seedling survival, stem height and RCD were monitored in all seedlings immediately after outplanting, and before and after the summer of 2003.

Analysis of variance (ANOVA) was used to evaluate the effect of species (random factor with five levels), and N deprivation (fixed factor with two levels) on morphological traits, RGP and nutrient concentration. Only four species were considered for RGP analysis, as previously mentioned. When the ANOVA results showed a significant effect, we performed Student–Newman–Keuls post hoc test for multiple pair-wise comparisons between species. Log-linear analysis was used to test the effect of different fertilization levels on seedling survival. Survival was analyzed separately for each sampling period. RGP was log transformed to meet requirements of normality and homoscedasticity. Statistical analyses were performed with the SPSS 11.0 statistical package (SPSS Inc., Chicago, USA).

3. Results

Reduction in nitrogen availability had a strong effect on foliar nutrient concentration, but the effect differed among species (Table 1). Nitrogen deprivation reduced foliar N concentration in all species. The magnitude of the reduction ranged from 21% (*P. lentiscus*) to 33% (*R. alaternus*). Foliar P concentration in N-deprived *P. lentiscus* seedlings was lower than in well-fertilized seedlings ($F=8.9$; $p<0.01$). The same trend was observed for the other species, but it was not statistically significant. Nitrogen deprivation resulted in a decrease in foliar K concentration in *Q. coccifera* ($F=0.14$; $p<0.01$), and a marginally significant decrease in *T. articulata* ($F=0.01$; $p=0.72$). The N:P ratio in leaves decreased in all species, except for *R. alaternus* ($F=0.5$; $p=0.4$). A significant decrease in the foliar N:K ratio was observed in *P. lentiscus* ($F=4.1$; $p=0.05$), *R. alaternus* ($F=10.6$; $p<0.01$), and *R. lycioides* ($F=5.4$; $p=0.03$).

Nitrogen deprivation had a significant effect on aboveground seedling size in *P. lentiscus* ($F=72.8$; $p<0.001$), *R. alaternus* ($F=8.6$; $p<0.01$) and *R. lycioides* ($F=14.6$; $p<0.01$), and, to a lower extent, in *Q. coccifera* ($F=0.38$; $p=5.7$; Table 2). Reductions in stem height ranged from 13% to 54%, in *R. lycioides* and *P. lentiscus*, respectively.

Pistacia lentiscus also showed the highest reduction in RCD when deprived of N ($F=83.4$; $p<0.001$). *Quercus coccifera* showed no changes in stem height, but it experienced a weak decrease in RCD with NH ($F=0.54$; $p<0.02$; Table 2) in the nursery period, February 2003.

Table 1: Foliar nutrient concentration (mg g^{-1}) of *P. lentiscus* (Pl), *R. alaternus* (Ra), *Q. coccifera* (Qc) and *R. lycioides* (Rl) seedlings grown under standard nutritional conditions (C), and under late-season N deprivation (NH)

		<i>P.lentiscus</i>	<i>R.alaternus</i>	<i>Q.coccifera</i>	<i>R.lycioides</i>	<i>T.articulata</i>
C	N	13.3 ±0.4a	22.6 ±1.2a	14.6 ±1.1a	21.1 ±1.1a	15.7 ±1.2a
	P	6.4 ±0.7a	2.8 ±0.4	3.7 ±0.4	4.1 ±1.1	3.5 ±0.4
	K	8.3 ±0.5	7.5 ±0.7	5.7 ±0.6	6.4 ±1.4	7.8 ±0.5a
	N:P	3.3 ±0.4a	8.9 ±0.8	4.9 ±0.5a	7.4 ±1.1a	5.5 ±0.7a
	N:K	2.2 ±0.2a	3.2 ±0.2a	3.3 ±0.4	4.4 ±0.9a	2.2 ±0.1
NH	N	10.5 ±0.6b	15.1 ±1.3b	10.6 ±0.9b	13.6 ±0.5b	11.5 ±1.2b
	P	3.9 ±0.5b	1.9 ±0.3	2.9 ±0.4	2.4 ±0.4	3.3 ±0.4
	K	6.7 ±0.5	7.1 ±0.8	3.5 ±0.3	6.4 ±1.4	5.9 ±0.8b
	N:P	2.2 ±0.2b	10.4 ±1.7	3.6 ±0.3b	5.1 ±0.8b	3.5 ±0.5b
	N:K	1.6 ±0.3b	2.2 ±0.1b	3.1 ±0.4	2.1 ±0.2b	2.3 ±0.1

Data are means±SE ($N=10$ plants). Results of a two-way ANOVA are shown.

Belowground biomass accumulation showed a similar trend, with significant decreases in *P. lentiscus* ($F=6.1$; $p=0.02$), *R. alaternus* ($F=5.1$; $p=0.03$) and *R. lycioides* ($F=39.4$; $p<0.001$), and no significant

changes in *Q. coccifera* ($F=0.15$; $p=0.7$) and *T. articulata* ($F=0.11$; $p=0.7$) (Table 3). Changes in leaf area paralleled those in aboveground biomass in all species except *T. articulata* ($F=3.8$; $p=0.07$). In this species, a significant reduction in leaf area with no significant reduction in aboveground biomass resulted in a decrease in SLA. *R. alaternus* ($F=6.1$; $p=0.02$) and *Q. coccifera* ($F=6.4$; $p=0.02$) also showed decreases in SLA in response to N deprivation, whereas this effect was absent for *P. lentiscus* ($F=0.006$; $p=0.94$) and the opposite effect, i.e., a significant increase in SLA in preconditioned seedlings, was observed in *R. lycioides* ($F=17.5$; $p=0.001$). Belowground biomass accumulation was reduced by N deprivation in *R. alaternus* ($F=5.01$; $p=0.03$) and *R. lycioides* ($F=11.6$; $p=0.003$), but not in the other species. Interestingly, only one species, *R. lycioides*, showed a significant increase in the root weight ratio in response to the reduction in N supply ($F=31.9$; $p<0.001$).

Table 2: Stem height (cm) and root collar diameter (mm) of seedlings of five Mediterranean woody species grown under standard nutritional conditions (C), and under late-season N deprivation (NH) RWR, root weight ratio (g g^{-1}); SLA, specific leaf area ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$).

		<i>P.lentiscus</i>	<i>R.alaternus</i>	<i>Q.coccifera</i>	<i>R.lycioides</i>	<i>T.articulata</i>
C	Height (cm)	19.5 ±1.3a	13.3 ±1.3a	17.3 ±1.3	10.3 ±0.8a	9.8 ±0.6
	RCD (mm)	4.2 ±0.3a	3.1 ±0.2a	3.9 ±0.2a	2.3 ±0.1a	2.2 ±0.1
NH	Height (cm)	9 ±0.5b	9.1 ±0.7b	16.1 ±1.4	9 ±0.5b	9.5 ±0.6
	RCD (mm)	2 ±0.1b	2.7 ±0.1b	3.7 ±0.2b	2 ±0.1b	2.4 ±0.1

Data are means±SE ($N=10$ plants). Results of a one-way ANOVA are shown

Belowground biomass accumulation showed a similar trend, with significant decreases in *P. lentiscus* ($F=6.1$; $p=0.02$), *R. alaternus* ($F=5.1$; $p=0.03$) and *R. lycioides* ($F=39.4$; $p<0.001$), and no significant changes in *Q. coccifera* ($F=0.15$; $p=0.7$) and *T. articulata* ($F=0.11$; $p=0.7$) (Table 3). Changes in leaf area paralleled those in aboveground biomass in all species except *T. articulata* ($F=3.8$; $p=0.07$). In this species, a significant reduction in leaf area with no significant reduction in aboveground biomass resulted in a decrease in SLA. *R. alaternus* ($F=6.1$; $p=0.02$) and *Q. coccifera* ($F=6.4$; $p=0.02$) also showed decreases in SLA in response to N deprivation, whereas this effect was absent for *P. lentiscus* ($F=0.006$; $p=0.94$) and the opposite effect, i.e., a significant increase in SLA in preconditioned seedlings, was observed in *R. lycioides* ($F=17.5$; $p=0.001$). Belowground biomass accumulation was reduced by N deprivation in *R. alaternus* ($F=5.01$; $p=0.03$) and *R. lycioides* ($F=11.6$; $p=0.003$), but not in the other species. Interestingly, only one species, *R. lycioides*, showed a significant increase in the root weight ratio in response to the reduction in N supply ($F=31.9$; $p<0.001$).

Table 3: Morphological traits of seedlings of five Mediterranean woody species grown under standard nutritional conditions (C), and under late-season N deprivation (NH) RWR, root weight ratio (g g^{-1}); SLA, specific leaf area ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$).

		Shoot dry weight (g)	Root dry weight (g)	Leaf area (cm^2)	RWR (g g^{-1})	SLA ($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)
<i>P. lentiscus</i>	C	1.9 \pm 0.02a	1.1 \pm 0.02	37.5 \pm 1.4a	0.7 \pm 0.01	32.8 \pm 0.36
	NH	0.9 \pm 0.04b	1.1 \pm 0.01	28.8 \pm 1.1b	0.8 \pm 0.01	32.6 \pm 1.28
<i>R. alaternus</i>	C	0.9 \pm 0.01a	0.9 \pm 0.03a	87.2 \pm 3.22a	0.6 \pm 0.01	96.7 \pm 2.4a
	NH	0.6 \pm 0.03b	0.6 \pm 0.04b	36.2 \pm 4.9b	0.7 \pm 0.01	73.1 \pm 3.36b
<i>Q. cocCIFera</i>	C	1.3 \pm 0.04	4.5 \pm 0.2	62.8 \pm 4.45	2.1 \pm 0.06	51.4 \pm 4.2a
	NH	1.2 \pm 0.02	4.7 \pm 0.11	55.5 \pm 1.56	2.3 \pm 0.02	44.2 \pm 1.24b
<i>R. lycioides</i>	C	1.2 \pm 0.03a	0.9 \pm 0.03a	62.4 \pm 2.9a	0.6 \pm 0.01a	54.1 \pm 2.16a
	NH	0.3 \pm 0.08b	0.6 \pm 0.04b	23.4 \pm 3.9b	1.1 \pm 0.05b	65.5 \pm 1.01b
<i>T. articulata</i>	C	0.3 \pm 0.01	0.3 \pm 0.01	20.6 \pm 0.92	0.7 \pm 0.01	68.2 \pm 2.82a
	NH	0.3 \pm 0.02	0.2 \pm 0.02	14 \pm 0.58	0.6 \pm 0.03	50.7 \pm 1.25b

Data are mean \pm SE (N=10 plants). Results of a one-way ANOVA are shown.

Despite the increase in belowground biomass allocation in N-deprived *R. lycioides* seedlings, RGP was lower in these seedlings than in seedlings receiving standard fertilization throughout the nursery period ($F=22.63$; $p=0.001$; Fig. 1). A decrease in RGP was also observed in preconditioned *P. lentiscus* ($F=15.23$; $p=0.002$) and *R. alaternus* ($F=9.37$; $p=0.007$). In contrast, *Q. coccifera* responded to the decrease in N availability by increasing RGP ($F=26.01$; $p=0.001$).

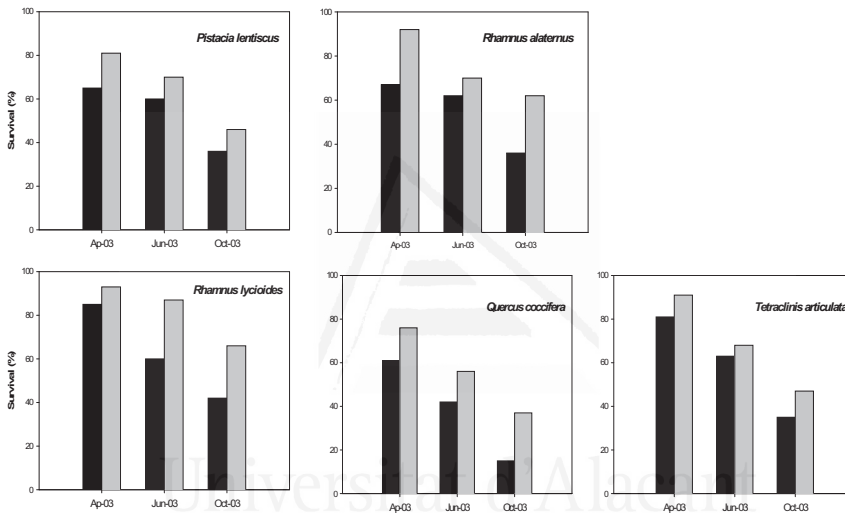


Figure 1: Temporal changes in field survival of seedlings of five Mediterranean woody species grown under standard nutritional conditions in the nursery (black bars), and under late-season N deprivation (gray bars). Different letters indicate significant differences between treatments at $p<0.05$.

Short-term field survival was highly dependent on species ($\chi^2=26.61$; $N=30$; $p=0.014$) and nutritional conditions ($\chi^2=12.66$; $N=29$; $p=0.0004$; Fig. 2). Survival in control seedlings ranged from 61% to 85% in *Q. coccifera* ($\chi^2=9.39$; $N=28$; $p=0.002$) and *R. lycioides* ($\chi^2=3.89$; $N=29$; $p=0.04$), respectively. The effect was independent of the species, as the species \times treatment interaction was not statistically significant. The average survival rate increase associated with N deprivation was 25%. *R. alaternus* showed the largest difference in survival rates in

April ($\chi^2=5.64$; $N=35$; $p>0.001$) between control (67%) and N-deprived seedlings (92%). Seedling mortality increased before and after the first summer in the field. The differences between control and N-deprived seedlings were maintained and even increased afterwards.

4. Discussion

Seedlings receiving low N during the last phase of nursery growth showed lower field mortality than seedlings growing under standard conditions. These results support our hypothesis that short-term nitrogen deprivation at the end of the nursery period would enhance seedling performance under semi-arid conditions. However, the morphological response of the different species was not uniform.

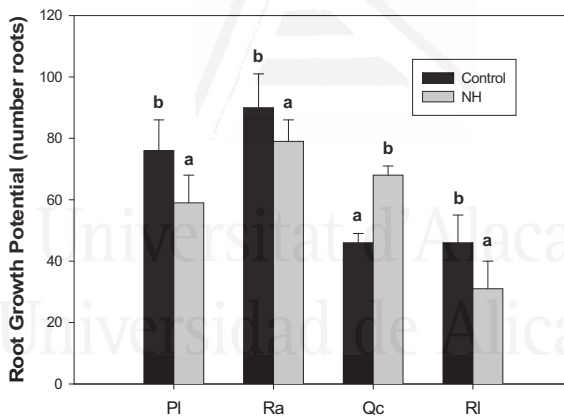


Figure 2: Root growth potential of *P. lentiscus* (PI), *R. alaternus* (Ra), *Q. coccifera* (Qc) and *R. lycioides* (RI) seedlings growing under standard nutritional conditions (black bars), and under late-season N deprivation (gray bars), as measured under high water and nutrient availability. Data are means \pm 1 SE ($N=10$ plants). Different letters for a given species indicate significant differences at $p<0.05$.

Reductions in N availability had a strong effect on foliar N concentration in all species. But it must be noted that N-deprived seedlings showed foliar N concentration values far above the levels that have been commonly associated with N deficiency (Boardman et al., 1997; Bonneau, 1988; Trubat et al., 2004). These seedlings also showed a trend towards lower foliar P and K concentrations. This is in contrast with studies showing a luxury consumption of other nutrients when the N supply rate is low (Jupp and Newman, 1987), but it is in agreement with studies showing that a weak P deficiency may develop in plants subjected to deficient N availability (Ashraf et al., 2001; Gutierrez-Boem and Thomas, 2001). Decline in foliar K concentration in N-deprived seedlings may reflect a reduced demand for K resulting from the decrease in growth rate (Jarvis et al., 1990; Subasinghe, 2006). The increase in root K concentration resulting from a reduction in growth rate may act as a negative feedback for K uptake and translocation aboveground (Zsoldos et al., 1990).

The role that decreases in foliar nutrient concentration had on the observed field performance is not clear. Some plant strategies to cope with drought, such as increased biomass allocation belowground, increased water use efficiency or changes in root morphology, have been described for N and P limited plants (Forde and Lorenzo, 2001; Trubat et al., 2006). Potassium deficiency commonly hampers plant resistance to drought (Marschner, 1995). But K levels in the Mediterranean seedlings tested were probably not so low. On the contrary, K limitation may have promoted an increase in the water uptake rate, and thus the observed improvement in field performance (as described in Quintero et al., 1998).

The reduction in N supply resulted in smaller seedlings in three out of five of the species tested. Reduced growth rates are common in plants living in low-resource environments, including those characterized by drought (Chapin, 1991a). Previous studies have shown that plant growth cycles have important implications with respect to transplant and fertilization timing (Marler and Willis,

1996). The timing of cycle events through the year is a decisive feature determining plant adaptation to seasonally changing environments (Orshan, 1989). Plant phenological patterns in semi-arid regions have been related to seasonality (Castro-Díez and Montserrat-Martí, 1998). However, individual species growing under the same climate may differ widely in the arrangement of their phenophases. All the species tested showed higher relative growth rates in the spring, although they differed widely in the start and end dates of their growing period. Castro-Díez et al. (2003) showed that the earliest onset of spring growth was detected in February (*R. alaternus*); the latest, in *P. lentiscus*, occurred between late April and early May, coinciding with the cessation of growth in *Q. coccifera* and *R. lycioides* (Castro-Díez et al., 2003). In addition, the magnitude of the response probably depended on species growth and resource allocation patterns. We did not build a complete nutrient balance for each species. But we can hypothesize that *Q. coccifera*, a rather conservative species in terms of growth rate and water use (Vilagrosa et al., 2003a), probably stored higher amounts of nutrients in woody tissues, particularly the tap root, which were mobilized as nutrients became limiting. Finally, nutrients accumulated in *Q. coccifera* acorns may have supported the phase of low N supply. Internal remobilization allows growth to be partly independent of external nutrient availability (Chapin, 1991a). Decreases in total leaf area commonly enhance convective heat loss and facilitate the maintenance of leaf energy balance. A smaller leaf area may reduce transpiration rate in leaves exposed to high radiation, improving water use efficiency under drought (Miller and Stoner, 1979). Additional effects of nitrogen deprivation, such as a reduction in water transport capacity (Ewers et al., 2000; Trubat et al., 2006), may also play a role in the water economy of N-limited plants by promoting a conservative use of water (Sperry, 2003).

Q. coccifera, *T. articulata*, and *R. alaternus* showed a significant reduction in SLA with N deprivation. These may reflect different proportions of new leaves in control and N-deprived seedlings,

although it must be noted that in *Q. coccifera*, the difference in foliar surface between both sets of seedlings was rather small, and was not statistically significant. In contrast, the increase in SLA in N-deprived *R. lycioides*, and the lack of response in *P. lentiscus*, cannot be attributed to new growth. Changes in SLA can be explained by variations in leaf thickness. These variations can be the consequence of several anatomical changes, such as a reduction in cell diameter, an increase in cell wall thickness, and an increase in the proportion of dense tissues (Castro-Díez et al., 1997). Reductions in SLA have frequently been associated with an increased capacity to withstand drought (Corcuera et al., 2002). Low SLA, leaf thickness and reduced leaf area (Castro-Díez et al., 1997) are features that improve drought resistance in Mediterranean species, decreasing photochemical damage to the photosynthetic system and reducing transpiration rates by lowering leaf temperature under water stress (Gratani and Bombelli, 2001).

Root to shoot allocation patterns did not follow the expected inverse relationship with nutrient supply. An increase in root:shoot ratio is predicted to be a better strategy for maintaining growth under water-limiting conditions, because it can increase water and nutrients absorption and return carbon and nutrient contents to a balance more favorable for storage (Vilela et al., 2003). But only *R. lycioides* showed higher biomass allocation belowground as a response to the decrease in N availability. Biomass allocation to roots in N-deprived seedlings may be limited by low levels of P (van den Driessche and El-Kassaby, 1991). However, in previous studies we found that the RWR of *P. lentiscus* seedlings showed no increase in response to low N and water availability (Cortina et al., 2007; Trubat et al., 2006), suggesting that increased biomass allocation belowground may not be a major strategy for coping with depletion of soil resources in some Mediterranean species.

Seedling ability to colonize fertile soils, as reflected by the RGP, was highly sensitive to N deprivation. The formation of new roots is

critical for seedling establishment after transplanting (Kaushal and Aussenac, 1989). Three out of the four species tested showed a significant decrease in RGP when N was removed from the nutrient solution. This is in agreement with studies showing a strong relationship between seedling vigor and RGP (McCreary and Duryea, 1987; Villar-Salvador et al., 2004), including studies with the same species tested here (Trubat et al., 2004). In contrast, *Q. coccifera*, which showed a weak morphological response to N deprivation, increased RGP by 21% in response to this treatment. Differences in RGP did not translate into differences in field performance. This was somewhat surprising as, under Mediterranean conditions, the initial seedling response, and particularly its ability to root, may be crucial to ensure water supply during the summer, and successful seedling establishment (Reader, 1993; Fonseca, 1999). Thus, one would expect that initial survival potential and field performance would be closely related. According to Folk and Grossnickle (1997), the ability of seedlings to produce new roots (RGP) shows a low capacity to predict field performance when conditions at the planting site are mild, or when they are harsh but seedlings are highly resistant to stress. The latter was probably the case in the present study.

In conclusion, seedlings deprived of N during the last phase of nursery growth showed higher field survival. The positive effect of N deprivation was related to a decrease in seedling size. In contrast to our expectations, the positive effect of N deprivation was not related either to increased biomass allocation belowground, or to luxury consumption of nutrients other than N. A short-term reduction in N availability prior to planting seems to be a promising technique to improve the establishment of woody species in semi-arid environments.

5. Acknowledgements

This research was funded by the CEAM Foundation (Project: “Selección de Procedencias y Producción de Planta en Vivero para la Restauración de la Cubierta Vegetal y Control de la Erosión en Clima Semiárido”). The CEAM Foundation is funded by Generalitat Valenciana and Fundació Bancaixa. We are grateful to Marian Pérez, Amina Gobbi, Tadas Bitinas, and Santi Soliveres for their help with the fieldwork, and to Felipe Gil and the Conselleria de Territori i Habitatge for the use of Sta. Faç- public nursery. J.C. acknowledges support from the Ministerio de Educación y Ciencia (Programa Nacional de Ayudas para la Movilidad), and thanks ERI and the School of Forestry at NAU for their kind hospitality.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

6. References

- Abrams, M.D. 1988. Sources of variation in osmotic potential with special reference to North American tree species. *Forest Science* 34: 1030–1046.
- Ashraf, M., Ahmad, A., McNeilly, T. 2001. Growth and photosynthetic characteristics in pearl millet under water stress and different potassium supply. *Photosynthetica* 39: 389–394.
- Balsberg Pålsson, A.M. 1992. Influence of nitrogen fertilization on minerals, carbohydrates, amino acids and phenolic compounds in beech (*Fagus sylvatica* L.) leaves. *Tree Physiology* 19: 93–100.
- Boardman, R., Cromer, R.N., Lambert, M.J., Webb, M.J. 1997. Forest plantations. In: D.J. Reuter and J.B. Robinson, Editors, *Plant Analysis—An Interpretation Manual*, CSIRO Publication, Collingwood, pp. 505–566.
- Bonneau, M., 1988. Le diagnostic foliaire. *Revue Forestière Française* XL: 19–28.
- Bottner, P., Coûteaux, M.M., Vallejo, V.R. 1995. Soil organic matter in Mediterranean-type ecosystems and global climatic change: a case study—the soils of the Mediterranean basin. In: J.M. Moreno and W.C. Oechel, Editors, *Global Change and Mediterranean-Type Ecosystems*, Springer, New York, pp. 306–325.
- Castro-Díez, P., Montserrat-Martí, G. 1998. Phenological pattern of fifteen Mediterranean phanerophytes from *Quercus ilex* communities of NE-Spain. *Plant Ecology* 139: 103–1122.
- Castro-Díez, P., Villar-Salvador, P., Pérez-Rontomé, C., Maestro-Martínez, M., Montserrat-Martí, G. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Trees* 11: 127–134.
- Castro-Díez, P., Montserrat-Martí, G., Cornelissen, J.H.C. 2003. Trade-offs between phenology, relative growth rate, life form and seed mass among 22 Mediterranean woody species. *Plant Ecology* 166: 117–129.

- Chapin, F.S. 1991a. Integrated responses of plants to stress: a centralized system of physiological responses. *Bioscience* 41: 29–36.
- Chapin, F.S. 1991b. Effects of multiple environmental stresses on nutrient availability and use. In: H.A. Mooney, W.E. Winner and E.J. Pell, Editors, *Responses of Plants to Multiple Stresses*, Academic Press, San Diego, pp. 67–68.
- Corcuera, L., Camarero, J., Gil-Pelegrín, E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. *Trees* 16: 465–472.
- Cortina et al., 2004 J. Cortina, J. Bellot, A. Vilagrosa, R. Caturla, F. Maestre, E. Rubio, J.M. Martínez and A. Bonet, Restauración en semiárido. In: V.R. Vallejo and J.A. Alloza, Editors, *Avances en el Estudio de la Gestión del Monte Mediterráneo*, Fundación CEAM, Valencia, pp. 345–406.
- Cortina et al., 2006 Cortina, J., Peñuelas, J.L., Puértolas, J., Vilagrosa, A., Savé, R. (Coord.), 2006. Calidad de Planta Forestal para la Restauración en Ambientes Mediterráneos. Estado Actual de Conocimientos, Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, 191pp.
- Cortina, J., Green, J.J., Baddeley, J.A., Watson, C.A., 2007. Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: a test of the pipe stem theory. *Environmental and Experimental Botany* 62: 343-350.
- Ewers, B., Oren, R.M., Sperry, J. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance of *Pinus taeda*. *Plant Cell and Environment* 23: 1055–1066
- Folk, R.S., Grossnickle, S.C. 1997. Determining field performance potential with the use of limiting environmental conditions. *New Forests* 13: 121–138.
- Fonseca, D., 1999. Manipulación de las características morfoestructurales de plántones de especies forestales mediterráneas producidas en vivero. Master of Science Thesis, CIHEAM-IAMZ, Zaragoza.

- Forde, B., Lorenzo, H. 2001. The nutritional control of root development. *Plant and Soil* 232: 51–68.
- Gratani, L., Bombelli, A. 2001. Differences in leaf traits among Mediterranean broad-leaved evergreen shrubs. *Annales Botanici Fennici* 38: 15–24.
- Gutierrez-Boem F.H., Thomas, G.W. 2001. Leaf area development in soybean as affected by phosphorus nutrition and water deficit. *Journal of Plant Nutrition* 24: 1711–1729.
- Hechler, W.D., Dawson, J.O., DeLucia, E.H., 1991. Stomatal conductance of seedlings of three oak species subjected to nitrogen fertilization and drought treatments. In: McCormick, L.H., Gottschalk, K.W. (Eds.), *Proceedings of Eighth Central Hardwood Forest Conference*, USDA Forest Service General Technical Report NE-148, pp. 188–193.
- Howell, K.D., Harrington, T.B. 2004. Nursery practices influence seedling morphology, field performance, and cost efficiency of containerized cherrybark oak. *Southern Journal of Applied Forestry* 28: 152–162.
- Jarvis, S.C., Macduff, J.H., Webb, J., Mosquera, A. 1990. Effect of nitrate supply and deprivation and/or defoliation on potassium absorption and distribution in rye grass. *Journal of Experimental Botany* 41: 1–10.
- Jupp, A.P., E.I. Newman, E.I. 1987. Phosphorus uptake from soil by *Lolium perenne* during and after a severe drought. *Journal of Applied Ecology* 24: 979–990
- Kaushal P., Aussenac, G. 1989. Transplanting shock in Corsican pine and cedar of Atlas seedlings: Internal water deficits, growth and root regeneration. *Forest Ecology and Management* 27: 29–40.
- Landis, T.D. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality. In: M.L. Duryea, Editor, *Evaluating Seedling Quality: Principles, Procedures, and Predictive Abilities of Major Tests*, Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis, pp. 29–48.

- Liu, Z., Dickmann, D.L. 1993. Responses of two hybrid *Populus* clones to flooding, drought, and nitrogen availability. II. Gas exchange and water relations. *Canadian Journal of Botany* 71: 927–938.
- Marler, T.E., Willis, L.E. 1996. Root and stem growth pattern of young ‘Mauritius’ lychee trees. *HortScience* 31: 815–818.
- Marschner, H. 1995. *Mineral Nutrition of Higher plants*, Academic Press, San Diego.
- Martínez Mena, M., Alvarez Rogel, J., Castillo, V., Albaladejo, J. 2002. Organic carbon and nitrogen losses influenced by vegetation removal in a semiarid Mediterranean soil. *Biogeochemistry* 61: 309–321.
- McCreary, D., M. Duryea, M. 1987. Predicting field performance of Douglas-fir seedlings: comparison of root growth potential, vigor and plant moisture stress. *New Forests* 1: 153–169.
- Miller, P.C., and W.A. Stoner, W.A. 1979. Canopy structure and environmental interactions. In: O.T. Solbrig, S. Jain, G.B. Johnson and P.H. Raven, Editors, *Topics in Plant Population Biology*, Colombia University Press, New York, USA, pp. 438–458.
- Mooney, H.A., W.E. Winner, W.E. 1991. Partitioning response of plants to stress. In: H.A. Mooney, W.E. Winner and E.J. Pell, Editors, *Responses of Plants to Multiple Stresses*, Academic press, San Diego, pp. 129–141.
- Oliet et al., 2004 J. Oliet, J., Planelles, R., Segura, M.L., Artero, F., Jacobs, D.F. 2004. Mineral nutrition and growth of containerized *Pinus halepensis* seedlings under controlled-release fertilizer. *Scientia Horticulturae* 103: 113–129.
- Oliet, J.A., Planelles, R., López, M., Artero, F. 1997. Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de *Pinus halepensis* Mill. *Investigaciones Agrarias: Sistema y Recursos Forestales* 8: 207–228.
- Orshan, G. 1989. *Plant Pheno-Morphological Studies in Mediterranean Type Ecosystems*, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

- Quintero, J.M., Fournier., Ramos, J., Benlloch, M. 1998. K⁺ status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiologia Plantarum* 102: 279–284.
- Reader, R.J. 1993. Control of seedling emergence by ground cover and seed predation in relation to seed mass for some old-field species. *Journal of Ecology* 81: 169–175.
- Seva, J.P., Valdecantos, A., Vilagrosa, A., Cortina, J., Bellot, J., 2000. Seedling morphology and survival in some Mediterranean tree shrub species. In: Balabanis, P., Peter, D., Ghazi, A., Tsogas, M. (Eds.), *Mediterranean Desertification. Research Results and Policy Implications*. EC Report EUR 19303, Brussels, pp. 397–406.
- Soil Survey Staff, 1990 Soil Survey Staff, *Keys to Soil Taxonomy* (sixth ed), USDA Soil Conservation Service, Pocahontas Press, Blacksburg, VA.
- Sperry, J.S. 2003. Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Sciences*. 164: 115–127.
- Subasinghe, R. 2006. Effect of nitrogen and potassium stress and cultivar differences on potassium ions and nitrate uptake in sugarcane. *Journal of Plant Nutrition* 29: 809–825.
- Tan, W., Blake, T.J., Boyle, T.J.B. 1995. Early selection for drought tolerance and relationship to dry weight partitioning in black spruce families. *Forest Science* 41: 168–180.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Cuadernos de la SECF*. 17: 245–251.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). *Trees* 20: 334–339.
- Valdecantos, A., 2003. Aplicación de fertilizantes orgánicos e inorgánicos en la repoblación de zonas forestales degradadas de la Comunidad Valenciana. Ph.D. Thesis, Biblioteca Virtual Miguel de Cervantes, Alicante.
- Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R. 2003. Nutrient status and field performance of tree seedlings planted in Mediterranean degraded areas. *Annals of Forest Science* 63: 249–256.

- van den Driessche, R. 1983. Growth, survival, and physiology of douglas-fir following root wrenching and fertilization. *Canadian Journal of Forest Research* 13: 270–278.
- van den Driessche, R., El-Kassaby, Y.A. 1983. Inherent differences in response of Douglas-fir families to nitrogen and phosphorus supply levels. *Water Air and Soil Pollution* 54: 657–663.
- Vilagrosa, A., Bellot, J., Vallejo, V.R., Gil-Pelegrín, E. 2003a. Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal of Experimental Botany* 54: 21015–22024.
- Vilagrosa, A., Cortina, J., Gil-Pelegrín, E., Bellot, J. 2003b. Suitability of drought-preconditioning techniques in Mediterranean climate. *Restoration Ecology* 11: 208–216.
- Vilela, A.E., Rennella, M.J., Ravetta, D.A. 2003. Response of tree-type and shrub-type *Prosopis* (Mimosaceae) taxa to water and nitrogen availabilities. *Forest Ecology and Management* 186: 327–337.
- Villar-Salvador, P., Ocaña, L., Peñuelas, J.L., Carrasco, I. 1999. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Annals of Forest Science* 56: 459–465.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Oliet, J., Peñuelas, J.L., Jacobs, D.F., González, M. 2004. Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedlings after drought hardening in the nursery. *Tree Physiology* 24: 1147–1155.
- Zsoldos, F., Haunold, E., Herger, P., Vasfaegy, A. 1990. Effects of sulfate and nitrate on K⁺ uptake and growth of wheat and cucumber. *Physiologia Plantarum* 80: 425–430.

CAPÍTULO 5

Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in Pistacia lentiscus (L.)

Roman Trubat, Jordi Cortina y Alberto Vilagrosa

Trees 2006 20: 334-339

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Capítulo 5

La morfología y conductividad radicular están afectadas por la deficiencia nutricional en plántones de *Pistacia lentiscus* (L.)

Este capítulo reproduce íntegramente el texto del siguiente manuscrito:

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). *Trees Structure and Function*, 20: 334-339.

Resumen:

En ambientes áridos y semiáridos las plantas están limitadas principalmente por el agua y los nutrientes minerales. Los diferentes ajustes morfo-fisiológicos que adquieren las plantas pueden tener implicaciones importantes para resistir la sequía. Varios estudios han demostrado que la deficiencia de N y P puede disminuir la conductividad hidráulica de la planta. Aunque sorprendentemente los estudios realizados sobre las consecuencias de la escasez de agua y nutrientes en plantas xerófitas son muy escasos. En este estudio hemos evaluado los efectos de la restricción de nitrógeno y fósforo en las características morfológicas y conductividad hidráulica en plántones de *Pistacia lentiscus* L. La deficiencia de nitrógeno provocó una disminución de la biomasa aérea, pero no afectó a la biomasa ni morfología radicular. La deficiencia de fósforo provocó en las plantas una disminución del área foliar, pero no en su biomasa. La longitud, la superficie y la conductividad radicular fueron más elevadas en las plantas con deficiencia de fósforo que en las del tratamiento control. Las deficiencias de ambos nutrientes provocaron tanto una disminución de la conductividad hidráulica de la raíz como de la conductividad específica radicular. Por otro lado, la supresión de los nutrientes no afectó de una manera significativa a la conductividad

específica de la raíz por unidad de superficie foliar. Por lo tanto, la adaptación de los brinzales a la baja disponibilidad de nutrientes no afectó a la capacidad de proporcionar agua a las hojas.

Palabras clave: Sequía, conductividad hidráulica radicular, deficiencia nutricional, *Pistacia lentiscus*, longitud específica radicular.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.)

Roman Trubat¹, Jordi Cortina¹, Alberto Vilagrosa²

¹ Dept. d'Ecologia and Multidisciplinary Institute for Environmental Studies, Universitat d'Alacant, Ap. 99, 03080 Alacant

² Fundacion Centro de Estudios Ambientales del Mediterraneo (CEAM), Parque Tecnologico, C/Charles Darwin, 46980 Paterna, Spain

Abstract

The plants in arid and semiarid areas are often limited by water and nutrients. Morpho-functional adjustments to improve nutrient capture may have important implications on plant water balance, and on plant capacity to withstand drought. Several studies have shown that N and P deficiencies may decrease plant hydraulic conductance. Surprisingly, studies on the implications of nutrient limitations on water use in xerophytes are scarce. We have evaluated the effects of strong reductions in nitrogen and phosphorus availability on morphological traits and hydraulic conductance in seedlings of a common Mediterranean shrub, *Pistacia lentiscus* L.. Nitrogen deficiency resulted in a decrease in aboveground biomass accumulation, but it did not affect belowground biomass accumulation or root morphology. Phosphorus-deficient plants showed a decrease in leaf area, but no changes in aboveground biomass. Root length, root surface area, and specific root length were higher in phosphorus-deficient plants than in control plants. Nitrogen and phosphorus deficiency reduced both root hydraulic conductance and root hydraulic conductance scaled by total root surface area. On the other hand, nutrient limitations did not significantly affect root conductance per unit of foliar surface area. Thus, adaptation to low nutrient availability did not affect seedling capacity for maintaining water supply to leaves. The implications for drought resistance and

survival during seedling establishment in semi-arid environments are discussed.

Keywords Drought - Root hydraulic conductance - Nutrient deficiency - *Pistacia lentiscus* - Specific root length



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

1. Introduction

There is a vast amount of information on plant strategies to cope with limiting resources. However, in natural environments, limitation by a single resource is uncommon, and plants must simultaneously optimize the use of multiple resources (Schulze et al. 1991). Xeric environments are characterized by excessive radiation, high-evaporative demand, and low-water availability. Under these conditions, plants have evolved morpho-functional traits to enhance water absorption and transport (Levitt 1980; Larcher 1995). Species respond to water deficit by developing avoidance mechanisms based on stomatal control, reductions in leaf area, leaf size and specific leaf area (Waring et al. 1985), and changes in root hydraulic conductance, which can be considered as a complementary mechanisms for regulating transpiration (Blanco et al. 2002). In drylands, soil fertility is frequently low, due to low rates of nitrogen fixation, organic matter inputs and mineralisation rates, and high rates of phosphorus immobilization (Henkin et al. 1998; Vallejo et al. 1998). Disturbances such as recurrent wildfires, and historical land uses such as low-input agriculture and fiber cropping may have further decreased soil fertility in these areas (Albaladejo et al. 1998). Low-moisture levels can substantially reduce soil nutrient availability by decreasing nutrient diffusion and mass flow (Kramer 1988; Passioura 1988), and nitrification rate (Killham 1995), and by promoting nutrient losses at leaf level (Heckathorn et al. 1997; De Lucia et al. 1998). Thus, it is not surprising that dryland plants frequently show low nutrient levels (Osonubi et al. 1988) and may respond to fertilization (Hamilton et al. 1998).

A negative relationship between water-use efficiency (WUE) and nutrient use efficiency has been observed (Ewers et al. 2000), suggesting that plants cannot fully use nutrients for growth when water is limiting. Increasing N investment in leaves may not result in a significant increase in photosynthesis when plants are under strong water limitation. In contrast, at constant water loss, increases in

tissue N may increase WUE (Field and Mooney 1982). Also, at a constant N concentration, decreases in stomatal conductance may increase WUE but decrease overall photosynthesis, and N use efficiency (Nielsen and Orcutt 1996). Some plant strategies to cope with drought, such as increased biomass allocation belowground, increased WUE or changes in root morphology (Ingstad and Ågren 1991; Jackson et al. 2000) have been described for nutrient-limited plants (Forde and Lorenzo 2001). However, changes in root architecture in drought-stressed plants may reduce plant ability to capture relatively immobile nutrients such as phosphorus (Fitter et al. 1991; Huang and Nobel 1994). Deep rooting, a commonly reported strategy to withstand water limitation, may also promote the exploration of soils horizons that are commonly poor in organic matter and nutrients (Canadell and Zedler 1995).

The limited N and P availability may affect the growth rate and morphology of roots and root hairs. As P deficiency can have a profound effect on root system morphology and architecture (Williamson et al. 2001; Búcio et al. 2002), it may alter plant capacity for water transport, as observed in intact plants and excised roots (Radin and Matthews 1989). Under high-evaporative demand, reductions in the water transport capacity may promote drought stress above ground and increase the risk of hydraulic conductance loss due to the xylem cavitation (Sperry 2000). In xeric environments plants have evolved morphological traits to optimize water absorption and transport, maximizing transport efficiency and avoiding the risk of xylem failure (Martínez-Vilalta et al. 2002).

Despite its importance, little information exists on the effects of nutrient limitation on the water balance of woody plants and, more specifically, on the capacity of the root system to transport water. In semi-arid ecosystems seedling survival is strongly coupled to soil water availability (Cortina et al. 2004). Therefore, changes in root capacity for water transport should affect survival and growth under

field conditions. The objective of this work is to evaluate the effect of nitrogen and phosphorus deficiency on the morphology, biomass allocation and root hydraulic conductance of a common Mediterranean shrub (mastic tree, *Pistacia lentiscus* L.). *P. lentiscus* L. is a widely distributed sprouting species in the Mediterranean (Le Houérou 1981; Naveh 1989) and exhibits a high degree of plasticity in response to drought (Vilagrosa et al. 2003). Previous studies have shown that short-term survival of the Mediterranean shrubs, such as *P. lentiscus* L., under semiarid field conditions can be enhanced when N or P is removed from the nutrient solution during the nursery phase (Trubat et al. 2004).

2. Materials and methods

P. lentiscus L. seeds from a local provenance (E Spain Mountain Ranges) were sown in March 2002 in 305 cm³ (5 cm×5 cm×17 cm) polyethylene plugs with quartz sand as the culture medium. The plants were kept in the open air and watered on alternate days with 40 mL per plant of a modified Hoagland's solution containing 150 mgL⁻¹ nitrogen (as Ca(NO₃)₂ and KNO₃), 80 mg L⁻¹ phosphorus (as KH₂PO₄) and 100 mg L⁻¹ potassium (control seedlings, hereafter C), or with similar solutions containing either no N (Nitrogen-deficient seedlings, hereafter N⁻) or no P (phosphorus-deficient, hereafter P⁻). In N⁻ and P⁻ seedlings, osmolarity of the nutrient solution was adjusted with KCl (Radin 1984). Each treatment was replicated 20 times.

After 6 months, five randomly selected seedlings per treatment were removed from the field in the night before they were to be measured in the laboratory. There, after the stems were then cut 5 cm above the root collar and the root plugs were placed in a pressure bomb (Scholander et al. 1965) with the excised stems protruding from the chamber, hydraulic conductance was measured as described in Nardini et al. (1998). The pressure in the chamber was increased at a rate of about 0.07–0.69 MPa min⁻¹. The flow was then measured at

this pressure after 30 min of equilibration. Flow measurements were made every 2 min over a period of 10 min ($n=5$ measures per pressure level) by placing a plastic capsule with a sponge in contact with the sectioned stem and determining the increase in weight on a digital balance. The pressure was then decreased in steps of 0.17 MPa, at a rate of $0.07 \text{ MPa min}^{-1}$, and the same procedure was followed to measure sap flow at each pressure level tested (i.e., 0.69, 0.52, 0.34, and 0.17 MPa). Flow was plotted against pressure, and root hydraulic conductance (K_R) was estimated as the slope of the linear regression between both variables (Fiscus 1975). Hydraulic conductance of the whole root system is mainly a function of the root surface area (A) in contact with the soil (Nardini et al. 1998), and thus we estimated root specific hydraulic conductance (K_{RR}) as the ratio between root hydraulic conductance (K_R) and root surface area, and leaf specific hydraulic conductance (K_{RL}) as the ratio between root hydraulic conductance (K_r) and leaf area, according to Nardini et al. (2000).

Morphological traits were measured on 20 seedlings per treatment. Root length (cm) and root surface area (cm^2) were measured after washing out the sand, spreading the root system on a A4 size tray to minimize overlaps, scanning (on a professional scanner with transparency adapter; 8-bit grayscale image, resolution 300 dpi), and analyzing the image by means of specific image analysis software (WinRhizo, Régent Instruments Inc., Quebec Canada). Leaf area (cm^2) was measured by the same procedure. Finally, all biomass fractions were dried at 65°C to constant weight. Biomass allocation belowground was evaluated by calculating the root weight ratio (RWR, g g^{-1}) as the ratio between root dry weight and total dry weight (Hunt 1978). We calculated the specific root length (SRL, cm g^{-1}) as the ratio between root length and root dry weight. The specific leaf area (SLA, $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$) was calculated as the ratio between leaf area and foliar dry weight. We estimated root tissue density (RTD, g cm^{-3}) as the ratio between root dry weight and root volume.

The dried leaves were ground in a ring mill and digested in a heating block at 250°C with a mixture of H₂SO₄ and H₂O₂ (1:1, v/v). We determined total N concentration by using semi-micro Kjeldahl distillation (Tecator Kjeltac Auto 1030 Analyzer, Hogana, Sweden), and P, and K concentration by ICP spectrometry (Perkin Elmer Optima 3000, Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA).

3. Results

The reductions in N and P availability had a strong effect on foliar nutrient concentrations. The absence of N in the nutrient solution reduced foliar N concentration from 27.1 to 1.56 mg N g⁻¹ and increased foliar K concentration from 12.9 to 20.6 mg K g⁻¹. P suppression resulted in an 84% decrease in foliar P concentration (Table 1).

Both the number of leaves per plant and the leaf area were reduced by N deficiency (Table 2). Specific leaf area was not affected by this treatment, and thus aboveground biomass was lower in N⁻ plants. Leaf number and leaf area were also lower in P⁻ plants than in control plants. However, specific leaf area decreased from 93.4 to 70.4 cm² g⁻¹ in the absence of P, and aboveground biomass accumulation in P⁻ plants did not differ from that of Control plants. Belowground growth was not affected by N deficiency. Trends toward increasing root length, root surface area, root biomass, and specific root length were not statistically significant. Only root tissue density was higher in N⁻ plants than in control plants. In contrast, root surface area and, marginally, root length in P⁻ seedlings increased as compared to control seedlings. Root biomass accumulation and root tissue density did not differ between control and P⁻ seedlings. Thus, similar values of root biomass accumulation in control and P⁻ seedlings resulted from higher specific root length in the latter. Biomass allocation belowground, as reflected by the RWR, was not affected by N or P deficiency.

Table 1: Foliar nutrient concentration in *P. lentiscus* L. seedlings receiving a complete nutrient solution, a nutrient solution with no N (N⁻) or a no P (P⁻)

	Control	N-	P-	F	p
N mg g ⁻¹	27.1 ± 1.70 ^a	15.6 ± 0.90 ^b	22.5 ± 1.40 ^a	1.676	<0.001
P mg g ⁻¹	5.1 ± 1.10 ^a	5.9 ± 0.14 ^a	0.8 ± 0.20 ^b	10.832	0.002
K mg g ⁻¹	12.9 ± 1.20 ^a	20.6 ± 0.9 ^b	1.036 ± 0.50 ^a	29.66	<0.001

Data are means ± S.E. (n=5 plants). Means followed by the same letter are not significantly different at $P < 0.05$

Sap flow increased linearly with pressure, generating correlation coefficients higher than 0.97 for all plants (Fig. 1). Sap flow was similar for all treatments at low pressure (0.2 MPa), but it was substantially higher in control seedlings than in N⁻ or P⁻ seedlings at higher pressure. Accordingly, root hydraulic conductance (K_R) was reduced by N and P deficiency ($F=6.84$; $P < 0.01$). K_{RR} was also lower in N⁻ and P⁻ seedlings than in the control plants ($F=5.93$; $P < 0.016$) (Fig. 2). In contrast K_{RL} was not affected by N and P deficiency (Fig. 3).

Table 2: Morphological traits of *P. lentiscus* L. Seedlings growing under contrasted nutritional regimes N⁻ and P⁻ plants received no N or P additions, respectively, throughout the period of study.

	Control	N ⁻	P ⁻	F	p
Root dry weight (g)	0.19 ^a :0.01	0.21 ^a :0.03	0.15 ^a :0.05	2.89	0.094
Shoot dry weight (g)	0.37 ^a :0.008	0.26 ^b :0.01	0.35 ^a :0.01	1.39	0.286
Leaf area (cm ²)	32.6 ^a :2.5	25.6 ^b :1.3	25.7 ^b :3.1	4.46	0.007
Root surface area (cm ²)	59.0 ^a :4.7	61.1 ^a :5.8	83.2 ^b :3.1	2.55	0.119
SRL (cm g ⁻¹)	2667 ^a :508	3062 ^a :424	5207 ^b :523	48.69	:0.001
SLA (cm ² g ⁻¹)	93.4 ^a :8.4	98.3 ^a :5.2	70.4 ^b :3.1	1.01	0.046
N ^o Leaves	16.0 ^a :0.9	12.8 ^b :0.7	13 ^b :0.5	6.27	0.006
Root tissue density (g/cm ³)	0.016 ^a :0.01	0.023 ^b :0.01	0.019 ^{ab} :0.01	4.37	0.024
Root length (cm)	512 ^a :21.3	635 ^a :30.2	785 ^b :67.16	3.14	0.08
RWR (g g ⁻¹)	0.32 ^a :0.02	0.30 ^a :0.02	0.38 ^a :0.02	4.014	0.046

Data are means \pm S.E ($n=20$). Different letters in each row indicate significant differences at $P<0.5$

4. Discussion

We found a strong effect of N and P limitation on foliar nutrient concentrations. N concentration in N⁻ seedlings was close to levels that have been commonly associated with N deficiency (Grundon et al. 1997; Connor and Fereres 2005). Foliar P concentration was also close to critical levels in P⁻ seedlings. Potassium concentration

strongly increased in N^- seedlings, suggesting luxury consumption (Marschner 1986).

Aboveground biomass accumulation was reduced by low N availability, an effect that has been widely described in the literature (Ingestad and Ågren 1991; Rubio et al. 2003). N deficiency resulted in a decrease in the number of leaves and the whole plant leaf area, with no changes in specific leaf weight and average leaf area. P deficiency also lowered the number of leaves and whole plant leaf area. But this was not reflected in a decrease in aboveground biomass. The reductions in leaf area in P-deficient plants have been observed elsewhere (Radin and Boyer 1982; Ewers et al. 2000; Yates et al. 2002). The decrease in leaf area may result in a decrease in the whole plant transpiration rates, which would enhance a drought-avoiding strategy (Levitt 1980; Nielsen and Orcutt 1996). Moreover, the proportion of root area versus leaf area increased from 1.8 in control seedlings to 2.4 and 3.2 in N^- and P^- seedlings, respectively. Thus, nutrient-deficient plants maintained a lower transpiring surface per unit of absorbing surface, an adjustment that may favour seedling resistance to water stress.

Nutrient deficiency promoted strong modifications in root system morphology, particularly in P^- seedlings. Specific root length and root surface area increased in P deficient seedlings. Several studies suggest that P deficiency affects root elongation through changes in H^+ excretion and subsequent effects on cell wall loosening (Anuradha and Narayanan 1991). The observed increase in the root surface area resulting from longer and denser fine root may be important in the acquisition of immobile phosphorus (Bielenberg et al. 2001). Higher SRL has been related to increases in exploitation efficiency (Fitter 1991), which would favor uptake efficiency (Comas and Eissenstat 2002). On the other hand, changes in SRL may affect plant capacity to capture and transport water. It has been suggested that higher SRL could favor higher hydraulic conductance (Eissenstat 1991). This does

not seem to be the case in *P. lentiscus* L. seedlings in the present experiment. Other studies on *P. lentiscus* L. and other Mediterranean woody species have found increases in SRL in response to water limitation (Fonseca 1999), suggesting that modifications in root morphology due to low P availability, as observed in the present study, could have a positive net effect on water use.

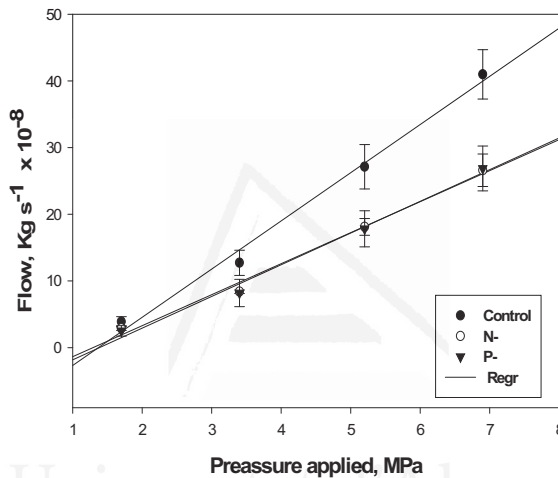


Figure 1: Changes in water flow with pressure in root systems of *P. lentiscus* L. seedlings subjected to contrasted nutritional regimes. Bars correspond to standard errors of $n=5$ plants per treatment. The slopes of the linear relationships between flow and pressure

The weak response of biomass allocation patterns to nutrient limitation was somewhat unexpected. Many studies have reported an increase in biomass allocation belowground under limiting nutrient availability (Ingestad and Ågren 1991). In contrast, our results suggest that root morphology was more sensitive than biomass allocation to P deficiency. Increased resource allocation belowground and reductions in leaf area are common strategies to cope with drought (Levitt 1980; Lloret et al. 1999).

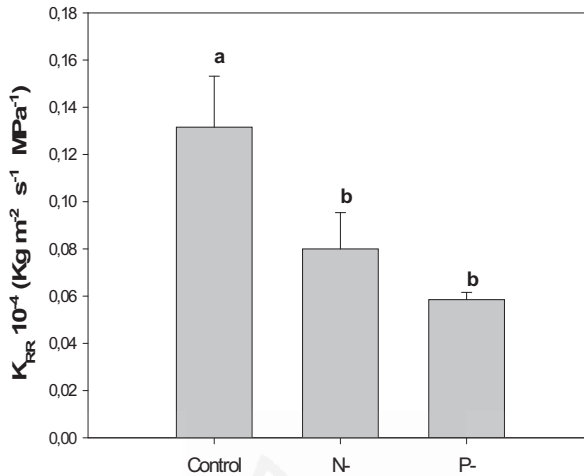


Figure2: Root hydraulic conductance scaled by total root surface area (K_{RR}) of *P. lentiscus* L. seedlings receiving a complete nutrient solution (control) or nutrient solutions with no N (N^-) or no P (P^-). Data are means \pm S.E ($n=5$ plants). Different letters indicate significant differences at $P<0.05$, ($F=593$; $P=0.016$)

However, other studies have found no changes in either the root weight ratio or the root-to-shoot ratio in *P. lentiscus* L. seedlings subjected to mild water stress (Fonseca 1999; Green et al. 2005). Mediterranean drought-resistant species may have acquired genetically determined characters that influence allocation patterns. In fact, several studies have shown that Mediterranean species have low phenotypic plasticity in comparison with species from humid climates (Valladares et al. 2000; Valladares et al. 2002).

Several works have reported a decreased water-transport capacity in nutrient-deficient plants (Radin and Eidenbock 1986; Syvertsen and Graham 1985; Radin and Matthews 1989). In the present study, plants subjected to N and P deficiency showed lower K_{RR} than control plants. These values represented a 27% reduction in the water

transport capacity as compared to control plants on a root surface area basis.

The reduction in the capacity for transporting water in nutrient-deficient plants may have important implications on the water balance of plants (Reinbott and Blevins 1999; Clearwater and Meinzer 2001). Reductions in K_{RR} could result either from decreased hydraulic conductance of the cells in the radial flow pathway or from changes in the hydraulic architecture of the whole root system (Ewers et al. 2000). Moreover, reductions in root hydraulic conductance could be the result of an increased SRL or a decreased conduit diameter (Linton et al. 1998). The parallel decreases in the leaf area and the root hydraulic conductance are consistent with the findings of Radin and Eidenbock (1984). They noted that differences in hydraulic conductance due to low phosphorus supply clearly preceded any effects on leaf area development, and they concluded that hydraulic conductance limited leaf expansion by restricting water transport. A major consequence of parallel decreases in root hydraulic conductance and leaf area was that K_{RL} , a measure of root system capacity for water supply to leaves, was similar in both nutrient-deficient plants and control plants.

Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

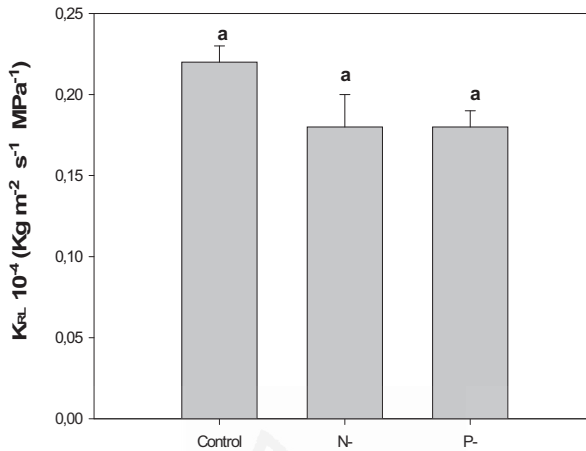


Figure 3: Root hydraulic conductance scaled by total leaf surface area (K_{RL}) of *P. lentiscus* L. seedlings receiving complete nutrient solutions, or nutrient solutions with no N (N^-) or no P (P^-). Data are means \pm S.E ($n=5$ plants). Different letters indicate significant differences at $P<0.05$, ($F=1.26$; $P=0.5$).

Several works have analyzed the relationship between changes in plant hydraulic conductance, and stomatal conductance and transpiration (Nardini et al. 2000; Sperry et al. 2002). High-hydraulic conductance may be advantageous because it facilitates efficient water and nutrient transport to leaves. However, under moderate water availability, limitations to water transport due to reductions in hydraulic conductance may enhance a conservative water use (Hubbard et al. 2001; Sperry 2003). In the present work, root hydraulic conductance scaled by leaf area (K_{RL}) showed the same transport capacity in all treatments. According to Darcy's law (Sperry 2000), the gradient of water potential from soil to leaves should be similar in both control and nutrient-deficient plants for a given evaporative flux, due to similar K_{RL} . The equivalent K_{RL} values show clearly that under a given evaporative flux, pressure gradients at the root level will be the same for all experimental groups.

In conclusion, N deficiency resulted in changes in aboveground biomass accumulation, but it had little effect on belowground morphology or biomass allocation. In contrast, P deficiency resulted in changes in both aboveground and belowground morphology, but not in root and shoot biomass accumulation. Both N and P deficiency strongly reduced hydraulic conductance and root specific hydraulic conductance but showed no significant effect on leaf specific hydraulic conductance. Survival of *P. lentiscus* L. seedlings under semiarid field conditions can be higher in plants that have been grown in nutrient-deficient conditions (Trubat et al. 2004). Our results suggest that the contrasting changes in the morphology of N and P deficient seedling, in conjunction with the decreases in root hydraulic conductance described in the present study, may have a positive net effect on plant performance under field conditions.

5. Acknowledgements

This research was funded by the CEAM Foundation (Project: “Selección de precedencias y producción de planta en vivero para la restauración de la cubierta vegetal y control de la erosión en clima semiárido”) and XylRefor (Manipulación de la arquitectura hidráulica en especies vegetales aplicada a la mejora de la calidad de la planta forestal. Grupos 03/155, financed by the Generalitat Valenciana). The CEAM Foundation is funded by Generalitat Valenciana and Bancaixa. We are also grateful to Marian Pérez.

6. References

- Albaladejo L, Martínez-Mena M, Roldán A, Castillo V (1998) Soil degradation and desertification induced by vegetation in a semiarid environment. *Soil Use Management* 14: 1–5.
- Anuradha, M., Narayanan, A. 1991. Promotion of root elongation by phosphorus deficiency. *Plant Soil* 136: 273–275.
- Bielenberg, D.G., Lynch, J.P., Pell, E.J. 2001. A decline in nitrogen availability affects plant responses to O₃. *New Phytologist* 151: 413–425.
- Blanco, M.J., Rodríguez, P., Morales, M.A., Ortuño, M.F., Torrecillas, A. 2002. Comparative growth and water relations of *Cistus albidus* and *Cistus montpeliensis* plants during water deficit conditions and recovery. *Plant Science* 162: 107–113.
- Búcio, J.L., Abreu E.H., Calderón, L.S., Jacobo, M.F., Simpson, J., Estrella, L.H. 2002. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiology* 129: 244–256.
- Canadell, J., Zedler, P.H. 1995. Underground structures of woody plants in Mediterranean ecosystems of Australia, California and Chile. In: Fox M, Kalin M, Zedler PH (eds) *Ecology and Biogeography of Mediterranean Ecosystems in Chile, California and Australia*. Springer-Verlag, Berlin, pp 177–210.
- Clearwater, M.J., Meinzer, F.C. 2001. Relationships between hydraulic architecture and leaf photosynthetic capacity in nitrogen-fertilized *Eucalyptus grandis* trees. *Tree Physiology* 21: 683–690.
- Comas, L.H., Eissenstat, D.M. 2002. Linking fine root traits to maximal potential growth rate among 11 mature temperate tree species. *Functional Ecology* 18: 388–397.
- Connor, D.J., Fereres, E. 2005. The physiology of adaptation and yield expression in Olive. In: Janick J. (ed) *Horticultural reviews*, vol 31. Wiley.

- Cortina, J., Bellot, J., Vilagrosa, A., Caturla, R., Maestre, F., Rubio, E., Martínez, J.M., Bonet, A. 2004. Restauración en semiárido. In: Vallejo y VR, Alloza JA (eds) *Avances en el Estudio de la Gestión del Monte Mediterráneo*. Fundación CEAM, Valencia, pp. 345–406.
- De Lucia, E.H., Sipe, T.W., Herrick, J., Maherali, H. 1998. Sapling biomass allocation and growth in the understory of a deciduous hardwood forest. *American Journal of Botany* 85: 955–963.
- Eissenstat, D.M. 1991. On the relationship between specific root length and rate of root proliferation: a field study using citrus rootstocks. *New Phytologist* 118: 63–68.
- Ewers, B., Oren, R., Sperry, J. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant Cell Environment* 23: 1055–1066.
- Field, C., Mooney, H.A. 1982. Leaf age and seasonal effects on light, water, and nitrogen use efficiency in California shrub. *Oecologia* 56: 348–355.
- Fiscus, E.L. 1975. The interaction between osmotic- and pressure-induced water flow in plant roots. *Plant Physiology* 55: 917–922.
- Fitter, A.H. 1991. The ecological significance of root system architecture: an economic approach. In: Atkinson D (ed) *Plant root growth: an ecological perspective*, Blackwell, Oxford .
- Fitter, A.H., Stickland, T.R., Harvey, M.L., Wilson, G.W. 1991. Architectural analysis of plant root systems. I. Architectural correlates of exploitation efficiency. *New Phytologist* 118: 375–382.
- Fonseca, D.E. 1999. Manipulación de las características morfoestructurales de plantones de especies forestales mediterráneas producidos en vivero. Implicaciones sobre su viabilidad y adaptación a condiciones de campo en ambiente semiárido. MSc. thesis IAMZ. Zaragoza.
- Forde, B.G., Lorenzo, H. 2001. The nutritional control of root development. *Plant Soil* 232: 51–68.
- Green, J.J., Baddeley, J.A., Cortina, J., Watson, C.A. 2005. Root development in the Mediterranean shrub *Pistacia lentiscus* as

- affected by nursery treatments. *Journal Arid Environments* 61: 1–12.
- Grundon, N.J., Robson, A.D., Lambert, M.J., Snowball, K.A. 1997. Nutrient Deficiency & Toxicity Symptoms. In: Reuter DJ, Robinson JB, Dutkiewicz C (eds) *Plant Analysis, An interpretation manual*, 2nd edn., Collingwood, CSIRO Publishing, Australia 1: 35–47.
- Hamilton, E.W. III., Giovannini, M.S., Moses, S.J., Coleman, J.S., McNaughton, S.J. 1998. Biomass and mineral element responses of a Serengeti short grass species to nitrogen supply and defoliation: compensation requires a critical [N]. *Oecologia* 116: 407–418.
- Heckathorn, S.A., De Lucia, E.H., Zielinski, R.E. 1997. The contribution of drought-related decreases in foliar nitrogen concentration to decreases in photosynthetic capacity during and after drought in prairie grasses. *Physiologia Plantarum* 101: 173–182.
- Henkin, Z., Seligman, N.G., Noy-Meir, I., Kafkafi, U., Gutman, M. 1998. Rehabilitation of Mediterranean dwarf-shrub rangeland with herbicides, fertilizers, and fire. *Journal Range Management* 51: 193–199.
- Huang, B., Nobel, P.S. 1994. Hydraulic conductivity and anatomy for lateral roots of *Agave deserti* during root growth and drought-induced abscission. *Journal Experimental Botany* 43: 1441–1449.
- Hubbard, R.M., Ryan, M.G., Stiller, V., Sperry, J.S. 2001. Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in ponderosa pine. *Plant Cell Environment* 24: 113–121.
- Hunt, R. 1978. *Plant growth analysis*. Studies in biology no. 96. Edward Arnold, London.
- Ingestad, T., Ågren, G. 1991. The influence of plant nutrition on biomass allocation. *Ecological Application* 1: 168–174.
- Jackson, R.B., Sperry, J.S., Dawson, T.E. 2000. Root water uptake and transport: scaling physiological processes for global predictions. *Trends Plant Science* 5: 482–488.

- Killham, K. 1995 Soil Ecology. Cambridge University Press, Cambridge, UK .
- Kramer, P.J. 1988. Changing concepts regarding plant water relations. *Plant Cell Environment* 11: 565–568.
- Larcher, W. 1995. Physiological plant ecology. Springer-Verlag, New York.
- Le Houérou, H.N. 1981. Long-term dynamics in arid-land vegetation and ecosystem of North Africa. In: Goodall DW, Perry RA (eds), *Arid-land ecosystems: structure, functioning and management*. vol 2. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 357–384.
- Levitt, J. 1980. Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
- Linton, M.J., Sperry, J.S., Williams, D.G. 1998. Limits to water transport in *Juniperus osteosperma* and *Pinus edulis*: implications for drought tolerance and regulation of transpiration. *Functional Ecology* 12: 906–911.
- Lloret, F., Casanovas, C., Peñuelas, J. 1999. Seedling survival of Mediterranean shrubland species in relation to root: shoot ratio, seed size and water and nitrogen use. *Functional Ecology* 13: 210–216.
- Marschner H (1986) Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, New York
- Martínez-Vilalta, J., Prat, E., Oliveras, I., Piñol, J. 2002. Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* 133: 19–29.
- Nardini, A., Salleo, S., Tyree, M.T., Vertovec, M. 2000. Influence of the ectomycorrhizas formed by *Tuber melanosporum* Vitt. on hydraulic conductance and water relations of *Quercus ilex* L. seedlings. *Annals Forest Science* 57: 305–312.
- Nardini, A., Salleo, S., Lo Gullo, M.A. 1998. Root hydraulic conductance of six forest trees: possible adaptive significance of seasonal changes. *Plant Biosystem* 132: 97–104.
- Naveh, Z. 1989. Fire in the Mediterranean: a landscape ecological perspective. In: Goldammer JG, Jenkins J (eds) *Fire in Ecosystem*

- Dynamics. 3rd international symposium on fire ecology, Freiburg, FRG, pp. 1–20.
- Nielsen, E.T., Orcutt, D.M. 1996. Physiology of plants under stress: abiotic factors. Wiley, New York.
- Osonubi, O., Oren, R., Werk, K.S., Schulze, E-D., Heilmeyer, H. 1988. Performance of two *Picea abies* (L.) Karst. Stands at different stages of decline. IV. Xylem sap concentrations of magnesium, calcium, potassium, and nitrogen. *Oecologia* 77: 1–6.
- Passioura, J.B. 1988. Response to Dr P.J. Kramer's article, "Changing concepts regarding plant water relations". *Plant Cell Environment* 11: 569–571.
- Radin, J.W. 1984. Stomatal responses to water stress and to abscisic acid in phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiology* 76: 392–394.
- Radin, J.W., Boyer, J.S. 1982. Control of leaf expansion by nitrogen nutrition in sunflower plants. Role of hydraulic conductivity and turgor. *Plant Physiology* 69: 771–775.
- Radin, J.W., Eidenbock, M.P. 1984. Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus deficient cotton plants. *Plant Physiology* 75: 372–377.
- Radin, J.W., Eidenbock, M.P. 1986. Vascular patterns in roots of phosphorus- and nitrogen-deficient cotton plants. In: Proceedings of the 1986 Beltwide Cotton Production Research Conference, National Cotton Council, Memphis, TN, 85–89.
- Radin, J.W., Matthews, M.A. 1989. Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen-and phosphorus- deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 89: 264–268.
- Reinbott, T.M., Blevins, D.G. 1999. Phosphorus nutritional effects on root hydraulic conductance, xylem water flow and flux of magnesium and calcium in squash plants. *Plant Soil* 209: 263–273.
- Rubio, G., Zhu, J., Lynch, J.P. 2003. A critical test of the two prevailing theories of plant response to nutrient availability. *American Journal Botany* 90: 143–152.

- Scholander, P.F., Hammel, H.T., Bradstreet, E.D., Hemmingsen, E.A. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339–346.
- Schulze, E.D., Grebauer, G., Ziegler, H., Lange, O.L. 1991. Estimates of nitrogen fixation by trees on an aridity gradient in Namibia. *Oecologia* 88: 451–455.
- Sperry, J.S. 2000. Hydraulic constraints on plant gas exchange. *Agricultural Forest Meteorology* 104: 13–23.
- Sperry JS (2003) Evolution of water transport and xylem structure. *Int J Plant Sci* 164(3):115–127
- Sperry, J.S., Hacke, U.G., Oren, R., Comstock, J.P. 2002. Water deficits and hydraulic limits to leaf water supply. *Plant Cell Environment* 25: 251–263.
- Syvertsen, J.P., Graham, J.H. 1985. Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of citrus roots stocks. *Journal America Society Horticultural Science* 110: 865–869.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Actas de la III Reunión sobre Repoblaciones Forestales. Cuadernos de la SECF* 17:245–251.
- Valladares, F., Balaguer, L., Martínez-Ferri, E., Pérez-Corona, M.L., Manrique, E. 2002. Plasticity, instability and canalization: is the phenotypic variation in seedlings of sclerophyll oaks consistent with the environmental unpredictability of Mediterranean ecosystems? *New Phytologist* 156: 457–467.
- Valladares, F., Martínez-Ferri, E., Balaguer, L., Pérez-Corona, M.L., Manrique, E. 2000. Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy? *New Phytologist* 148: 79–91.
- Vallejo, V.R., Cortina, J., Ferran, A., Fons, J., Romanyà, J., Serrasolsas, I. 1998. Sobre els trets distintius dels sòls mediterranis. *Acta Botànica Barcinonensia* 45: 603–632.
- Vilagrosa, A., Bellot, J., Vallejo, V.R., Gil-Peigrín, E. 2003. Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal Experimental Botany* 54: 2015–2024.

- Waring, R.H., McDonald, A.J.S., Larsson, S., Ericsson, T., Wiren, A., Ericsson, A., Lohammar, T. 1985. Differences in chemical compositions of plants grown at constant relative growth rates with stable mineral nutrition. *Oecologia* 66: 157–160.
- Williamson, L., Ribrioux, S., Fitter, A.H., Leyser, H.M.O. 2001. Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology* 126: 875–882.
- Yates, E.J., Ashwath, N., Midmore, D. 2002. Responses to nitrogen, phosphorus and sodium chloride by three mangrove species in pot culture. *Trees* 16: 120–12.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

CAPÍTULO 6

Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived

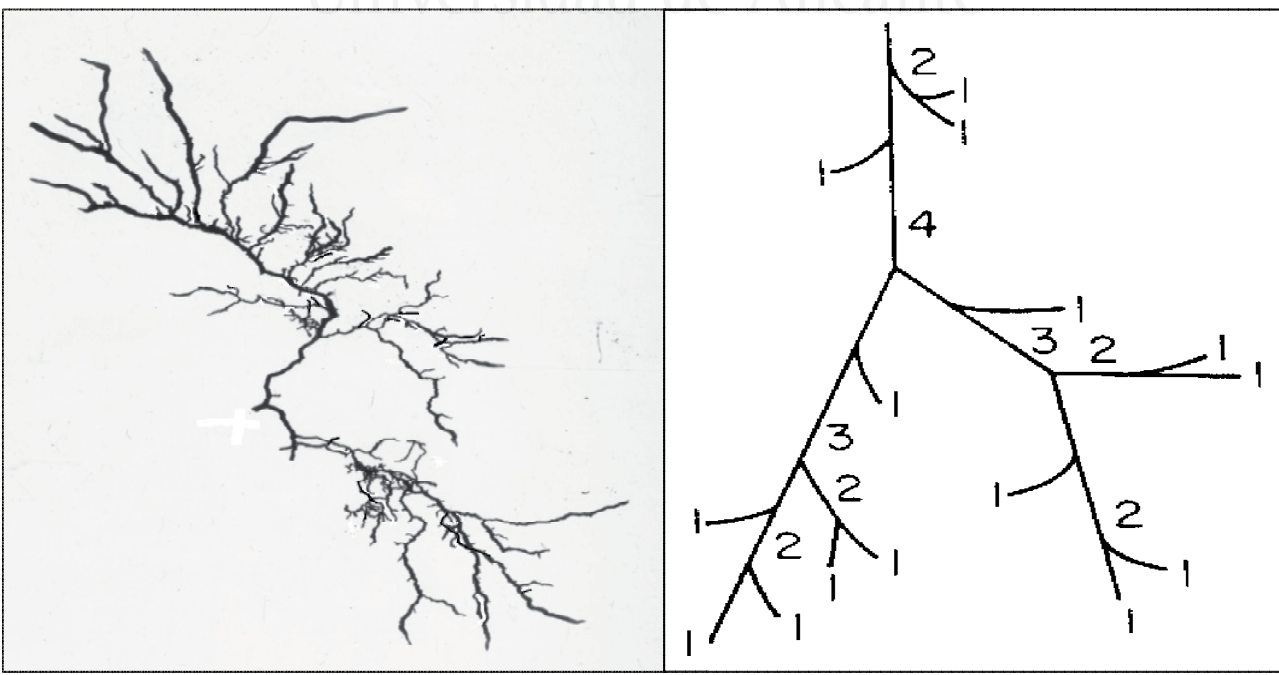
Pistacia lentiscus L. seedlings

Roman Trubat, Jordi Cortina y Alberto Vilagrosa

Oecologia 2012 In Press

Universitat d'Alacant

Universidad de Alicante



Capítulo 6

Arquitectura radicular y conductividad hidráulica en plántones de *Pistacia lentiscus* L. sometidos a limitaciones nutricionales.

Este capítulo reproduce íntegramente el texto del siguiente manuscrito:

Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2012. Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived *Pistacia lentiscus* L. seedlings. *Oecologia*. *In Press*.

Resumen

Las plantas responden a la baja disponibilidad de nutrientes modificando la morfología y la topología del sistema radicular. La respuesta del sistema radicular a la limitación de N y P puede afectar la capacidad de resistencia al estrés hídrico por parte de la planta. Hasta la fecha existen pocos estudios sobre el efecto de la disponibilidad de nutrientes en la capacidad de absorción y transporte de agua por parte de la planta. En este estudio evaluamos el efecto de la limitación de nitrógeno y fósforo en la morfología y topología del sistema radicular en plántulas de *Pistacia lentiscus* L. un arbusto común mediterráneo, y como estos cambios afectan en la conductividad hidráulica del sistema radicular. La supresión de nitrógeno y fósforo no afectó a la biomasa radicular, pero sí que provocó una mayor ramificación del sistema radicular. La longitud total de raíces fue mayor en las plántulas sometidas a la privación de fósforo. La disminución de la conductividad hidráulica radicular de las plantas privadas de nitrógeno y fósforo se relacionó con el número de uniones de la raíz, pero no con otros rasgos de la arquitectura radicular. Este estudio muestra que los cambios en la disponibilidad de nutrientes afecta al uso del agua, por parte de la plántula, mediante la modificación de la arquitectura radicular. Por lo tanto los

cambios en la disponibilidad de nutrientes se debe tener en cuenta al evaluar la respuesta de las plántulas a la sequía.

Palabras clave: unión entre raíces, topología radicular, disposición de nutrientes, absorción de nutrientes , SRL



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived *Pistacia lentiscus* L. seedlings

Roman Trubat¹, Jordi Cortina¹, Alberto Vilagrosa²

¹ Dept. d'Ecologia and Multidisciplinary Institute for Environmental Studies, Universitat d'Alacant, Ap. 99, 03080 Alacant

² Fundacion Centro de Estudios Ambientales del Mediterraneo (CEAM), Parque Tecnológico, C/Charles Darwin, 46980 Paterna, Spain

Abstract

Plants respond to low nutrient availability by modifying root morphology and root system topology. Root responses to N and P limitation may affect plant capacity to withstand water stress. But studies on the effect of nutrient availability on plant ability to uptake and transport water are scarce. In this study, we assess the effect of nitrogen and phosphorus limitation on root morphology and root system topology in *Pistacia lentiscus* L seedlings, a common Mediterranean shrub, and relate these changes to hydraulic conductivity of the whole root system. Nitrogen and phosphorus deprivation had no effect on root biomass, but root systems were more branched in nutrient limited seedlings. Total root length was higher in seedlings subjected to phosphorus deprivation. Root hydraulic conductance decreased in nutrient-deprived seedlings, and was related to the number of root junctions but not to other architectural traits. Our study shows that changes in nutrient availability affect seedling water use by modifying root architecture. Changes in nutrient availability should be taken into account when evaluating seedling response to drought.

Key words: root junctions, root topology, nutrient availability, water uptake, SRL

1. Introduction

Nutrient limitation of plant productivity is widespread in agricultural soils. In 2000, nitrogen- and phosphorus-depleted soils covered 59% and 85% of the harvested area worldwide, respectively (Tan et al. 2005). The extent of nutrient-depleted areas has increased in the last decades, threatening agricultural production and increasing the magnitude of food-insecure human populations (Lal 2009). Natural ecosystems also show limited availability of nutrients, particularly nitrogen and phosphorus (Lynch and Deikman 1998, Vitousek et al. 2010).

Nutrient limitation is often accompanied by limitation of other resources, particularly water (Field et al. 1992, Vitousek et al. 2010). Multiple resource limitation probably represents the normal situation in terrestrial ecosystems. However, understanding multiple resource limitation and morpho-physiological responses to face it has challenged researchers for decades (Bloom et al. 1985, Vitousek et al. 2010). Responses to low availability of a given resource may have synergistic, antagonistic or neutral effects on plant ability to access other resources. For example, deep rooted genotypes may be favoured in water-limited environments, whereas shallow rooting may be advantageous for plants living in P-limited areas (Ho et al. 2005, Zhu et al. 2011).

In terrestrial ecosystems, plants have developed mechanisms to maximize the efficiency of nutrient and water uptake (Wu et al. 2005), including changes in root system topology (Fitter et al. 1991). Root system topology can be defined as the spatial configuration of the root system (Lynch 1995). In terms of topology, there is a wide range of root systems, including the herringbone type, where branching is restricted to the main axis, and the dichotomous type, in which each lateral root bifurcates (Eissenstat 1997). Topological modeling has been successfully used to explore the effects of branching patterns on resource uptake efficiency (Fitter 1991;

Simunek and Hopmans, 2009). Their results emphasize the importance of root topology and spatial deployment of fine roots, and their potential implications on acquisition of soil resources. To our knowledge, however, no model has explicitly incorporated the effect of changes in root topology on water transport.

Root system architecture may affect water and nutrient acquisition, carbon metabolism and resistance to environmental stresses. Root systems are commonly branched, and water fluxes between individual root segments (i.e., links) involve flows through root junctions. Changes in root hydraulic conductance (K_R) may occur in root junctions as a result of the decrease in vessel and tracheid diameter, the presence of vessel ends and the abundance of pit membranes (Zimmermann 1983; Schulte 2006). The hydraulic significance of root junctions and their role in the redistribution of water within the soil is not well understood. According to Zimmermann (1983), hydraulic limitation and embolism in the junctions may contribute to partition the root system and sacrifice lateral segments during periods of high water stress (Zimmerman 1983). Boundary pit membranes at root junctions can be efficient filters for microbes and particles entering the root system from damaged and senescent lateral roots (Shane et al. 2000). Previous works on xylem junctions aboveground suggest that they act as hydraulic constrictions or bottlenecks for water transport (Cruziat et al. 2002). Since root junctions affect water flow, root systems differing in the number of root junctions, as root systems of contrasted topology, may also differ in their ability to transport water and their vulnerability to cavitation (Sperry and Ikeda 1997).

Plants respond to nutrient limitation by modifying branching patterns and root system architecture (Al-Ghazi et al. 2003; Lynch and Ho 2005). Phosphorus deficiency promotes the development, and increases the length and density of lateral roots and root hairs (Ma et al. 2001; Williamson et al. 2001; Bucio et al. 2002; Wu et al. 2005), although there are exceptions to this (Lynch 2011). Phosphorus

deficiency also promotes shallower root angles and lateral branching, increased basal root whorl number, and the formation of adventitious roots and aerenchyma (Lynch 2011), whereas nitrogen deficiency promotes the increase in total and specific root length, steeper root growth angles, (Trubat et al. 2006; Sorgonà et al. 2007). Conversely, high NO_3^- or NH_4^+ availability promotes lateral root branching by triggering the production of lateral root primordia and higher order root branching (Jones and Ljung 2012). Plants respond to water limitation by inhibiting lateral branching (Malamy 2005), thus forming herringbone-like root systems (Berntson 1994), and promoting deep rooting (Ho et al. 2005, Zhu et al. 2011). In drylands, plants often produce roots with long links and high specific root length (Nicotra et al. 2002; Tjolkner et al. 2005).

Anatomical and architectural changes resulting from contrasted changes in nutrient availability may affect root system ability to transport water. Several studies have shown that N and P deficiency reduce hydraulic conductance of entire plants (Radin and Matthews 1989; Radin and Ackerson 1981; Trubat et al. 2006). The decline in hydraulic conductance may result from various anatomical and morphological changes (Steudle 2000). Our understanding of the relationship between changes in root system topology in nutrient deficient plants and water acquisition and transport has been emphasized.

In this study we assess the effect of different nutrient levels on root morphology and architecture of *Pistacia lentiscus* L. seedlings. Then, we explore the relationship between these changes and root system ability to transport water. Finally, we assess the importance of the various components of root architecture in determining hydraulic conductance of the whole root system. *Pistacia lentiscus* is a common resprouting species in the Mediterranean basin, where it has been extensively used to restore degraded areas (Tomaselli 1981) We selected *Pistacia lentiscus* because (i) it has a strong impact on community composition and ecosystem function, (ii) it thrives in

areas subjected to seasonal drought, thanks to a fast growing tap root, (iii) it grows on alkaline soils, where P availability is low, and iv) it is highly plastic (Caravaca et al. 2002, Maestre et al. 2004, Valdecantos et al. 2006, Trubat et al. 2008, Trubat et al. 2011).

2. Materials and methods

2.1. Seedling production

Pistacia lentiscus seeds from local provenance (SE Spain Mountain Ranges, Forest Seed Bank, Generalitat Valenciana) were sown in March 2002 in 5 x 5 x 17 cm polyethylene plugs filled with quartz sand. Plants were kept in a greenhouse from February to August 2002 and watered on alternate days with 40 mL of a modified Hoagland's solution containing either 150 mg N L⁻¹ (as Ca(NO₃)₂ and KNO₃), 80 mg P L⁻¹ (as KH₂PO₄) and 100 mg K L⁻¹ (Control, C), or identical solutions without nitrogen (nitrogen deficient treatment, ND) or phosphorus (phosphorus deficient treatment, PD). In ND and PD seedlings, osmolarity of the nutrient solution was adjusted with KCl (Radin 1984). Each treatment was replicated 20 times.

2.2. Root hydraulic conductance

On August 2002, we selected 5 well watered seedlings per treatment randomly, and cut their stem 5 cm above the root collar. Intact root plugs were placed in a pressure bomb with the excised stems protruding from the chamber (Scholander et al. 1965). Hydraulic conductance was measured as described by Nardini et al. (1998). Pressure in the chamber was gradually increased at a rate of 0.07 MPa min⁻¹ up to 0.69 MPa. Flow was then measured at this pressure after 30 min equilibration to constant flow. Flow measurements were made every 2 min over a period of 10 min ($n=5$ measures per pressure level) by placing a pre-weighted capsule with a sponge in contact with the sectioned stem and determining the increase in

weight on a digital balance. Pressure was then released in steps of 0.17 MPa at a rate of 0.07 MPa min⁻¹, and the same procedure was followed to measure sap flow at each pressure level tested (i.e., 0.69, 0.52, 0.34 and 0.17 MPa). Flow was plotted against pressure, and K_R was calculated as the slope of the linear regression between both variables (Fiscus 1975). Finally, we calculated root specific hydraulic conductance (K_{RR}) as the ratio between K_R and root surface area (see below).

2.3. Morphological traits

Morphological traits were measured in August 2002 on 20 seedlings per treatment, including seedlings used for root hydraulic conductance measurements. Root surface area, total root length and number of root tips were measured after washing and scanning the root systems (8-bit gray scale image, resolution 300 dpi), and analyzing the image by means of specific image analysis software (WinRhizo, Regent Instruments Inc., Québec, Canada). Leaf area was measured by using the same procedure. Finally all biomass fractions were dried at 65°C for 48 hours to constant weight. Biomass allocation belowground was evaluated by calculating the root weight ratio (RWR) as the ratio between root dry weight and total plant dry weight (Hunt 1978). We calculated specific root length (SRL), as the ratio between root length and root dry weight. Finally, we calculated specific leaf area (SLA) as the ratio between leaf area and foliar dry weight.

2.4. Root system topology

The topology of root systems on a two dimensional plane can be described by using three variables, magnitude (μ), total exterior pathlength (Pe) and altitude (a). Magnitude is the number of root tips in the whole root system. Total exterior pathlength is calculated as the sum of all links counted from each of the root tips back to the base of the root system. Altitude is the single longest individual path

from a root tip back to the base link. We counted the number of root tips and calculated the topological indices for three lateral roots from each seedling. Then, we estimated expected altitude ($E(a)$) and expected total exterior pathlength ($E(Pe)$), that is the value of a and Pe for a randomly branched root system of a given μ , following the method described in Werner and Smart (1973), modified by Berntson (1994). Increases in the ratio $a/E(a)$ and $Pe/E(Pe)$ indicate more herringbone-like root systems whereas decreases in these ratios correspond to dichotomous branching. Links were further categorised as external-internal links (EI), external-external links (EE), and internal-internal links (II; Fitter and Stickland 1991), where external links end in a root tip, and external-external links differ from external-internal links in that the former are connected to external links.

$$\begin{aligned} p_e &= 1.63\mu^{1.52} & a &= 1.98\mu^{0.59} \\ E(p_e) &= 2.17\mu^{1.42} & E(a) &= 2.65\mu^{0.50} \end{aligned}$$

Calculation of topological indices:

- Altitude slope: the slope of the regression of $\log_{10} a$ on $\log_{10} \mu$.
- Pathlength slope: the slope of the regression of $\log_{10} Pe$ on $\log_{10} \mu$.
- Altitude ratio $a/E(a)$ and $Pe/E(Pe)$

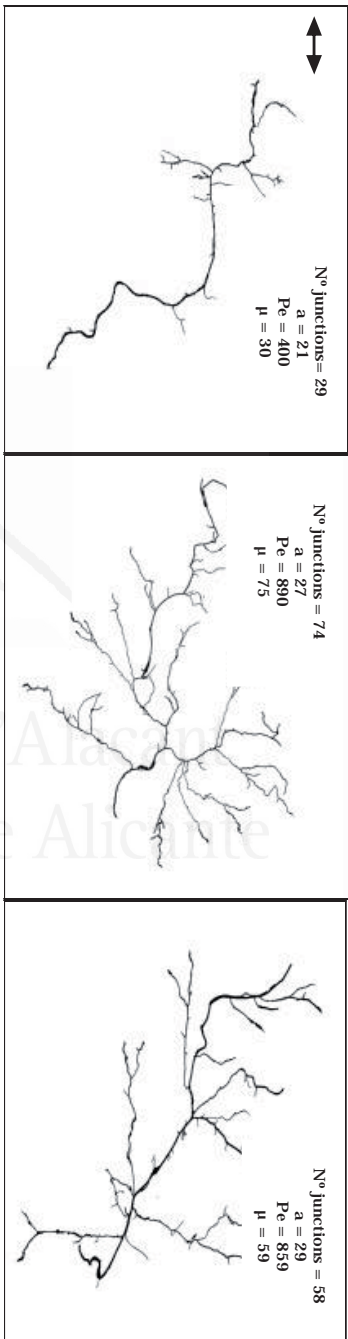


Figure 1: Lateral roots of 6-month-old *Pistacia lentiscus* seedlings receiving a complete nutrient solution (Control) or nutrient solutions with no N (ND) and no P (PD). The number of junctions, altitude (a), total exterior path length (Pe), and magnitude (μ) are given for each root. The inset double arrow corresponds to 2 cm for the three images.

2.5. Nutrient status of leaves

Dry samples of leaves were fragmented and digested in a heating block at 250°C with a mixture of H₂SO₄ and H₂O₂ (1:1, v/v). We determined total N concentration by using semi-micro Kjeldahl distillation (Tecator Kjeltac Auto 1030 Analyzer, Hogana, Sweden), and P and K concentration by ICP spectrometry (Perkin Elmer Optima 3000, Perkin Elmer Corp., Norwalk, CT, USA).

2.6. Statistical analyses

We used analysis of variance (ANOVA) to evaluate the significance of the effect of nutrient deficiency on morphological and physiological variables. Tukey's HSD test was used to compare treatment means when ANOVA showed significant ($P < 0.05$) treatment effects. Statistical analysis was performed by using SPSS 10.6 statistical package (SPSS Inc., Chicago, USA). The proportion of variance in K_{RR} and K_R explained independently and jointly by topological variables was quantified using hierarchical partitioning (HP) of negative log-likelihoods methods (Mac Nally 2000; R 2.11.1, the R Foundation for Statistical Computing) to). This method allows identification of variables whose independent correlation with dependent variables is strong, in contrast to variables with little independent effect. The latter may be highly correlated with the dependent variable as a result of joint covariation with other independent variables. The output of an HP analysis is a list of predictor variables and their independent (I) and joint (J) influences on the response variable. Variables that independently explained a larger proportion of variance than would be expected by chance were identified by comparing their observed value of independent contribution to variance (I) to a population of " I " values from 1000 randomizations of the data matrix. Results of HP analyses for each variable were expressed as Z-scores ($[\text{observed} - \text{mean}\{\text{randomizations}\}] / \text{SD}\{\text{randomizations}\}$), and the statistical significance based on the upper 95% confidence limit ($Z \geq 1.65$). Thus hierarchical partitioning does

not produce any kind of predictive model. Rather it allows identification of the predictors that explain most variance independently of the others, helping to overcome the problems presented by multi-collinearity. Hierarchical partitioning will be used here to assess the amounts of variance attributable to each predictor variable.

3. Results

The reduction in N and P availability had a strong effect on seedling nutritional status. The absence of N in the nutrient solution reduced foliar N concentration by 42%, and increased foliar K concentration, which almost duplicated the concentration found in Control and PD seedlings. P deficient reduced foliar P concentration to values below 1 mg g⁻¹ (Table 1).

Table 1: Foliar nutrient concentration in 6-month-old *Pistacia lentiscus* seedlings receiving a complete nutrient solution (Control), and nutrient solutions with no N (ND) and no P (PD). Data are means ± S.E (*n*=5 seedlings). Means followed by the same letter for a given nutrient are not significantly different (Tukey's HSD test, *p*< 0.05).

	Control	ND	PD	F	P
N (mg g ⁻¹)	27.1 ^a ±1.70	15.6 ^b ±0.90	22.5 ^a ±1.40	1.67	<0.001
P (mg g ⁻¹)	5.1 ^a ±1.10	5.9 ^a ±0.14	0.8 ^b ±0.20	10.83	0.002
K (mg g ⁻¹)	12.9 ^a ±1.20	20.6 ^b ±0.90	10.3 ^a ±0.50	29.66	<0.001

Seedling morphology was strongly affected by low levels of N and P (Table 2). Leaf area was significantly reduced by both treatments. ND seedlings produced 20% less shoot dry weight than Control seedlings. There was no effect of P deprivation on aboveground biomass

accumulation. The decrease in aboveground biomass in ND seedlings was not paralleled by a decrease in belowground biomass, and thus, ND seedlings had higher RWR than Control seedlings. Phosphorus deprivation decreased SLA compared to Control and ND seedlings. Phosphorus deprivation had a positive effect on root area and root length, and a marginally significant effect on root biomass (Table 2). Root tissue density was higher in ND seedlings compared to Control seedlings, and showed no significant response to P deprivation.

Table 2: Morphological characteristics of *Pistacia lentiscus* seedlings grown for 6 months with complete nutrient solution (Control), and nutrient solutions with no N (ND) and no P (PD). Results of the ANOVA to test the significance of nutrient deficiencies are also shown. Data are means \pm S.E. ($n=20$). Different letters within each row indicate significant differences (Tukey's HSD test, $p < 0.05$).

	Control	ND	PD	F	P
Root dry weight (g)	0.19 \pm 0.01	0.21 \pm 0.03	0.15 \pm 0.05	2.89	0.094
Shoot dry weight (g)	0.37 ^a \pm 0.01	0.26 ^b \pm 0.01	0.35 ^a \pm 0.01	1.39	0.028
RWR	0.31 ^a \pm 0.03	0.42 ^b \pm 0.09	0.29 ^a \pm 0.03	15.95	<0.001
Leaf area (cm ²)	32.6 ^a \pm 2.5	25.6 ^b \pm 1.3	25.7 ^b \pm 3.1	4.44	0.007
Root surface area (cm ²)	59.0 ^a \pm 4.7	61.1 ^a \pm 5.8	83.2 ^b \pm 3.1	2.55	0.020
SRL (cm g ⁻¹)	2667 ^a \pm 508	3062 ^a \pm 424	5207 ^b \pm 523	48.69	<0.001
SLA (cm ² g ⁻¹)	93.4 ^a \pm 8.4	98.3 ^a \pm 5.2	70.4 ^b \pm 3.1	1.01	0.046
Root tissue density (g cm ⁻³)	0.016 ^a \pm 0.01	0.023 ^b \pm 0.01	0.019 ^{ab} \pm 0.01	4.37	0.024
Root length (cm)	512 ^a \pm 21	635 ^a \pm 30	785 ^b \pm 67	3.14	0.04

Root hydraulic conductance was affected by the treatments. Pressure gradient and water flow rate of whole root systems were highly correlated in all seedlings ($r > 0.97$, $N = 12$, $p < 0.001$). Root specific hydraulic conductance and leaf specific hydraulic conductance were substantially reduced by N and P deficiency (e.g., K_{RR} in ND seedlings was 64% of the K_{RR} observed in Control seedlings; Table 3).

Table 3: Root hydraulic conductance (K_R) and specific root hydraulic conductance (K_{RR}) of *Pistacia lentiscus* seedlings receiving a complete nutrient solution (Control) or nutrient solutions with no N (ND) and no P (PD). Data are means \pm S.E ($n = 5$ seedlings). Different letters indicate significant differences (Tukey's HSD test, $p < 0.05$)

	Control	PD	ND	F	p
K_R ($\text{Kg s}^{-1} \text{MPa}^{-1} 10^{-8}$)	7.23 ^a ± 1.41	4.64 ^b ± 1.09	4.78 ^b ± 1.21	6.84	0.001
K_{RR} ($\text{Kg m}^{-2} \text{s}^{-1} \text{MPa}^{-1}$)	0.13 ^a ± 0.04	0.08 ^b ± 0.03	0.06 ^b ± 0.01	5.93	0.016

The number of junctions was higher in ND and PD seedlings than in Control seedlings (Table 4). The topology of lateral roots was significantly affected by nutrient deficiency. Root system altitude ($a/E(a)$) and total exterior pathlength ($Pe/E(Pe)$) were lower in ND and PD seedlings, reflecting a trend towards more branched dichotomous systems (Table 4). Phosphorus deficiency resulted in a significant increase in the average length of external links (EE and EI).

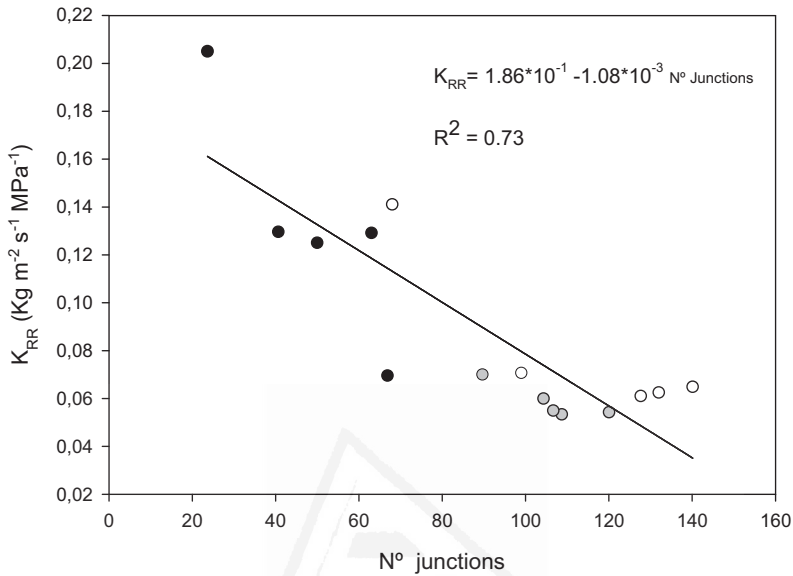


Figure 2: Relationship between specific root hydraulic conductance (K_{RR}) and number of junctions of *Pistacia lentiscus* seedlings receiving complete nutrient solution (black symbols), a nutrient solution with no N (grey symbols), and nutrient solution with no P (open symbols).

Hierarchical partitioning analysis showed that the number of junctions was the main variable explaining the observed variability in root specific hydraulic conductance (Table 5). The contribution of the topological indices to the variability of hydraulic conductance was not statistically significant (Fig. 3).

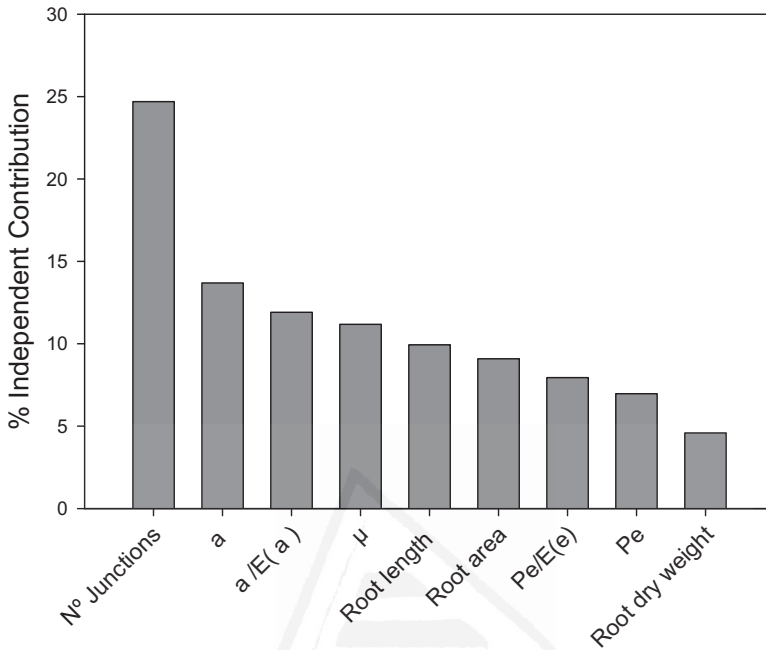


Figure 3: Percentage - distribution of independent effects of root architectural traits on root specific hydraulic conductance (K_{RR}) calculated from the hierarchical partitioning analysis.

4. Discussion

Carbon allocation patterns depend on aboveground and belowground resources limiting plant growth, its distribution and mobility (Bloom et al. 1985, Poorter and Nagel 2000). In areas with seasonal rainfall, water is a “deep resource” that can be accessed by extended vertical growth of the primary root (i.e., herringbone structures where lateral roots are restricted to the main axis). In contrast, N and P are “shallow resources” whose availability is higher in the topsoil, and they are more readily acquired by highly branched roots (e.g., dichotomous systems) growing close to the soil surface

(Lynch and Brown 2001, Ho et al., 2005). When low mobility resources, such as P, are limiting, plants respond by decreasing root system altitude and total exterior pathlength, root growth angle and increasing root system magnitude and length, average link length, SRL, basal root whorl number, lateral root dispersion, the number of root hairs and the amount of aerenchyma (Lynch and Brown 2001, Lynch 2011). Our results partly support these observations, as we found that *P. lentiscus* seedlings responded to P deprivation by increasing lateral root growth and lateral root density (Williamson et al. 2001). We may note, however, that various exceptions to these rules have been observed in dicots and grasses (Fitter and Stickland 1991; Taub and Goldberg 1996). Herringbone-like root systems can be more effective at acquiring deep soil resources than dichotomous systems, but the relationship between root topology and competition is poorly understood (Fitter and Stickland 1991, Lynch 2011).

RWR in N-deficient seedlings increased and belowground biomass was maintained despite the likely decrease in C fixation rate. Since nutrient deficiency reduces leaf growth and leaf demand for carbohydrates, more carbohydrates may be available for root growth (Clarkson et al. 2000). In contrast, P deficiency did not affect biomass accumulation or allocation patterns, although it favoured a decrease in foliar surface and changes in root morphology.

The increase in SRL in P deficient plants was not paralleled by a decrease in root tissue density but rather by a decrease in average root diameter. This decrease was accompanied by an increase in average link length of external links. These changes have important implications for the functioning of the root system. On the one hand, lateral roots are more efficient in capturing soil resources because of their higher root surface area, and may increase nutrient uptake per unit of carbon invested in root construction and maintenance (Robinson 1996). In this way, P deprivation probably increased seedling efficiency in P uptake. On the other hand, fine root diameter is directly related to fine root longevity (Eissenstat et al. 2000), and

thus increases in the efficiency of soil exploration in P-deficient plants were probably achieved at the expense of a higher root turnover.

Table 4: Magnitude (μ), topological indices ($a/E(a)$, $Pe/E(Pe)$), number of junctions and average length of external-external (EE), external-internal (EI) and internal-internal (II) links of secondary roots of *Pistacia lentiscus* seedlings receiving a complete nutrient solution (Control), a nutrient solution with no N (ND), and a nutrient solution with no P (PD). Data are means \pm S.E (N=15 seedlings). Means followed by the same letter for a given nutrient are not significantly different (Tukey's HSD test, $p < 0.05$).

	Control	ND	PD	F	p
μ (number)	29 ^a \pm 4	53 ^b \pm 5	54 ^b \pm 6	8.55	0.001
$a/E(a)$	1.59 ^a \pm 0.08	1.17 ^b \pm 0.1	1.08 ^b \pm 0.07	9.35	<0.001
$Pe/E(Pe)$	1.34 ^a \pm 0.13	1.01 ^b \pm 0.1	0.94 ^b \pm 0.07	5.27	0.014
N ^o of junctions	28 ^a \pm 7.0	52 ^b \pm 8.0	53 ^b \pm 10.3	36.13	<0.001
EE (cm)	0.56 ^a \pm 0.07	0.57 ^a \pm 0.05	0.64 ^b \pm 0.07	32.50	<0.001
EI (cm)	0.55 ^a \pm 0.05	0.50 ^a \pm 0.05	0.63 ^b \pm 0.04	2.89	0.004
II (cm)	0.42 \pm 0.03	0.45 \pm 0.03	0.47 \pm 0.02	0.58	0.560

Root response to phosphorus limitation is different than for mobile resources such as nitrate and water (Fitter et al. 2002, Ho et al. 2005). Nitrate diffusion is three to four orders of magnitude faster than that of phosphate (Tinker and Nye 2000), and a low root density is sufficient to capture nitrate in a large volume of soil (Linkohr et al. 2002). Response to N deprivation in *P. lentiscus* seedlings was somewhat unexpected, as N-deficient seedlings showed no changes in root length, root surface area, average link length and SRL, but

increases in the number of junctions. In addition, N-deficient seedlings changed their topology towards a dichotomous-like root system.

Several studies have found a decrease in root hydraulic conductance in nutrient deficient plants (Radin and Eidenbock 1984; Syvertsen and Graham 1985; Radin and Matthews 1989; Trubat et al. 2006). In our study, plants deprived of N and P showed lower capacity for water transport per unit of root surface area than Control plants. Nutrient-deprived plants also showed higher SRL, which is commonly associated with smaller xylem vessel diameter and high resistance to water flow (Castro-Díez et al. 1998). The reduction in the ability for transporting water may affect the water balance of nutrient deficient plants (Clearwater and Meinzer 2001), and may limit growth (Hsiao 1973). Low hydraulic conductance hampers an efficient transport of water and nutrients aboveground, promoting the development of high water potential gradients. Limitations to water transport due to reductions in hydraulic conductance may enhance a conservative water use under moderate water stress (Sperry 2003). On the other hand, narrow xylem vessels may be less prone to cavitation and embolism in response to low water availability (Pockman and Sperry 2000). A reduction in hydraulic conductance has been associated with lower risk of xylem cavitation (Martínez-Vilalta et al. 2002; Vilagrosa et al. 2003), and higher tolerance to drought (Trubat et al. 2006; Chirino et al. 2008).

Water flow from soil to leaves depends on hydraulic conductance, root system architecture and their interaction (Doussan et al. 1998). The weak relationship found between K_{RR} and $\bar{\mu}$ is puzzling. Root apices are commonly thinner and less lignified and suberized, and decreases in nutrient uptake capacity with aging can be very rapid (Wells and Eissenstat 2003). Thus, we expected that a higher proportion of terminal links (EE links and root system magnitude) would promote water flow, but this was not the case. Other studies have shown that old roots can be highly efficient in absorbing water

(Kramer and Bullock 1966; MacFall et al. 1991; North and Baker 2007), and they play a crucial role in capturing water from small infrequent rainfall events in deserts (North and Baker 2007). Indeed, the extent of lignification and suberization cannot be estimated from visual observations (McCrary and Comerford 1998), and may depend on soil conditions, and not only on root age (North and Nobel 2000). Changes in root structure are directly associated with the hydraulic root resistance and the pathways used for water movement in the root, both for axial transport in vessels and for the radial movement across the root. Various studies have shown that axial resistance is substantially smaller than radial resistance (Rowse and Goodman 1981). Radial hydraulic resistance has been mostly attributed to the endodermis and exodermis, where hydrophobic deposits block the transport of water and ions in the cell walls (Passioura 1988). The increase in SRL in nutrient-deprived plants may have reduced radial resistance to water flow, and contributed to increase hydraulic conductance (Eissenstat 1997). In our study, other factors may have compensated for the positive effect of increased SRL on water transport capacity, as nutrient deprivation resulted in lower hydraulic conductance.

In contrast, the significant correlation found between K_{RR} and K_R , on one hand, and the number of root junctions, on the other, suggests that resistance to water flow is more heavily dependent on the number of links (and their connections), than the way they are arranged. The effect of root junctions on hydraulic conductance is still under discussion. Junctions may represent constrictions to water flow and contribute to protect the main root during soil drying (North et al. 1992). However, water paths in root junctions are complex (Shane et al. 2000) and water flow may not follow simple resistance analogue models (Schulte and Brooks 2003). Recently developed 3-D models of water flow in plant stems, where conduits show a varied degree of interconnection (Loepfe et al. 2007), will probably shed light on the hydraulic significance of junctions. At the leaf level, junctions are sites of high hydraulic resistance and embolism during

drought (Chave et al. 2002). Some studies argue that the highest resistance in the hydraulic pathway occurs at the ends of vessels or tracheids, as water flows from one conduit element into the next via perforation in the conduit ends walls (Chave et al. 2002; Zimmermann 1978). It has been suggested that the increase in resistance to water flow due to branch junctions is small in seedlings compared with adult trees (Tyree and Ewers 1991). If this were the case, we would expect that the effect of nutrient limitation on hydraulic conductance mediated by changes in root architecture would increase with time.

Table 5: Results of the hierarchical partitioning of root specific hydraulic conductance (K_{RR}). Given are the variance explained by individual variables (I), the variance explained together with other variables (J) and the Z-score from the randomization procedure. The asterisk identifies a significant difference based on the upper 0.95 confidence limit ($Z \geq 1.65$).

Variable	J	Z
μ	0.043	0.56
a	0.458	0.61
Pe	0.256	-0.18
a/E(a)	-0.314	0.53
Pe/E(e)	0.224	-0.15
Number of junctions	0.395	2.02*
Root surface area (cm ²)	0.295	0.22
Root dry weight (g)	-0.003	-0.44
Root length (cm)	0.381	0.17

Plant response to limited N and P availability may have strong implications for plant capacity to face drought. On the one hand, limitation by N and, particularly P, promotes root density by increasing biomass allocation belowground and promoting root branching. This strategy may confer additional advantages in environments subjected to small rainfall events, where water remains in the topsoil layers, but not in areas subjected to seasonal rains, where deep rooting is crucial to withstand long periods of drought (Padilla and Pugnaire 2007). On the other hand, lower water transport capacity resulting from increased branching in nutrient-limited plants may promote plant ability to withstand drought but may compromise its capacity to grow when water is not limiting.

5. Conclusion

Nitrogen and phosphorus deprivation strongly affected root system morphology and architecture of *Pistacia lentiscus* seedlings, and decreased hydraulic conductance of the whole root system. Specific hydraulic conductance was significantly related to the number of root junctions but not to other architectural traits of the root system, emphasizing the importance of root branching as a determinant of root function. Our results show that N and P limitations may have a strong impact on seedling water use and seedling ability to withstand drought.

6. Acknowledgements

This research was funded by the CEAM Foundation, the Ministry of Science and Innovation (GRACCIE Program Consolider-Ingenio 2010; SURVIVE CGL2011-30531-C02-02), the Ministry of Environment (RECUVES, 077/RN08/04.1), the EU (FUME project, GA nº 243888) and by the Regional Government of Valencia (FEEDBACKS-PROMETEO/2009/006). CEAM Foundation is funded by Generalitat Valenciana and Fundació Bancaixa. We are grateful to Marian Pérez-Devesa, Juan José Torrecillas, Santi Soliveres for their help in field

work, Germán Lopez, and Felipe Gil and Conselleria de Medi Ambient, Aigua, Territori i Habitatge for the use of Sta. Faç public nursery.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

7. References

- Al-Ghazi Y, Muller B, Pinloche S, Tranbarger TJ, Nacry P, Rossignol M, Tardieu F, Doumas P (2003) Temporal responses of *Arabidopsis* root architecture to phosphate starvation: evidence for the involvement of auxin signalling. *Plant, Cell and Environment* 26: 1053–1066
- Berntson GM (1994) Modelling root architecture: are there tradeoffs between efficiency and potential of resource acquisition? *New Phytologist* 127: 483-493
- Bloom AJ, Chapin FS III, Mooney HA (1985) Resource limitation in plants: An economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 363–392
- Bucio, JL, Abreu EH, Calderón LS, Jacobo MF, Simpson J, Estrella LH (2002) Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiology* 129: 244-256
- Caravaca F, Barea JM, Roldán A (2002). Synergistic influence of an arbuscular mycorrhizal fungus and organic amendment on *Pistacia lentiscus* L. seedlings afforested in a degraded semiarid soil. *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1139-1145
- Castro-Díez P, Puyravaud JP, Cornelissen JHC, Villar-Salvador P (1998) Stem anatomy and relative growth rate in seedlings of a wide range of woody plant species and types. *Oecologia* 116: 57-66
- Chave J, Coomes D, Jansen S, Lewis SL, Swenson NG, Zanne AE (2002) Towards a worldwide wood economics spectrum. *Ecology Letters* 12: 351-366
- Chirino E, Vilagrosa A, Hernández E, Matos A, Vallejo VR (2008) Effects of a deep container on morpho-functional characteristics and root colonization in *Quercus suber* L. seedlings for a reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology and Management* 256: 779-785
- Clarkson DT, Carvajal M, Henzler T, Waterhouse RN, Smyth AJ, Cooke DT, Steudle E (2000) Root hydraulic conductance: diurnal

- aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal of Experimental Botany* 51: 61–70
- Clearwater MJ, Meinzer FC (2001) Relationship between hydraulic architecture and leaf photosynthetic capacity in nitrogen-fertilized *Eucalyptus grandis* trees. *Tree Physiology* 21: 683-690
- Cruziat P, Cochard H, Améglio T (2002) Hydraulic Architecture of trees. Main concepts and results. *Annals of Forest Science* 59: 723-752
- Doussan C, Pagès L, Vercambre G (1998) Modelling of the hydraulic architecture of root systems: an integrated approach to water absorption- distribution of axial and radial conductances in maize. *Annals of Botany* 81: 225-232
- Eissenstat DM (1997) Trade –offs in root form and function. In: Jackson LE (eds) *Ecology and Agriculture*. Academic Press, San Diego, pp 173- 196
- Eissenstat DM, Wells CE, Yanai RD, Withbeck JL (2000) Building roots in changing environment: implications for root longevity. *New Phytologist* 147: 33-42
- Field CB, Chapin FS III, Matson PA, Mooney HA (1992) Responses of terrestrial ecosystems to the changing atmosphere: A resource-based approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 23: 201-235
- Fiscus EL (1975) The interaction between osmotic- and pressure-induced water flow in plant roots. *Plant Physiology* 55: 917-922
- Fitter AH, Williamson L, Linkohr B, Leyser O (2002) Root system architecture determines fitness in an *Arabidopsis* mutant in competition for immobile phosphate ions but not for nitrate ions. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 269: 2017–2022
- Fitter AH, Stickland TR, Harvey ML, Wilson GW (1991) Architectural analysis of plant root systems. I. Architectural correlates of exploitation efficiency. *New Phytologist* 118: 375-382

- Fitter AH, Stickland TR (1991) Architectural analysis of plant root-systems. II. Influence of nutrient supply on architecture in contrasting plant species. *New Phytologist* 118: 383-389
- Fitter HA (1991) The ecological significance of root system architecture; an economic approach. In: Atkinson D (eds) *Plant Root Growth: an Ecological Perspective*. Blackwell, Oxford, pp 229-243
- Ho MD, Rosas JC, Brown KM, Lynch JP (2005) Root architectural tradeoffs for water and phosphorus acquisition. *Functional Plant Biology* 32: 737-748
- Hsiao TC (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24: 519-570
- Hunt R (1978) *Plant growth analysis*. Studies in biology no. 96. Edward Arnold, London
- Jones B, Ljung K (2012) Subterranean space exploration: the development of root system architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 15: 97-102
- Kramer PJ, Bullock HC (1966) Seasonal variations in the proportion of suberized and unsuberized roots of trees in relation to the absorption of water. *American Journal of Botany* 53:200-204
- Lal R (2009) Soils and sustainable agriculture. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 28: 57-64
- Linkohr BI, Williamson LC, Fitter AH, Leyser HMC (2002) Nitrate and phosphate availability and distribution have different effects on root system of architecture of *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 29: 751-760
- Loepfe L, Martinez-Vilalta J, Pinola J, Mencuccini M (2007) The relevance of xylem network structure for plant hydraulic efficiency and safety. *Journal of Theoretical Biology* 247: 788-803
- Lynch JP, Brown KM (2001) Topsoil foraging: an architectural adaptation to low phosphorus availability. *Plant and Soil* 237: 225-237
- Lynch JP (1995) Root architecture and plant productivity. *Plant Physiology* 109: 7-13

- Lynch JP (2011) Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. *Plant Physiology* 156: 1041-1049
- Lynch JP, Deikman J (1998) Phosphorus in Plant Biology: Regulatory Roles in Moollecular, Cellular, Organismic, and Ecosystem Processes. American Society of Plant Physiologists, Rockville, MD.
- Lynch JP, Ho MD (2005) Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. *Plant Soil* 269: 45–56
- Ma Z, Bielenberg DG, Brown KM, Lynch JP (2001) Regulation of root hair density by phosphorus availability in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell and Environment* 24: 459–467
- Mac Nally R (2000) Multiple regression and inference in ecology and conservation biology: Further comments on identifying important predictor variables. *Biodiversity and Conservation* 11: 1397–1401
- MacFall JS, Johnson GA, Kramer PJ (1991) Comparative water uptake by roots of different ages in seedlings of loblolly pine (*Pinus taeda* L.). *New Phytologist* 119: 551–560
- Maestre FT, Cortina J, Bautista S (2004) Mechanisms underlying the interaction between *Pinus halepensis* and the native late-successional shrub *Pistacia lentiscus* in a semiarid plantation. *Ecography* 27: 776-786
- Malamy JE (2005) Intrinsic and environmental response pathways that regulate root system architecture. *Plant, Cell and Environment* 28: 67-77
- Martínez-Vilalta J, Prat E, Oliveras I, Pinol J (2002) Xylem hydraulic properties of roots and stems of nine Mediterranean woody species. *Oecologia* 133: 19–29
- McCrary RL, Comerford NB (1998) Morphological and anatomical relationships of loblolly pine fine roots. *Trees* 12: 431–437
- Nardini A, Salleo S, Lo Gullo MA (1998) Root hydraulic conductance of six forests trees: possible adaptive significance of seasonal changes. *Plant Biosystems* 132: 97-104
- Nicotra AB, Babicka N, Westoby M (2002) Seedling root anatomy and morphology: an examination of ecological differentiation with

- rainfall using phylogenetically independent contrasts. *Oecologia* 130: 136-145
- North GB, Ewers FW, Nobel PS (1992) Main-root lateral root junctions of two desert succulents: changes in axial and radial components of hydraulic conductivity during drying. *American journal of Botany* 79: 1039-1050
- North GB, Baker EA (2007) Water uptake by older roots: evidence from desert succulents. *HortScience* 42: 1103–1107
- North GB, Nobel PS (2000) Heterogeneity in water availability alters cellular development and hydraulic conductivity along roots of a desert succulent. *Annals Botany* 85: 247-255
- Padilla FM, Pugnaire FI (2007) Rooting depth and soil moisture control Mediterranean woody seedling survival during drought. *Functional Ecology* 21:489–495
- Passioura JB (1988) Water transport in and to roots. *Annual Review of Plant Physiology* 39:245–265
- Pockman WT, Sperry JS (2000) Vulnerability to xylem cavitation and the distribution of Sonoran Desert vegetation. *American Journal of Botany* 87: 1287–1299
- Poorter H, Nagel O (2000) The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: a quantitative review. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 595–607
- Radin JW, Matthews MA (1989) Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen-and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 89: 264-268
- Radin JW, Eidenbock MP (1984) Hydraulic conductance as a factor limiting leaf expansion of phosphorus deficient cotton plants. *Plant Physiology* 75: 771-775
- Radin JW (1984) Stomatal responses to water stress and to abscisic acid in phosphorus-deficient cotton plants. *Plant Physiology* 75: 372-377
- Radin JW, Ackerson RC (1981) Water Relations of Cotton Plants under Nitrogen Deficiency III. Stomatal conductance, Photosynthesis,

- and Absisic acid accumulation during drought. *Plant Physiology* 67: 115-119
- Robinson D (1996) Variation, co-ordination and compensation in root systems in relation to soil variability. *Plant and Soil* 187: 57-66
- Rowse HR, Goodman D (1981) Axial resistance to water movement in Broad bean (*Vici faba*) roots. *Journal Experimental of Botany* 32: 591-598
- Shane MW, McCully ME, Canny MJ (2000) Architecture of branch-root junctions in maize: structure of the connecting xylem and porosity of pit membranes. *Annals of Botany* 85: 613-624
- Simunek J, Hopmans JW (2009) Modeling compensated root water and nutrient uptake. *220:505-520*
- Sperry JS (2003) Evolution of water transport and xylem structure. *International Journal of Plant Sciences* 164: 115-127
- Sperry JS, Ikeda T (1997) Xylem cavitation in roots and stems of Douglas fir and white fir. *Tree Physiology* 17:275-280
- Scholander PF, Hammel HT, Bradstreet ED, Hemmingsen EA (1965) Sap pressure in vascular plants. *Science* 148: 339-346
- Sorgonà A, Abenavoli MR, Gringeri PG, Lupini A, Cacco G (2007) Root architecture plasticity of citrus rootstocks in response to nitrate availability. *Journal of Plant Nutrition* 30: 1921-1932
- Stedle E (2000) Water uptake by plant roots: an integration of views. *Plant and Soil* 226: 45-56
- Syvertsen JP, Graham JH (1985) Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of citrus root stocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110: 865-869
- Schulte PJ (2006) Water flow through junctions in Douglas-fir roots. *Plant, Cell and Environment* 29: 70-76
- Schulte PJ, Brooks JR (2003) Branch junctions and the flow of water through xylem in Douglas-fir and ponderosa pine stems. *Journal of Experimental Botany* 74: 1438-1445
- Tan ZX, Lal R, Wiebe KD (2005) Global soil nutrient depletion and yield reduction. *Journal of Sustainable Agriculture* 26: 123-146

- Taub DR, Goldberg D (1996) Root system topology of plants from habitats differing in soil resource availability. *Functional Ecology* 10: 258–264
- Tinker PB, Nye PH (2000) Solute movement in the rhizosphere. Oxford University Press, Oxford
- Tyree MT, Ewers FW (1991) The hydraulic architecture of trees and other woody plants. *New Phytologist* 119: 345-360
- Trubat R, Cortina J, Vilagrosa A (2006) Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). *Trees* 20: 334-339
- Trubat R, Cortina J, Vilagrosa A. 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments* 72: 879.-890
- Trubat R, Cortina J, Vilagrosa A (2011) Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a degraded semi-arid shrubland. *Ecological Engineering* 37: 1164-1173
- Tomaselli R (1981) Main physiognomic types and geographic distribution of shrub systems related to Mediterranean climates, In: di Castri F, Goodall DW, Specht R (eds) *Ecosystems of the World, Mediterranean-type Shrublands*, vol. 11. Elsevier Science, Amsterdam, pp 95-106
- Tjolkner MG, Craine JM, Wedin D, Reich PB, Tilman D (2005) Linking leaf and root trait syndromes among 39 grasslands and savannah species. *New Phytologist* 167: 493-508
- Valdecantos A, Cortina J, Vallejo VR (2006). Nutrient status and field performance of tree seedlings planted in Mediterranean degraded areas. *Annals of Forest Science* 63: 249-256
- Vilagrosa A, Cortina J, Gil E, Bellot J (2003) Suitability of drought-preconditioning techniques in Mediterranean climate. *Restoration Ecology* 11: 208-216
- Vitousek PM, Porder S, Houlton BZ, Chadwick OA (2010) Terrestrial phosphorus limitation: mechanisms, implications, and nitrogen-phosphorus interactions. *Ecological Applications* 20: 5-15

- Wells CE, Eissenstat DM (2003) Beyond the roots of young seedlings: the influence of *age and order on fine root physiology*. *Journal of Plant Growth Regulation* 21: 324–334
- Werner C, Smart JS (1973) Some new methods of topologic classification of channel networks. *Geographical Analysis* 5:271-295
- Williamson LC, Ribrioux SPCP, Fitter AH, Leyser HMO (2001) Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 126: 875–882
- Wu C, Wei X, Sun HL, Wang ZQ (2005) Phosphate availability alters lateral root anatomy and root architecture of *Fraxinus mandshurica* rupr. seedlings. *Journal of Integrative Plant Biology* 47: 292–301
- Zhu J, Ingram PA, Benfey PN, Elich T (2011) From lab to field, new approaches to phenotyping root system architecture. *Current Opinion in Plant Biology* 14: 310-317
- Zimmermann MH (1983) *Xylem structure and the ascent sap*. Springer-Verlag. Berlin
- Zimmermann U (1978) Physics of turgor- and osmoregulation. *Annual Review of Plant Physiology* 29: 121-148

CAPÍTULO 7

Discusión General



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Discusión general

El objetivo de esta sección es integrar los principales resultados obtenidos en los estudios desarrollados en el marco de esta tesis doctoral, en el contexto de la aplicación de fertilizantes como herramienta para mejorar la calidad de la planta forestal en vivero.

Durante los últimos años ha incrementado considerable nuestro conocimiento sobre la respuesta de especies forestales a diferentes técnicas de cultivo, métodos de plantación y cuidados post-plantación. En la mayoría de casos, estos conocimientos han supuesto mejoras en el éxito de las reforestaciones. Sin embargo, cuanto más conocimiento obtenemos sobre las características óptimas que debe reunir un brinzal de calidad, más evidente resulta la dificultad para definir un concepto integrado de calidad de planta que sea de validez general. La exigencia de un brinzal de calidad es mayor cuanto más limitante es el medio donde se realiza la plantación. En el caso de áreas degradadas en medio semiárido, nos encontramos ante unas condiciones edáficas, climáticas y bióticas a menudo limitantes, lo que demanda un esfuerzo suplementario para producir plantas con elevado potencial de éxito. Buena parte de la literatura y del conocimiento técnico-científico sobre la optimización de la nutrición mineral en vivero de especies forestales se ha generado a partir de coníferas de ambientes templados y boreales (Colombo, 2001). En cambio, existe poca información sobre la nutrición de especies forestales mediterráneas y las evidencias sobre cómo deben ser las características funcionales de la plantas usadas en reforestación son frecuentemente contradictorias (Oliet *et al.*, 2006). En esta discusión abordaremos la importancia de los aspectos morfológicos y fisiológicos de los brinzales para un buen establecimiento en campo y la importancia de la fertilización como herramienta para modelarlos para finalmente, y a tenor de los resultados obtenidos en el presente trabajo, abordar la problemática de la posible modificación de la normativa actual sobre las características morfológicas de los brinzales para su plantación

1. Manipulación de la morfología de los brinzales

La morfología es una de las variables más utilizadas para determinar las características idóneas de la planta forestal. La fertilización es uno de los factores que más influyen en la definición de las características morfo-funcionales de la planta. Afecta tanto a la concentración de nutrientes, como al crecimiento de la planta en vivero. La manipulación de la disponibilidad de nutrientes nos permite controlar el desarrollo de los brinzales, especialmente en especies de semilla pequeña. A partir de la restricción nutricional, es posible generar plantas con una serie de rasgos que permiten aumentar su potencial para resistir situaciones extremas (Tuttle *et al.*, 1988; Rose *et al.*, 1993; Tan y Hogan, 1995; Harvey y van den Driessche, 1999; Trubat *et al.*, 2008, 2010, 2011). Esto ha sido una constante en los experimentos realizados. Con notables diferencias entre especies, hemos observado respuestas morfológicas y fisiológicas muy claras a la fertilización. Los tamaños de la parte aérea de las plantas deficientes en nitrógeno y de las plantas deficientes en fósforo se correlacionaron significativamente para el conjunto de las especies ensayadas con la supervivencia en campo. La íntima relación entre las características morfológicas y las deficiencias nutricionales, ha sido observada por otros autores (Ågren, 1988; Olsen y Bell, 1990). Por otra parte, numerosos estudios han observado modificaciones en la distribución de biomasa como respuesta a la fertilización. Aunque el enriquecimiento localizado de nutrientes puede promover la proliferación de raíces finas, incluso en medios áridos (Grime *et al.*, 1991; Larigauderie y Richards, 1994), en muchos casos la fertilización potencia el crecimiento de la parte aérea en detrimento de la parte subterránea (Fitter y Hay, 1981; Linder y Rook, 1984; Mooney y Winner, 1991; Poorter y Nagel, 2000), y por lo tanto, provoca un aumento del cociente entre la biomasa de ambas partes de la planta. De forma análoga, el aumento de la proporción de biomasa acumulada en la parte subterránea en plantas deficientes en nitrógeno y fósforo ha sido ampliamente documentado en la bibliografía (Ingestad y Ågren, 1991; Poorter y Nagel, 2000), y puede promover la capacidad de la planta para acceder a los recursos del suelo y mejorar el suministro de agua. La supresión de nitrógeno y fósforo en la solución nutritiva, en nuestro caso provocó un aumento significativo de la relación entre la biomasa subterránea y la aérea en todas las especies. Al

mismo tiempo, la reducción del fósforo disponible en la solución nutritiva provocó una reducción del área específica foliar (SLA) en cuatro de las cinco especies ensayadas (excepto en *P. lentiscus*). Esta disminución podría ser debida a cambios anatómicos, como la reducción del diámetro de las células y el incremento del grosor de la pared celular (Castro-Díez *et al.*, 1997). Un aumento de la biomasa radicular, acompañado de una reducción de la área específica foliar, han sido relacionados con una mayor capacidad para soportar la sequía (Corcuera *et al.*, 2002), ya que a través de estos mecanismos de respuesta, la planta podría reducir las pérdidas hídricas (Gratani y Bombelli, 2001). Otros efectos morfológicos frecuentemente asociados a la fertilización son el incremento de la superficie foliar (Pereira *et al.*, 1989), la variación de la longitud, densidad y localización de raíces (Squire *et al.*, 1987; Mamolos *et al.*, 1995; Lynch 2011). Es importante destacar que estos efectos pueden tener implicaciones en la captura de otros recursos como el agua (Mooney y Winner, 1991; Lynch y Ho 2005). Por ello, un aumento de la superficie foliar y, especialmente, una disminución del crecimiento de las raíces de los brinzales introducidos, consecuencia de un aumento de la disponibilidad de nutrientes, dejaría a la planta en condiciones menos favorables para soportar la sequía estival (Linder *et al.*, 1987; Luis *et al.*, 2009).

De forma general, podemos concluir que algunos cambios provocados por las limitaciones nutricionales (asignación proporcional de más biomasa a la parte subterránea e incluso aumento de biomasa radicular, disminución de SLA y área foliar), contribuirían a mejorar el establecimiento de los brinzales en campo. Sin embargo, a tenor de la bibliografía consultada y de los resultados obtenidos, el reto de determinar qué atributos morfológicos y fisiológicos son los más apropiados para determinar la calidad funcional del brinzal en una plantación resulta particularmente complejo. No todas las especies muestran la misma capacidad de asimilación y eficiencia en el uso de nutrientes, ni todas muestran el mismo patrón de respuesta morfo-funcional a la disponibilidad de nutrientes, ni los patrones de respuesta son igual de eficaces frente al estrés de la plantación. Sin embargo, tal como han puesto de manifiesto nuestros resultados, junto a la idiosincrasia de cada especie, existen algunas regularidades. Algunas respuestas comunes a diferentes especies, que afectarían de manera análoga a su capacidad para superar el estrés, formarían parte de un conjunto de rasgos asociados a brinzales de calidad en estos medios.

2. Plasticidad de respuesta de las diferentes especies

A lo largo de los diferentes capítulos hemos evaluado cómo el estado nutricional de los brinzales regula el crecimiento, el balance entre biomasa aérea-subterránea y, en definitiva, la morfología final de planta. Aunque todas las especies estudiadas respondieron a los tratamientos aplicados, en lo que se refiere a la respuesta morfológica, *Quercus coccifera* presentó una respuesta menos plástica a los tratamientos de fertilización, lo que coincide con lo observado en otros estudios realizados con esta especie (Del Campo, 2002). Esto puede ser debido a la mayor cantidad de reservas contenidas en las semillas, notablemente mayores que las de otras especies estudiadas, aspecto que ya ha sido discutido para otras especies del género *Quercus* (Jurado y Westoby, 1992). La mayoría de las especies de este género muestran una baja plasticidad morfológica en respuesta a la variación en la disponibilidad de nutrientes y luz (Valladares *et al.*, 2002; Villar-Salvador *et al.*, 2004). Esto sugiere que la baja plasticidad del crecimiento de *Q. coccifera* en nuestro estudio podría ser debida a su fuerte dependencia del N de la bellota en esta fase de desarrollo, y al modelo rígido de removilización de nitrógeno. Tanto *Q. coccifera* como *Q. suber* respondieron de forma diferente a los distintos regímenes de endurecimiento y deficiencia nutricional, debido probablemente a las diferencias en la cantidad de nutrientes aportados por las bellotas (Fenner, 1983; Jurado y Westoby, 1992; Wu *et al.*, 2006). No obstante, una vez eliminado el efecto de la bellota, tanto *Q. coccifera* como *Q. ilex* mostraron una baja plasticidad, probablemente debido a la respuesta adaptativa a las características del clima mediterráneo, y especialmente al binomio impredecibilidad-adversidad (Valladares *et al.*, 2000; Balaguer *et al.*, 2001; Valladares *et al.*, 2002).

En contraste con *Q. coccifera*, otras especies como *R. alaternus* y *P. lentiscus* presentaron una mayor variabilidad en los rasgos morfológicos provocada por los diferentes regímenes de fertilización. Estas diferencias entre especies en cuanto a la respuesta a la fertilización pueden ser debidas a diferencias en el transporte y distribución de nutrientes (Van den Dijk *et al.*, 2006), en la eficiencia de la absorción de éstos (Aerts y Chapin, 2000), o en la anatomía y morfología de cada

una de ellas (Mediavilla y Escudero, 2003). En este sentido, resulta interesante constatar que *R. alaternus*, en comparación con otras especies mediterráneas, muestra una escasa capacidad de frenar la entrada de metales pesados y su transferencia a la parte aérea, siendo particularmente sensible a elementos como el Cu y el Zn (Fuentes *et al.*, 2007a), lo que sugiere que esta especie muestra también una elevada plasticidad frente a este aspecto de la nutrición.

3. Régimen de fertilización y morfología y función del sistema radicular

La eficiencia del sistema radicular depende tanto de su extensión y superficie total, como de la permeabilidad de sus superficies. Esta última varía con la edad y estado de desarrollo de la planta. Del grado de desarrollo de las raíces dependerá en gran medida la capacidad de mantener la hidratación y, por tanto, de sobrevivir. Una de las mayores limitaciones que tienen las plantas a la hora de establecerse en el campo es la capacidad de suministro de agua por la raíz. La capacidad de absorción de agua no sólo depende de la cantidad de raíces que tenga la planta, sino de su morfología, de la profundidad del sistema radicular, del tipo de ramificación, es decir, del diseño del sistema radicular y de la capacidad de dicho sistema para transportar agua. Diversas variables como el cociente entre la biomasa asignada a la parte aérea y a la parte subterránea se han considerado muy útiles para definir lotes de plantas adecuados para reforestación (Villar-Salvador, 2003). Otras variables, como la ramificación del sistema radicular, la longitud de raíces finas, o la superficie absorbente han recibido menos atención. Todas estas características son estáticas y no pueden reflejar aspectos funcionales como pueden ser la conductividad hidráulica radicular (Rieger, 1995), ya que los mecanismos de absorción y transporte de agua por el sistema radicular se encuentran entre los aspectos más complejos de la fisiología de las plantas (Gil-Pelegrín *et al.*, 2005).

Las características hídricas de las plantas se puede dividir en tres partes: 1) La absorción de agua del suelo por parte de las raíces finas, proceso que viene determinado por las características del suelo y por los atributos del sistema radicular (Passioura, 1988). 2) La evaporación de agua en las hojas, que puede ser regulada por las plantas a través de la actividad estomática y la transpiración (Whitehead, 1998). 3) El transporte de agua desde las raíces hasta las hojas. Es

este último punto al que se considera más importante para la supervivencia de las plantas en condiciones de estrés intenso, debido a que si las condiciones de estrés son muy severas, se puede inducir la cavitación del xilema, que provoca desconexión hidráulica de las hojas respecto del sistema radical (Tyree y Zimmerman, 2001; Vilagrosa *et al.*, 2003; McDowell *et al.*, 2011). El tamaño de los conductos del xilema, la conductividad hidráulica y la vulnerabilidad al embolismo tienden a ser mayores en las raíces que en las ramas/tallos de tamaño similar (Fig. 1, Zimmermann, 1983; Tyree y Zimmerman, 2001). Todos estos resultados sugieren que las raíces operan con un menor margen de seguridad respecto al fallo hidráulico que los tejidos aéreos y que, por lo tanto, éstas limitan el transporte de agua y la transpiración en condiciones de déficit hídrico (Jackson *et al.*, 2000; Pratt *et al.*, 2007). Al mismo tiempo, emerge una visión más dinámica del sistema radicular, en el que las raíces en contacto con las regiones más secas del suelo se desconectan hidráulicamente del resto (*i.e.*, se embolizan) y, de este modo, impiden que la planta pierda agua y protegen órganos más valiosos. Un intenso déficit hídrico reduce el crecimiento radicular y la capacidad de las raíces para absorber agua como consecuencia de la suberificación (North y Nobel, 1992; Steudle, 2000). Por lo tanto la conductividad hidráulica de la planta puede variar en función de factores externos como la sequía o la salinidad, y factores internos como el contenido de nutrientes, el estado hídrico o la demanda de agua (Lo Gullo *et al.*, 1998).

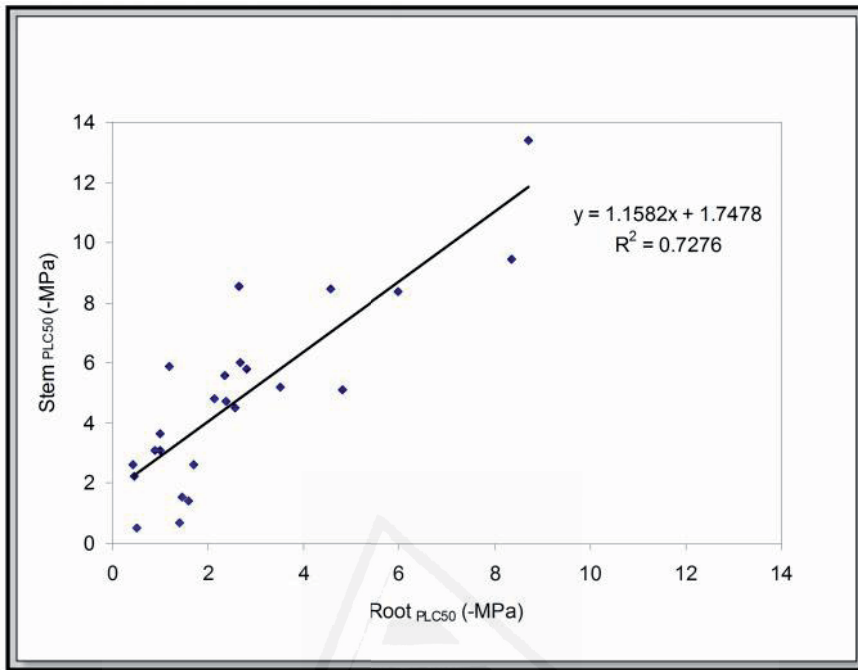


Figura 1: Relación entre la resistencia a la cavitación de tallos y raíces para diversas especies mediterráneas partir de diversos trabajos (Vilagrosa, datos no publicados).

La configuración espacial del sistema radicular es la responsable del patrón de exploración del suelo (Fitter y Stickland, 1991). La evaluación de la arquitectura del sistema radicular es una tarea compleja. La arquitectura hace referencia a la configuración espacial del sistema (desarrollo geométrico de los ejes radicales) y a las consecuencias funcionales de esta distribución, y, por lo tanto está relacionado con la capacidad de supervivencia en campo. El patrón de crecimiento del sistema radicular viene determinado principalmente por sus características genéticas (Kutschera y Lichtenegger, 1992). Sin embargo, también está influenciado por la disponibilidad de agua, la temperatura, los nutrientes, y las condiciones químicas y biológicas de los distintos horizontes del suelo (Fahn, 1985; Schubert, 1991). Son raros los casos en que las plantas se desarrollan en ambientes sin limitaciones. Por el contrario, las plantas deben enfrentarse a restricciones de uno o varios recursos de forma simultánea. Es por ello que el concepto de eficiencia en el uso de

recursos constituye un factor clave en la supervivencia de las plantas. El fósforo puede alterar el desarrollo de la planta de dos formas, una es actuando como nutriente y estimulando la producción de biomasa aérea, y otra es funcionando como una señal que regula los cambios en la arquitectura de la raíz (López-Bucio *et al.*, 2002). Dichos cambios pueden afectar a la capacidad de la planta de incorporar nutrientes y agua. Esto incluye alteraciones en la longitud total de la raíz, en el alargamiento de los pelos radiculares y en la formación de raíces laterales (Dinkelaker *et al.*, 1995; Bates y Lynch, 1996; Borch *et al.*, 1999). Esto sugiere que la plasticidad morfológica es un importante mecanismo adaptativo para adquirir recursos limitantes como los nutrientes y el agua (Hutchings y de Kroon, 1994; Lynch 2011).

El desarrollo de las raíces está relacionado con factores genéticos y ambientales como la temperatura y textura del suelo, la disponibilidad de agua y de nutrientes. Uno de los aspectos que se deben tener más en cuenta al considerar la topología de los sistemas radiculares, es la implicación a nivel de la exploración del suelo y los recursos que esto pueden representar para los plantones. En este sentido, y en base a los valores obtenidos para *P. lentiscus*, los índices topológicos de esta especie muestran un sistema radicular dicotómico, más ramificado que, por ejemplo, el de *Q. coccifera*. Desde un punto de vista teórico, la estructura en espina de pez, mayoritaria en el género *Quercus*, donde la ramificación radicular prioriza el eje principal, es más eficiente en la adquisición de recursos, implica un mayor coste de producción, y se considera en algunos trabajos, menos eficiente en el transporte de agua (Fitter *et al.*, 1991; Fitter y Stickland, 1991). Por otra parte, un sistema en espina de pez permitiría optimizar la captura de recursos del suelo móviles y profundos, como el agua y los nitratos (Lynch y Ho, 2005)

La eficiencia del sistema radicular para obtener recursos se ve significativamente afectada por la fertilización. Se ha observado que la privación de nutrientes provoca una disminución del transporte de agua por el sistema radicular (Radin y Matthews 1989; Trubat *et al.*, 2006), y como consecuencia de esta disminución, se limita el crecimiento de la planta (Hsiao, 1973). Este proceso puede provocar una disminución del aporte de carbohidratos a las hojas que estarán disponibles para el crecimiento radicular (Clarkson *et al.*, 2000). La arquitectura radicular es

especialmente importante para la adquisición de aquellos nutrientes que se movilizan por difusión, como el fósforo y el potasio (Barber, 1995). Debido a que la disponibilidad de fósforo es más elevada en los horizontes superficiales y decrece en profundidad, es probable que un sistema radicular con concentración de raíces en superficie sea más eficiente en la adquisición de este elemento (Lynch y Brown, 1997; Rubio *et al.*, 2001).

En nuestros estudios, los brinzales sometidos a deficiencia de nutrientes presentaron un sistema radicular más ramificado que las plantas con una fertilización óptima. La ausencia de fósforo en la solución nutritiva provocó un aumento muy importante de la superficie absorbente, así como de la longitud específica radicular (SRL), respuestas que ya se habían observado anteriormente en otros estudios (Williamson *et al.*, 2001; López-Bucio *et al.*, 2002; Fitter *et al.*, 2002). Una mayor extensión de raíces laterales es favorable, ya que permite la exploración de un volumen mayor de suelo. El aumento de la densidad radicular es considerado como el mecanismo de mayor importancia en la absorción de agua, ya que permite una mayor exploración de volumen de suelo (Joffre *et al.*, 1999). Estos resultados han sido descritos anteriormente en *Arabidopsis thaliana* (Williamson *et al.*, 2001; López-Bucio *et al.*, 2003). Normalmente esta extensión se produce en las capas superficiales del suelo, donde se acumulan los nutrientes; de esta manera, dicha extensión puede desempeñar una función importante en la absorción de agua (especialmente la procedente de pequeños eventos de lluvia) y nutrientes (Canadell y Zedler, 1995), especialmente en zonas áridas.

Resultados que provienen de modelos de simulación (Rubio *et al.*, 2001), experimentos controlados en invernaderos (Liao *et al.*, 2001) y campo (Rubio *et al.*, 2003), indican que los sistemas radicular más superficiales confieren ventajas en la adquisición de fósforo. Los sistemas radicales superficiales exploran un mayor volumen de suelo por unidad de biomasa radicular, debido a que poseen raíces más dispersas y, en consecuencia, con menor superposición (Ge *et al.*, 2000).

En la actualidad, gran parte de los estudios sobre la arquitectura del sistema radicular se centran en modelos de crecimiento. Hace décadas se empezó a modelar el desarrollo y crecimiento del sistema radicular (Hackett y Rose, 1972; Gerwitz y Page, 1974; Porter *et al.*, 1986). Con la progresiva mejora de la tecnología y la aparición de nuevas aplicaciones y software específico facilitaron modelos más complejos (Robertson *et al.*, 1993; Jourdan y Rey, 1997) donde ya se incorporaban elementos de la fisiología de la planta e interacciones con el medio. En los últimos 15 años, se han creado gran variedad de modelos que integran procesos físicos y biológicos de crecimiento, modelos que han sido denominados como “modelización morfo-estructural de la planta” (Godin y Sinoquet, 2005). Varios de estos modelos han descrito la transferencia de nutrientes y agua entre el suelo y la planta (Doussan *et al.*, 1998; Dunbabin *et al.*, 2002). Otros modelos simulan cómo y qué elementos han contribuido a conformar la arquitectura de la planta (Drouet y Pagès, 2007). Ahora bien, ninguno de los modelos de crecimiento y funcionamiento hidráulico realizados hasta la fecha se ha elaborado teniendo en cuenta las características topológicas del sistema radicular.

El flujo de agua del suelo a las hojas depende de la conductividad hidráulica, la arquitectura del sistema radicular, y de la interacción entre estos (Doussan *et al.*, 1998). La correlación entre la conductividad hidráulica y el número de nodos encontrada en este trabajo, sugiere que la resistencia del flujo de agua depende en gran medida del número de uniones más que de cómo se distribuyen. La importancia de los nodos puede ser de notable ayuda, al proteger la raíz principal durante el secado del suelo (North *et al.*, 1992).

La supresión de nitrógeno y fósforo de la solución nutritiva ha conducido a una serie de cambios morfológicos, tanto de la parte aérea como de la radical, cambios ya identificados en otros estudios (López-Bucio *et al.*, 2002). La respuesta de los brinzales al estrés nutricional, provocado por esta privación de nutrientes, tiene como consecuencia una serie de cambios morfo-fisiológicos (Fig. 2) que facilitan el establecimiento a corto plazo de los brinzales en ambientes con fuertes restricciones hídricas. Es decir, induce una serie de modificaciones que aumentan la resistencia al estrés, facilitando su establecimiento.

4. Rasgos morfo-fisiológicos y establecimiento

La supervivencia de las plantas viene condicionada, entre otros factores, por la evolución de las condiciones climáticas después de la plantación. South y Smith (2000) sugirieron que los factores que influyen en el establecimiento del brinjal, son, por orden de importancia, las condiciones ambientales del lugar de establecimiento (adecuación de la especie, preparación del terreno y cuidados culturales), el manejo de la planta, y su morfología y fisiología (material forestal de reproducción y calidad de planta), a lo que habría que añadir los factores genéticos. Uno de los principales objetivos de este trabajo era determinar qué atributos, o qué magnitud de los mismos, son más apropiados para medir la calidad funcional de la planta (Fig. 2).

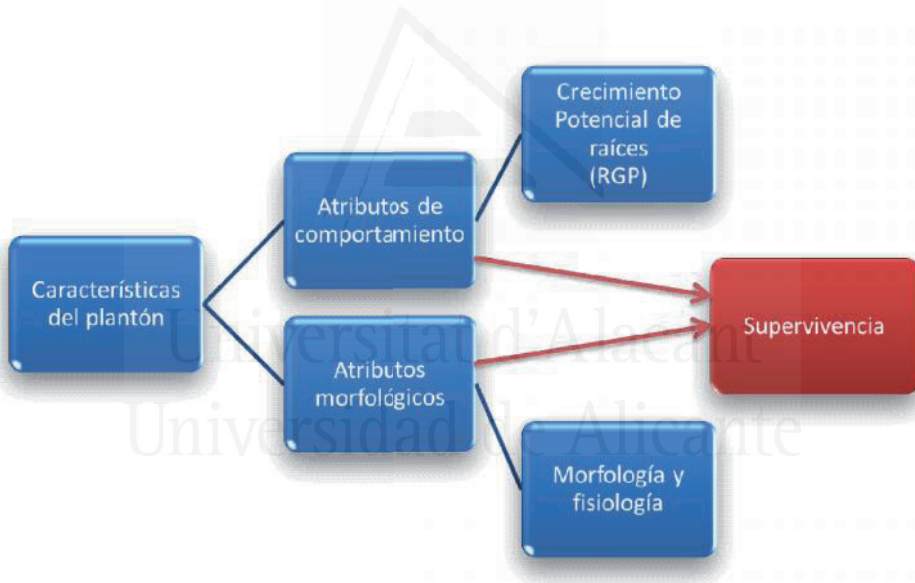


Figura 2: Esquema conceptual de los atributos de los plantones que afectan a su supervivencia en el campo. A partir de Folk y Grossnickle (1997).

Existen multitud de atributos morfológicos cuantitativos para caracterizar la calidad de la planta; de ellos, los más utilizados han sido la altura del tallo, el diámetro del cuello de la raíz, y los pesos secos de la parte aérea y de la raíz (Ritchie, 1984; Mexal y Landis, 1990; Villar-Salvador, 2003). La mayoría de trabajos publicados sugiere que las plantas grandes y bien nutridas se desarrollan mejor que las pequeñas y poco fertilizadas (Cortina *et al.*, 1997; Oliet *et al.*, 1997, Villar-Salvador *et al.*, 2000; Puértolas *et al.*, 2003; Luis *et al.*, 2004; Villar-Salvador *et al.* 2004; Oliet *et al.*, 2005a, 2005b; Luis *et al.*, 2009). Sin embargo, otros estudios realizados en medios semiáridos con brinzales de especies arbóreas y arbustivas mediterráneas no parecen mostrar relación alguna entre el tamaño a la salida de vivero y su comportamiento a corto plazo en el campo (Cortina *et al.*, 1997; Seva *et al.*, 2000). Existen evidencias de que en medios especialmente adversos sería deseable generar plantas de menor tamaño que pudieran requerir un menor consumo de agua, especialmente a través de una menor acumulación de hojas (Trubat *et al.*, 2004). Una consecuencia de todo ello, es la propuesta de establecer programas específicos que determinen atributos de la planta encaminados a la mejora de su calidad, que sean ajustados a cada especie y condición climática del sitio de reforestación. Hasta la fecha, existen programas de producción de brinzales para algunas especies americanas, como *Pinus taeda* o *Pseudotsuga menziensis* (Birchler *et al.*, 1998); pero en España sólo existe normativa relativa a algunos caracteres morfológicos y genéticos como criterio de análisis de calidad de planta para algunas especies de interés forestal (Tabla 1). Este desconocimiento se agrava por la falta de homogeneidad de las técnicas de cultivo y de las características de las plantas producidas (Royo *et al.*, 1997; Navarro *et al.*, 1998).

Una manera de profundizar en la gran disparidad de resultados obtenidos en campo, es comprendiendo la relación entre el arraigo de los brinzales y el clima (Luis *et al.*, 2003; Villar- Salvador *et al.*, 2004; Luis *et al.*, 2009; Trubat *et al.*, 2011). En primer lugar, es necesario identificar los factores que influyen en el arraigo y determinar cómo interactúan entre ellos. El proceso de arraigo de un brinzal propuesto por Burdett (1990), uno de los más aceptados y referidos en la literatura, parte de la idea de que, una vez plantado, el brinzal debe recuperarse lo antes posible de estrés sufrido, estableciendo un contacto entre sus raíces y el suelo que le permita retomar las funciones vitales de absorción de agua y nutrientes (Fig. 3). Sin embargo, este modelo conceptual se desarrolló para climas templado-húmedos y boreales, y para plantaciones de brinzales a raíz desnuda.



Figura 3: Modelo de Burdett (1990) del proceso de arraigo de brinzales en plantaciones a raíz desnuda en climas templado-húmedos y boreales.

Aunque los procesos fisiológicos sean muy parecidos en medios templados y en ambientes mediterráneos, en las plantaciones realizadas en estos últimos se suele utilizar contenedores, lo que evita daños al sistema radicular, atenuando el impacto del shock post-trasplante. Después de un periodo húmedo (corto en el semiárido, más extenso en el sub-húmedo), acontece en los ambientes mediterráneos un periodo de intenso déficit hídrico, con bajas precipitaciones y alta demanda evaporativa. Tomando como modelo de partida el descrito anteriormente (Fig. 3), y realizando una serie de modificaciones (Fig. 4), se pone de manifiesto que no sólo la capacidad inicial de regeneración radicular es crucial para el arraigo; también lo es la capacidad de asimilación de carbono. Sin embargo, debemos tener en cuenta los aspectos que juegan en contra del mantenimiento hídrico del brinjal. Por un lado, una mayor biomasa foliar confiere a la planta una mayor capacidad de asimilación de carbono. Pero por otro lado, significa un mayor consumo potencial de agua. En muchos casos esto está asociado con una mayor asignación de recursos a la parte aérea, respecto a la subterránea, lo que supone una menor capacidad para absorber agua del suelo (menor superficie absorbente / superficie transpirante). Por otra parte, plantas más desarrolladas como consecuencia de una mayor fertilización pueden mostrar una menor capacidad de transporte de agua a nivel de todo el sistema radical (Ewers *et al.*, 2000; Hernández *et al.*, 2009) y una menor resistencia a de cavitación del xilema (Harvey y van den Driessche, 1997). Este trabajo, además observó que las plantas más grandes generaban mayores tensiones del xilema para mantener el estado de hidratación, lo que en condiciones de sequía podría significar un riesgo más elevado de potenciales hídricos muy negativos, y de cavitación del xilema. Debemos tener en cuenta que el suelo se seca, en medios mediterráneos, hasta una profundidad considerable durante la sequía estival (Pemán *et al.*, 2000). Resultados de experimentos llevados a cabo en medios áridos sugieren que si la planta no puede profundizar al ritmo de esta desecación, no será capaz de soportar el estrés estival (Padilla y Pugnaire, 2007). Por ello, el modelo de establecimiento de brinzales en medios sometidos a intensa sequía estival, debería incorporar explícitamente esta capacidad de enraizamiento profundo, o relativamente profundo. Este rasgo ecológico se ha atribuido tradicionalmente a la especie y puede ser modificado mediante técnicas de vivero (Chirino *et al.*, 2008) y de preparación del suelo y fertilización in situ (Fuentes *et al.*, 2007b). Sin embargo, tenemos poca información sobre la relación entre

estado nutricional de la planta y capacidad de profundización. Los resultados de estudios con *Quercus ilex* y *Quercus suber* sugieren que un estado nutricional deficiente o el repicado de la raíz principal podrían reducir o enlentecer el descenso de las raíces (J. Cortina, Universidad de Alicante, com. pers.), lo que afectaría negativamente a la supervivencia de los brinzales.

El suelo es, después del clima, otro de los principales factores determinantes del éxito de la plantación, especialmente por su impacto sobre el estado hídrico del brinjal. Un factor fundamental es la resistencia mecánica del suelo (Zou *et al.*, 2001). En suelos muy pedregosos o poco profundos las raíces encuentran dificultades para penetrar y desarrollarse, y es entonces donde el modelo se ve entorpecido. Plantas poco productivas introducidas en estos ambientes tendrían ventaja sobre las plantas más productivas (grandes). Los brinzales grandes o bien fertilizados plantados en un suelo preparado pueden aprovechar mejor, de esta manera, su morfología inicial, mientras que instalados en un suelo poco profundo y pesado, con una escasa preparación del terreno, no podrían hacerlo.



Figura 4: Modelo de Burdett (1990) modificado para condiciones específicas de plantaciones en contenedor en ambientes mediterráneos.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, en ambientes semiáridos, donde la resistencia a la sequía es crucial para el establecimiento de los brinzales, la modificación de las características morfo-fisiológicas de los brinzales mediante la fertilización adquiere un papel clave. La respuesta de las diferentes especies a la deficiencia nutricional nos indica que los rasgos morfo-fisiológicos modificados pueden tener más importancia, de cara al éxito en el establecimiento, que la escasez de las reservas de nutrientes. Estos resultados ponen de manifiesto la necesidad de redefinir el concepto de calidad de brinzales en ambientes

semiáridos, y la necesidad de establecer regulaciones específicas sobre la calidad de las repoblaciones de brinzales.

5. Endurecimiento nutricional

Estudios recientes sobre endurecimiento nutricional indican que la disminución del aporte de nutrientes durante la fase final del cultivo en vivero tendría un efecto negativo sobre el posterior crecimiento de los brinzales, y que este efecto sería debido a un peor estado nutricional y un menor tamaño (Vilagrosa *et al.*, 2006). Los resultados obtenidos al relacionar nutrición y endurecimiento nutricional han sido contradictorios, ya que se han obtenido resultados muy dispares comparando plantaciones en condiciones semiáridas (Trubat *et al.*, 2008) y secas sub-húmedas (Trubat *et al.*, 2010). En las plantaciones llevadas a cabo en Albaterra (semiárido) el endurecimiento nutricional provocó un mejor comportamiento en campo de los brinzales de todas las especies. Estos resultados sugieren que cuando se presentan fuertes limitaciones hídricas, como las que hemos encontrado en nuestro estudio, la reducción del aporte de nitrógeno en la fase final del cultivo puede tener efectos beneficiosos para la supervivencia de la planta. Frecuentemente la fertilización potencia el crecimiento de la parte aérea de la planta en relación con la subterránea (Fitter y Hay, 1981; Linder y Rook, 1984), y en consecuencia el cociente entre ambas disminuye, con el consiguiente efecto sobre el balance hídrico y el comportamiento en campo (ver más arriba).

Por el contrario, en Espadán (con ombroclima Mediterráneo seco sub-húmedo) los brinzales de *Quercus suber* endurecidos no mostraron una mejora de comportamiento en campo, respecto a los brinzales fertilizados con una solución estándar. A la disparidad de resultados han contribuido probablemente las diferencias entre especies y la contrastada pluviometría. Ya hemos explicado anteriormente que cada especie tiene unos requerimientos particulares de nutrientes que le permiten un crecimiento y vigor óptimos. Hemos observado que las especies utilizadas tienen una magnitud de respuesta diferente dependiendo del desarrollo de cada una de ellas y de sus patrones de asignación de recursos. Todas las especies endurecidas químicamente mostraron mayores tasas de crecimiento relativo en primavera, aunque hubo importantes diferencias en las

fechas de inicio de dicho crecimiento. El efecto del endurecimiento nutricional en las cinco especies tratadas en el ensayo de ambiente semiárido fue análogo al efecto provocado por la supresión en la solución nutricional de fósforo y nitrógeno. En ambos casos tuvo como resultado una disminución del área específica foliar, una disminución del área foliar, o una disminución del tamaño general de la planta, factores que facilitarían el establecimiento en campo bajo ambientes semiáridos. Además, la reducción del aporte de nitrógeno provocó una disminución de la concentración de potasio en hojas, lo que podría promover un incremento de la absorción de agua (Quintero *et al.*, 1998). Sorprendentemente, la reducción de nitrógeno al final del periodo de cultivo no supuso un incremento de la biomasa radicular, o un consumo de lujo de otros nutrientes. En los brinzales de *Quercus suber* la reducción de nitrógeno en la última fase de vivero no provocó una disminución de la altura, aunque sí una disminución de la biomasa radicular. Lo que sugiere que el crecimiento de los brinzales incluidos los endurecidos) no se detuvo por completo en invierno, debido a las buenas temperaturas en vivero. Este hecho probablemente provocó una mortalidad elevada en campo en brinzales endurecidos, debido a una disminución de las reservas nutricionales que fue acompañado por el mantenimiento del área foliar y la reducción de la biomasa radicular respecto a los brinzales tratados con fertilización estándar.

Hasta el presente, el endurecimiento nutricional de especies mediterráneas ha recibido poca atención. Los resultados obtenidos en este trabajo, sin embargo, muestran la importancia de esta técnica y su interacción con la resistencia a la sequía. De acuerdo con nuestros resultados, sería recomendable, a nivel de producción de planta forestal, que se incorporasen tratamientos de endurecimiento durante la fase final de vivero, para la restauración en ambientes semiáridos. Aunque, tal como ponen en evidencia los dos estudios sobre endurecimiento nutricional incluidos en esta tesis, sería necesario adecuar esta técnica en función de la especie y de su estrategia de resistencia a situaciones de estrés.

6. Crecimiento potencial de raíces (RGP)

La supervivencia de los brinzales en las repoblaciones está ligada a la rápida producción de raíces nuevas después del trasplante, y al enraizamiento profundo que aseguren el abastecimiento de agua y nutrientes durante períodos de sequía (Burdett, 1990; Grossnickle, 2005; Padilla y Pugnaire, 2007). Hasta el momento, hemos observado que se puede variar la morfología del brinjal modificando los regímenes de fertilización. Mediante la manipulación de la disponibilidad de nutrientes también se puede variar el potencial de respuesta de la planta, y con ello incidir sobre su supervivencia y crecimiento en el campo. Para superar el shock post-trasplante, es necesario promover el rápido crecimiento de raíces que favorezca el contacto de éstas con el suelo húmedo y restablezca el equilibrio hídrico de la planta (Burdett, 1990). Multitud de estudios han corroborado la existencia de una relación funcional entre RGP y la supervivencia post-trasplante (Simpson y Ritchie, 1997; Mckay, 1999). Por ello el RGP es uno de los atributos de comportamiento más ampliamente utilizados en la caracterización de la planta en vivero, e incluso ha sido incorporado en algunos países de forma operativa para la clasificación de lotes de planta por calidades (Grossnickle, 2000). Varios trabajos han demostrado la existencia de una relación funcional entre el RGP y la supervivencia y el crecimiento post-trasplante (Mckay, 1999). Sin embargo, tal como sucede en este trabajo, abundan las excepciones, por lo que la relación entre RGP y establecimiento en campo ha sido muy discutida (Mattson, 1997; Trubat *et al.*, 2004). Algunos investigadores sostienen que se trata de una variable para evaluar el funcionamiento y predecir la supervivencia de los plantones en condiciones de plantación (Johnson y Cline, 1991). Por el contrario, se ha sugerido que esta variable permitiría establecer el estado fisiológico y el vigor de los brinzales, constituyendo un criterio para evaluar su calidad (Burdett, 1990), y que además sirve para obtener una estimación de la resistencia al estrés; pero que no es apta para medir la capacidad de formar nuevas raíces en el campo (Ritchie, 1985).

Es posible que el efecto positivo de la fertilización sobre el RGP esté también relacionado eminentemente con el tamaño, y no estrictamente con el estado nutricional (Simpson y Ritchie, 1997). Así, la fertilización otoñal de brinzales de

Quercus ilex deficientes en nutrientes, que afectó sustancialmente a su estado nutricional pero no a su tamaño, no tuvo un efecto significativo sobre RGP (J. Monerri, Univ. de Alicante, com. pers.). En nuestro estudio, no observamos una relación sólida entre el crecimiento potencial de raíces y la resistencia al *shock* de trasplante, e incluso la relación resultó negativa en el caso de *P. lentiscus*. Estos resultados contrastan con lo observado en otros estudios (Villar-Salvador, 2003). En los resultados obtenidos en esta memoria el RGP se correlacionó positivamente con la altura de los brinzales, excepto en *Quercus coccifera*, lo que sugiere que la altura del tallo podría ser un buen indicador de la vitalidad de los brinzales en ambientes favorables. En algunos trabajos, el RGP se ha relacionado positivamente con la concentración de nitrógeno y con la altura de la planta (Ritchie 1985; van den Driessche, 1992). Ya que parece que este test tiene una capacidad predictiva limitada, algunos autores han propuesto llevarlo a cabo en condiciones similares a las que los brinzales encontrarán cuando se planten (Folk y Grossnickle, 1997). Por otra parte, desde un punto de vista operativo, el RGP tiene algunos inconvenientes destacables. Por un lado, el RGP muestra importantes variaciones estacionales, y es sensible a las condiciones climáticas previas a la medida (Fernández y Pardos, 1995). Por otro lado, este test requiere cierto tiempo (comúnmente una o varias semanas) para ser completado.

7. Regulación normativa de la calidad de planta

Diferentes Administraciones han establecido sistemas para garantizar la calidad cabal y comercial de partidas de brinzales (Apéndice II). En general, estos sistemas regulan algunas variables cualitativas, así como algunas variables morfológicas de fácil evaluación. En pos de su aplicabilidad, estas normativas están necesariamente limitadas a las especies de interés forestal o las más empleadas en reforestación. Las normativas, además, son de aplicación general, sin apenas considerar ajustes en función de las condiciones del sitio. Con ello, se asume que los atributos que definen una planta de calidad son independientes de las condiciones de la plantación, extremo que no es necesariamente cierto.

En varios estudios sobre atributos morfológicos de plantas cultivadas en contenedor, se ha observado una relación positiva entre la supervivencia en el campo y la altura del brinjal (Cortina *et al.*, 1997; Villar-Salvador *et al.*, 2004; Luis *et al.*, 2009). En otros trabajos, sin embargo, no existe relación alguna o ésta es negativa (Navarro *et al.*, 2006; Fig. 5). En el presente trabajo, las cinco especies ensayadas en ambiente semiárido mostraron una relación negativa entre la altura del tallo y la supervivencia en campo. Las regresiones logísticas mostraron relaciones significativas, lo que sugiere que esta variable podría ser usada para predecir la mortalidad a corto plazo en ambientes semiáridos. Los resultados obtenidos llevarían a recomendar el uso de brinzales con valores morfométricos por debajo de los recomendados por la normativa española sobre calidad cabal y comercial del material vegetal empleado en repoblaciones (BOE 153, 27 de junio de 1998). Además, se debe tener en cuenta que las plantas de pequeño tamaño eran, además, deficientes en N y P, por lo que cabría esperar que el éxito de implantación fuera, a igualdad de tamaño y corregidas estas deficiencias. Estos resultados sugieren que las normas legales antes mencionadas deberían ser revisadas para ajustarlas a las necesidades de ambientes semiáridos. Esta modificación, sin embargo, no está libre de polémica, porque abriría la puerta a la aprobación de partidas de calidad deficiente. Para evitarlo, debería ir acompañada de una mayor rigurosidad en la evaluación de otros indicadores de calidad.

Por otra parte, la relativa diversidad de las relaciones entre tamaño de la parte aérea de los brinzales y supervivencia, supone incertidumbre en las predicciones y sugiere la necesidad de explorar el uso de otras características morfológicas y funcionales para calificar la calidad de planta. Tal como se comenta más adelante, rasgos relacionados con la capacidad para resistir el estrés múltiple (resultado de la combinación de escasez de agua y nutrientes, y exceso de radiación), y para desarrollar con rapidez un sistema radicular capaz de mantener hidratada la planta en los meses de estío (ambos atributos de respuesta), serían deseables en brinzales destinados a zonas semiáridas.

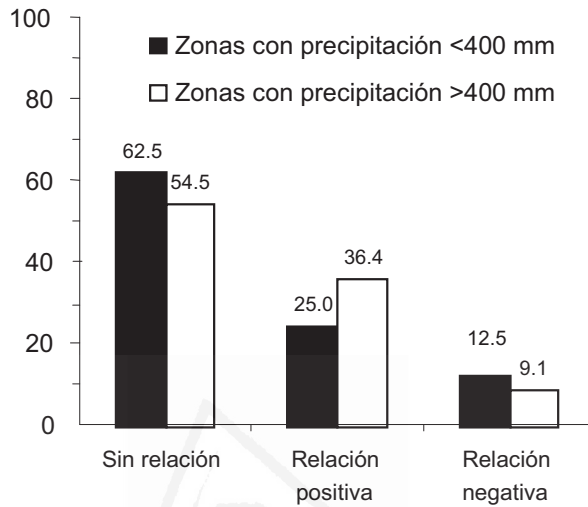


Figura 5. Porcentaje de casos en los que la relación supervivencia de las plantas y el tamaño de la parte aérea no fue significativa (Sin relación), o si la relación fue significativa, la tendencia fue positiva o bien negativa. Los porcentajes están separados por el ombroclima de las parcelas. El número total de casos examinados es de 30 (Navarro *et al.*, 2006).

Universidad de Alicante

Referencias

- Ågren, G.I. 1988. Nutrient uptake and allocation at steady-state nutrition. *Physiological Plantarum* 72: 450-459.
- Aerts, R., Chapin III, F.S. 2000. The mineral nutrition of wild plants revisited: A re-evaluation of processes and patterns. *Advance Ecological Restoration* 30: 1-67.
- Balaguer, L., Martínez-Ferri, E., Valladares, F., Castillo, F.J., Manrique, E. 2001. Population divergence in the plasticity of the response of *Quercus coccifera* to the light environment. *Functional Ecology* 15: 124-135.
- Barber, S. 1995. Soil nutrient bioavailability: A mechanism approach. J Wiley and Sons, NY.
- Bates, T.R., Lynch, J.P. 1996. Stimulation of root hair elongation in *Arabidopsis thaliana* by low phosphorus availability. *Plant, Cell Environment* 19: 529-538.
- Birchler, T., Rose, R., Rose, A., Pardos, M. 1998. La planta ideal: revisión del concepto parámetros definitorios e implantación práctica. *Investigación agraria: Sistemas y Recursos Forestales*. 7: 109-121.
- Borch, K., Bouma, T.J., Lynch, J.P., Brown, K.M. 1999. Ethylene: a regulator of root architectural responses to soil phosphorus availability. *Plant, Cell Environment* 22: 425-431
- Burdett, A.N. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal Forest Research* 20: 415-427.
- Canadell, J., Zedler, P.H. 1995. Underground structures of woody plants in Mediterranean ecosystems of Australia, California and Chile. In: Fox M, Kalin M, Zedler PH (eds) *Ecology and Biogeography of Mediterranean Ecosystems in Chile, California and Australia*. Springer-Verlag, Berlin, pp 177-210.
- Castro-Díez, P., Villar-Salvador, P., Pérez-Rontomé, C., Maestro-Martínez, M., Montserrat-Martí, G. 1997. Leaf morphology and leaf chemical composition in three *Quercus* (Fagaceae) species along a rainfall gradient in NE Spain. *Trees* 11: 127-134.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Hernández., Vallejo, V.R. 2008. Effects of the use of deep container on morpho-functional characteristics of *Quercus suber* L. seedling for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology Management* 256: 779-785.
- Clarkson, D.T., Carvajal, M., Henzler, T., Waterhouse, R.N., Smyth, A.J., Cooke, D.T., Steudle, E. 2000. Root hydraulic conductance: Diurnal aquaporin expression and the effects of nutrient stress. *Journal Experimental Botany* 51: 61-70.

- Colombo, S.J. 2001. How to improve the quality of broadleaved seedlings produced in tree nurseries. In Nursery production and stand establishment of broadleaves to promote sustainable forest management. L. Ciccarese (ed.), Rome, Italia.
- Corcuera, L., Camarero, J.J., Gil-Pelegrín, E. 2002. Functional groups in *Quercus* species derived from the analysis of pressure-volume curves. *Trees* 16: 465-472.
- Cortina, J., Valdecantos, A., Seva J.P., Vilagrosa, A., Bellot J, Vallejo, V.R. 1997. Relación tamaños supervivencia en plántones de especies arbustivas mediterráneas producidos in vivero. *Actas del II Congreso Forestal Español. Mesa 3*. Pamplona, Gobierno de Navarra, pp. 159–164.
- Del Campo, A.D. 2002. Régimen de cultivo, desarrollo in vivero, calidad de planta y respuesta al establecimiento in cuatro especies de frondosas mediterráneas. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, 310 pp.
- Dinkelaker B, Hengeler C, Marschner H. 1995. Distribution and function of proteoid roots and other root clusters. *Botanica Acta* 108: 183–200.
- Doussan, C., Pagès, L., Vercambre, G. 1998. Modelling of the hydraulic architecture of root systems: an integrated approach to water absorption- distribution of axial and radial conductances in maize. *Annals Botany* 81: 225-232.
- Drouet, J-L., Pagès, L. 2007. GRAAL-CN: a model of Growth, Architecture and Allocation for Carbon and Nitrogen dynamics within whole plants formalized at the organ level. *Ecological Modelling* 206: 231-249.
- Dunbabin, V.M., Diggle, A.J., Rengel, Z., van Hugten, R. 2002. Modelling the interactions between water and nutrient uptake and root growth. *Plant Soil* 239: 19-38.
- Ewers B.E., Oren, R. Sperry J.S. 2000. Influence of nutrient versus water supply on hydraulic architecture and water balance in *Pinus taeda*. *Plant Cell Environment* 23: 1055–10.
- Fahn, A. 1985. Anatomía Vegetal. Madrid, Ediciones Pirámide
- Fenner, M. 1983. Relationships between seed weight, Ash content and seedling growth in twenty- four species of compositae. *New Phytologist* 95: 697- 706.
- Fernández, M., Pardos, J.A. 1995. Variación estacional de la actividad radical en procedencias de *Pinus pinaster* Ait. *Silva Lusitana* 3: 131-143.
- Fitter, A. H., Hay, R. K. M. 1981. *Environmental Physiology of Plants*. Academic Press, London.
- Fitter, A.H., Stickland, T.R., Harvey, M.L., Wilson, G.W., 1991. Architectural analysis of plant root systems. I. Architectural correlates of exploitation efficiency. *New Phytologist* 118: 375-382.
- Fitter, A.H., Stickland, T.R. 1991. Architectural analysis of plant root-systems. II. Influence of nutrient supply on architecture in contrasting plant species. *New Phytologist* 118: 383-389.

- Fitter, A.H., Williamson, L., Linkohr, B., Leyser, O. 2002. Root system architecture determines fitness in an *Arabidopsis* mutant in competition for immobile phosphate ions but not for nitrate ions. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B* 269: 2017–2022.
- Folk, R.S., Grossnickle, S.C. 1997. Determining field performance potential with the use of limiting environmental conditions. *New Forests* 13: 121-138.
- Fuentes, D., Disante, K.B., Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R. 2007a. Sensitivity of Mediterranean woody seedlings to copper nickel and zinc. *Chemosphere* 66: 412-420.
- Fuentes, D., Valdecantos, A., Cortina, J., Vallejo, V.R. 2007b. Seedling performance in a sewage sludge-amended degraded Mediterranean woodlands. *Ecological Engineering* 31: 281-291.
- Ge, Z., Rubio, G., Lynch J. 2000. The importance of root gravitropism for interroot competition and phosphorus acquisition efficiency: results from a geometric simulation model. *Plant Soil*. 218, 159-171.
- Gerwitz, A., Page, E.R. 1974. An empirical mathematical model to describe plant root systems. *Journal Applied Ecology* 11: 773-781.
- Gil-Pelegrín, E., Aranda, I., Peguero-Pina, J.J., Vilagrosa, A. 2005. El continuo suelo-planta-atmósfera como un modelo integrador de la ecofisiología forestal. *Investigaciones Agrarias: Sistemas Recursos Forestales* 13: 358-370.
- Godin, C., Sinoquet, H. 2005. Functional-structural plant modeling. *New Phytologist* 166: 705-708.
- Gratani, L., Bombelli, A. 2001. Differences in leaf traits among Mediterranean broad-leaved evergreen shrubs. *Annales Botanici Fennici* 38: 15–24.
- Grime, J.P., Campbell, B.D., Mackey, J.M.L., Crick, J.C. 1991. Root plasticity, nitrogen capture and competitive ability. In: Atkinson D, ed. *Plant root growth: an ecological perspective*. Oxford, UK: Blackwell Scientific Publications, 381–397.
- Grossnickle, S.C. 2005. Importance of root growth in overcoming planting stress. *New Forests* 30: 273-294.
- Grossnickle, S.C. 2000. *Ecophysiology of Northern Spruce Species: The performance of Planted Seedlings*. NCR Research Press, Ottawa, Ontario, Canada. 409 p.
- Hackett, C., Rose, D. 1972. A model of the extension and branching of a seminal root of barley, and its use in studying relations between root dimensions. 1. The model. *Australian Journal Biological Science* 25:669-679.
- Harvey, H.P., van den Driessche, R. 1999. Nitrogen and potassium effects on xylem cavitation and water use-efficiency in poplars. *Tree Physiology* 19: 943-950.
- Harvey, H.P., van den Driessche, R. 1997. Nutrition, xylem cavitation and drought resistance in hybrid poplar. *Tree Physiology* 17: 647– 654.
- Hernández, E.I, Vilagrosa, A., Luis, V.C., Llorca, M., Chirino, E., Vallejo, R.V., 2009. Root hydraulic conductance, gas exchange and water potential in seedlings of

- Pistacia lentiscus* L. and *Quercus suber* L. under different conditions of fertilization and light radiation. *Environmental Experimental Botany* 67: 267-276.
- Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review Plant Physiology* 24: 519-570.
- Hutchings MJ, De Kroon H. 1994. Foraging in plants: the role of morphological plasticity in resource acquisition. *Advances in Ecological Research* 25: 159–238.
- Ingestad, T., Agren, G.I. 1991. The influence of plant nutrition on biomass allocation. *Ecological Applications* 1: 168-174.
- Jackson, R.B., Sperry, J.D., Dawson, T.E. 2000. Root water uptake and transport: using physiological processes in global predictions. *Trends in Plant Science* 5: 482-488.
- Joffre, R., Rambal, S., Ratte, J.P. 1999 The dehesa system of southern Spain and Portugal as a natural ecosystem mimic. *Agroforestry Systems* 45: 57–79.
- Johnson J.D., Cline, M.L. 1991. Seedling quality of southern pines. In *Forest regeneration manual*. Mary L. Duryea and Philip M. Dougherty (eds.). Kluwer Academic Publishers.
- Jourdan, C., Rey, H. 1997. Modelling and simulation of the architecture and development of the oil-palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) root system. *Plant Soil* 190: 217-233.
- Jurado, E., Westoby, M. 1992. Seedling growth in relation to seed size among species of arid Australia. *Journal Ecology* 80: 407-416
- Kutschera, L., Lichtenegger, E. 1992. *Wurzelatlas mitteleuropäischer Grünlandpflanzen*. Bd.2: Pteridophyta und Dicotyledoneae (Magnoliopsida). Teil 1: Morphologie, Anatomie, Ökologie, Verbreitung, Soziologie, Wirtschaft. G. Fischer, Stuttgart, New York
- Larigauderie, A., Richards, J.H. 1994. Root proliferation characteristics of seven perennial arid-land grasses in nutrient-enriched microsites. *Oecologia* 99: 102-111.
- Liao, H., Rubio, G., Yan, X., Cao, A., Brown, K.M., Lynch, J.P. 2001. Effect of phosphorus availability on basal root shallowness in common vean. *Plant Soil*. 232: 69-79.
- Linder, S., Benson, M.L., Myers, B.J., Raison, R.J. 1987. Canopy dynamics and growth of *Pinus radiata*. Effects of irrigation and fertilization during a drought. *Canadian Journal Forest Research* 17: 1157- 1165.
- Linder, S., Rook, D.A. 1984. Effects of mineral nutrition on carbon dioxide exchange and partitioning of carbon in trees. In *Nutrition of Plantation Forests*. Eds. G.D. Bowen and E.K.S. Nambiar. Academic Press, London, pp 212--236.
- Lo Gullo, M.A., Nardini, A., Salleo, S., Tyree, M.T. 1998. Changes in tooy hydraulic conductance (K_R) of *Olea oleaster* seedlings following drought stress and irrigation. *New phytologist* 140: 25- 31.

- López-Bucio, J.L., Abreu, E.H., Calderón, L.S., Jacobo, M.F., Simpson, J., Estrella, L.H. 2002. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the Arabidopsis root system. *Plant Physiology* 129: 244-256.
- López-Bucio, J., Cruz-Ramírez, A., Herrera-Estrella, L. 2003. The role of nutrient availability in regulating root architecture. *Current Opinion Plant Biology* 6: 280–287.
- Luis, V.C., Climent, J., Peters, J., Pérez, R., Puértolas, J., Morales, D., Jiménez, M.S., Gil, L. 2003. Evaluación de la calidad de plántulas de *Pinus canariensis* cultivadas con diferentes métodos en la supervivencia y crecimiento en campo. *Cuadernos de la Sociedad de Ciencias Forestales*. 17: 63-67.
- Luis, V.C., Peters, J., González-Rodríguez, A.M., Jiménez, M.S., Morales, D. 2004. Testing nursery plant quality of Canary Island pine seedlings grown under different cultivation methods. *Phyton Annales Rei Boticanae* 44: 231-244.
- Luis, V.C., Puértolas, J., Climent, J., Peters, J., González-Rodríguez, Á.M., Morales, D., Jiménez, M.S. 2009. Nursery fertilization enhances survival and physiological status in Canary Island pine (*Pinus canariensis*) seedlings planted in semiarid environment. *European Journal Forest Research* 128: 221-229.
- Lynch, J.P. 2011. Root phenes for enhanced soil exploration and phosphorus acquisition: tools for future crops. *Plant Physiology* 156: 1041-1049.
- Lynch, J.P., Brown, K.M. 1997. Ethylene and plant responses to nutritional stress. *Physiologia Plantarum* 100: 613-619.
- Lynch, J.P, Ho, M.D. 2005. Rhizoeconomics: carbon costs of phosphorus acquisition. *Plant Soil* 269: 45–56.
- Mamolos, A.P., Elisseou, G.K., Veresoglou, D.S. 1995. Depth of root activity of coexisting grassland species in relation to N and p additions, measured using nonradioactive tracers. *Journal Ecology* 83: 643-652.
- Mattson, A. 1997. Predicting field performance using seedling quality assessment. *New Forests* 13:227-252.
- McDowell, N.G. 2011. Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant Physiology* 155: 1051–1059.
- McKay, H.M. 1999. Root electrolyte leakage and root growth potential as indicators of spruce and larch establishment. *Silva Fennica* 32: 241-252.
- Mediavilla, S., Escudero, A. 2003. Stomatal responses to drought at a Mediterranean site: A comparative study of co-occurring woody species differing in leaf longevity. *Tree Physiology* 23: 987-996.
- Mexal, J.G., Landis, T.D. 1990. Target seedlings concepts: height and diameter. En: Rose, R. (Eds.). *Target seedling symposium: Proceedings, combined meeting of the western forest nursery associations*. Roseburg, OR. GTR: RM-200. USDA Forest Service, pp. 17-34.

- Mooney, H.A. and W.E. Winner. 1991. Partitioning response of plants to stress. *In* Response of Plants to Multiple Stresses. Eds. H.A. Mooney, W.E. Winner, and E.J. Pell. Academic Press, San Diego, pp 129--141.
- Navarro, R.M, Gálvez, C.; Contreras, V.; del Campo, A. 1998. Protocolo para la caracterización del cultivo de plantas forestales en contenedor. Ministerio de Agricultura, Consejería de Agricultura y Pesca, E.T.S.I. Agrónomos y de Montes, Córdoba. 78 pp
- Navarro, R.M., Villar-Salvador, P., del Campo, A., 2006. Morfología y establecimiento de los plantones, in: Cortina J. et al. (Eds.), Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, pp. 67–88.
- North, G.B., Ewers, F.W., Nobel, P.S. 1992. Main-root lateral root junctions of two desert succulents: changes in axial and radial components of hydraulic conductivity during drying. *American Journal Botany* 79: 1039-1050.
- North G.B., Nobel P.S. 1992. Drought-induced changes in hydraulic conductivity and structure in roots of *Ferocactu sacanthodes* and *Opuntia ficus-indica*. *New Phytologist* 120: 9–19.
- Zou, C., Penfold, C., Sands, R., Misra, R.K., Hudson, I. 2001. Effects of soil air-filled porosity, soil matric potential and soil strength on primary root growth of radiate pine seedlings. *Plant Soil* 236: 105-115.
- Oliet, J., Planelles, R., Artero, F., Jacobs, D.F. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology Management* 215: 339–351
- Oliet, J.A., Planelles, R., López, M., and Artero, F. 1997. Efecto de la fertilización en vivero sobre la supervivencia en plantación de *Pinus halepensis*. *Cuadernos de la SECF* 4: 69-79.
- Oliet, J., Planelles, R., Valverde, R., Artero, F. 2005a. Resultados de 7 años de plantación de *Pinus halepensis* en medio semiárido en respuesta a la fertilización en vivero. *Actas IV Congreso Forestal Español*. Mesa 2.
- Oliet, J., Planelles, R., Valverde, R., Artero, F. 2005b. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management* 215: 339-351.
- Oliet, J., Valdecantos, A., Puértolas, J., Trubat, R. 2006. Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones, in: Cortina J. et al. (Eds.), Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, pp. 89-118.

- Olsen, J.K., Bell, L.C. 1990. A Glasshouse Evaluation of 'critical' N and P Concentrations and N:P Ratios in Various Plant Parts of Six Eucalypt Species. *Australian Journal Botany* 38: 281-298.
- Padilla, F.M., Pugnaire, F.I. 2007. Rooting depth and soil moisture control Mediterranean woody seedling survival during drought. *Functional Ecology* 21: 489-495.
- Passioura, J.B. 1988. Response to Dr P.J. Kramer's article, 'Changing concepts regarding plant water relations'. *Plant Cell Environment* 11: 569-571.
- Pemán, J., Ribelles, M., Navarro, C.M. 2000. Repoblaciones forestales: Análisis del marco legal. Universidad de Lérida. Lérida. 300 pp.
- Pereira, J.S., Linder, S., Araújo, M.C., Pereira, H., Ericsson, T., Borralho, N., Leal, L.C. 1989. Optimization of biomass production in *Eucalyptus globulus* plantations: a case study. P. 101-121. In Pereira, J.S. and J.J. Landsberg, eds. Biomass production by fast growing trees. Kluwer, Dordrecht and Boston.
- Poorter, H., Nagel, O. 2000. The role of biomass allocation in the growth response of plants to different levels of light, CO₂, nutrients and water: A quantitative review. *Functional Plant Biology* 27: 595-607.
- Porter, J.R., Klepper, B., Belford, R.K. 1986. A model (WHTROOT) which synchronizes root growth and development with shoot development. *Plant Soil* 92: 133-145.
- Pratt, R.B., Jacobsen, A.L., Golgotiu, K.A., Sperry, J.S., Ewers, F.W., Davis, S.D. 2007. Life history type and water stress tolerance in nine California chaparral species (Rhamnaceae). *Ecological Monographs* 77: 239-253.
- Puértolas J. 2003. Efecto del riego y la fertilización nitrogenada sobre la calidad de planta de *Pinus halepensis* Mill. y su comportamiento en campo. Tesis doctoral inédita. Universidad Politécnica de Madrid.
- Quintero, J.M., Fournier, J.M., Ramos, J., Benloch, M. 1998. K⁺ status and ABA affect both exudation rate and hydraulic conductivity in sunflower roots. *Physiologia Plantarum* 102: 279-284.
- Radin, J.W., Matthews, M.A. 1989. Water transport properties of cortical cells in roots of nitrogen-and phosphorus-deficient cotton seedlings. *Plant Physiology* 89: 264-268.
- Rieger, M. 1995. Offsetting effects of reduced root hydraulic conductivity and osmotic adjustment following drought. *Tree Physiology* 15: 379-385.
- Ritchie, G.A. 1985. Root Growth Potential: principles, procedures, and predictive ability. In M. Duryea(ed.), *Evaluating Seedling Quality. Principles, Procedures and Predictive Abilities of Major Test*. Forest Research Lab. Oregon State University, Corvallis, USA, pp. 49-57.
- Ritchie, G.A. 1984. Assessing seedling quality. In M. Duryea, M.L. y Landis, T.D. 1989. *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. The Hague:

- MartinusNijhoff/Dr. W. Junk publishers, for Forest Research Lab. Oregon State University, Corvallis, USA, pp. 242-259.
- Robertson, M.J., Fukai, S., Hammer, G.L., Ludlow, M.M. 1993. Modelling root growth of grain sorghum using the CERES approach. *Field Crops Research*. 33:113-130.
- Rose, R., Gleason, J.F., Atkinson, M. 1993. Morphological and water- stress characteristics of three Douglas- fir stocktypes in relation to seedling performance under different soil moisture conditions. *New Forests* 7: 1-17.
- Royo, A.; Fernández, M.; Gil, L.; González, E.; Puelles, A.; Ruano, R., Pardos, J. 1997. La calidad de la planta de vivero de *Pinus halepensis* Mill. destinada a repoblación forestal. Tres años de resultados en la comunidad valenciana. *Montes* 50: 29-39.
- Rubio, G., Zhu, J., Lynch, J.P. 2003. A critical test of the two prevailing theories of plant response to nutrient availability. *American Journal Botany* 90:143–152.
- Rubio, G., Walk, T., Ge, Z., Yan, X., Liao, H., Lynch, J.P. 2001. Root gravitropism and belowground competition among neighboring plants: a modeling approach. *Annals Botany* 88: 929-940.
- Schubert, R. 1991. Root research in natural ecosystem. Pp. 344-349. In: Mc. Michael & H. Persson (eds.). *Plant roots and their environment*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers.
- Seva. J.P., Valdecantos, A., Vilagrosa, A., Cortina, J., Bellot, J. 2000. Seedling morphology and survival in some Mediterranean tree shrub species, in: Balabanis, P., Peter, D., Ghazi A., Tsogas, M. (Eds.), *Mediterranean Desertification. Research results and policy implications*. EC Report EUR 19303. Brussels, pp. 397-406.
- Simpson, D.G., Ritchie, G.A., 1997. Does RGP predict field performance? A debate. *New Forests* 13: 253–277.
- South, D.B., Smith, C.T., 2000. Harvest treatments and fertilizer application affect transplanting stress index of *Pinus radiata*. *New Zeland Journal Forest Science* 30: 308-314.
- Squire, R.O., Attiwill, P.M., Neales, T.F. 1987. Effects of changes of available water nutrients on growth, root development and water use in *Pinus radiata* seedlings. *Australian Forest Research* 17: 99-111.
- Stedle, E. 2000. Water uptake by roots: effects of water deficit. *Journal Experimental Botany* 51: 1531-1542.
- Tan, W., Hogan, G.D. 1995. Effects of nitrogen limitation on water relations of jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) seedlings. *Plant Cell Environment* 18: 757-764.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2006. Plant morphology and root hydraulics are altered by nutrient deficiency in *Pistacia lentiscus* (L.). *Tress* 20: 334-339.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2008. Short-term nitrogen deprivation increases field performance in nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal Arid Environments* 72: 879-890.

- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2010. Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber*L. *Journal Arid Environments* 74: 491-497.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2011. Nutrient deprivation improves field performance of woody seedlings in a degraded semi-arid shrubland. *Ecological Engineering* 37: 1164-1173.
- Trubat, R., Cortina, J., Vilagrosa, A. 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Cuadernos de la S.E.C.F.* 17: 245-251.
- Tuttle, C.L., South, D.B., Golden, M.S., Meldahl, R.S. 1988. Initial *Pinus taeda* seedling height relationships with early survival and growth. *Canadian Journal Forest Research* 18: 867-871.
- Tyree M.T., Zimmermann M.H. 2002. *Xylem Structure and the Ascent of Sap*. Springer, Berlin, Germany.
- Valladares, F., Martínez-Ferri, E., Balaguer, L., Perez-Corona, E., Manrique, E. 2002. Plasticity, instability and canalization: is the phenotypic variation in seedlings of sclerophyll oaks consistent with the environmental unpredictability of Mediterranean ecosystems?. *New Phytologist* 156: 457-467.
- Valladares, F., Wright, S.J., Lasso, E., Kitajima, K., Pearcy, R.W. 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rainforest. *Ecology* 81: 1925-1936.
- Villar-Salvador, P. 2003. Importancia de la calidad de la planta en los proyectos de revegetación. in: *Restauración de Ecosistemas en Ambientes Mediterráneos*. Rey-Benayas, J. M., Espigares Pinilla, T. and Nicolau Ibarra, J. M. (Eds.), Universidad de Alcalá/Asociación Española de Ecología Terrestre, pp. 65-86.
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Enrique, E., Peñuela-Rubira, J. 2004. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes and field performance relationship in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *Forest Ecology Management* 196: 257–26.
- Villar-Salvador, P., Peñuelas, J.L., Carrasco, I. 2000. Plantas grandes y mejor nutridas de *Pinus pinea*L. tienen mejor desarrollo en campo. 1er Simposio de Pino Piñonero(*Pinus pinea*L.). I. (Ed.). Junta de Castilla y León, Valladolid, pp. 219-227.
- Van de Dijk, S.J., Lanting, L., Lambers, H., Posthumus, F., Stulen, I., Hofstra, R. 2006. Kinetics of nitrate uptake by different species from nutrient-rich and nutrient-poor habitats as affected by the nutrient supply. *Physiologia Plantarum* 2: 103-110.
- Vilagrosa, A., Bellot, J., Vallejo, R., Gil-Pelegrín, E. 2003. Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during and intense drought. *Journal Experimental Botany* 54: 2015-2024.
- Vilagrosa, A., Villar-Salvador, P., and Puértolas, J. 2006. El endurecimiento en vivero de especies forestales mediterráneas In Cortina J. *et al.* (Eds.), *Calidad de planta*

- forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos, O.A.P.N. Ministerio Medio Ambiente, Madrid, pp.119-141.
- Wu, G.L., Chen, M., Zhou, X.H., Wang, Y., Du, G. 2006. Response of morphological plasticity of three herbaceous seedlings to light and nutrition in the Qing -hai Tibetan plateau. *Asian Journal Plant Science* 5: 635-642.
- van den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium treatments. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 740-749.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the Ascent of Sap. Springer-verlag, Berlin, Germany; New York, USA.
- Williamson, L.C., Ribrioux, S.P.C.P., Fitter, A.H., Leyser, H.M.O. 2001. Phosphate availability regulates root system architecture in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 126: 875-882.
- Whitehead, D. 1998. Regulation of stomatal conductance and transpiration in forest canopies. *Tree Physiology* 18:633-644.

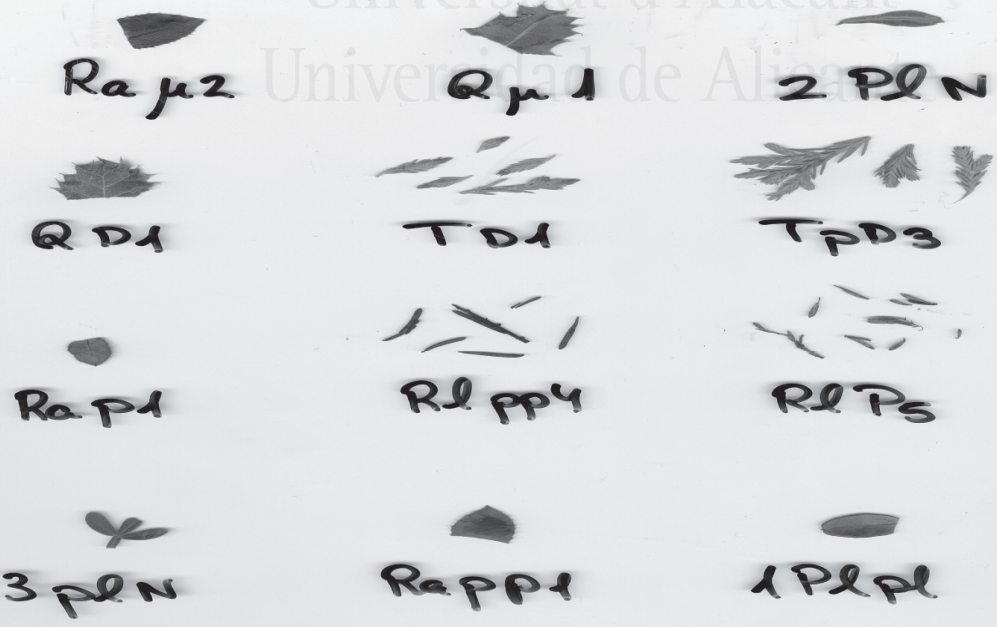


Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Conclusiones y consideraciones finales



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Conclusiones

- El régimen nutricional aplicado durante el periodo de cultivo en vivero mostró un alto potencial para manipular las características morfológicas y funcionales de los brinzales.
- El endurecimiento nutricional provocó una modificación de los rasgos morfológicos de los brinzales, principalmente tamaño y área foliar, factores que desempeñan un papel crucial en el ahorro del agua, y que probablemente contribuyeron a reducir la mortalidad de los brinzales en ambiente semiárido. Cabe destacar que estas modificaciones compensaron el efecto deletéreo de la deficiencia nutricional sobre los brinzales.
- En ambiente seco, ni el tamaño inicial ni el crecimiento potencial de raíces determinaron la respuesta del alcornoque a condiciones de campo de los brinzales. Otros factores deben estar condicionando la respuesta de esta especie bajo estas condiciones climáticas.
- En zonas con fuertes restricciones hídricas es esencial un rápido enraizamiento para el establecimiento en campo. El crecimiento potencial de raíces (RGP) ha sido utilizado para predecir la capacidad de establecimiento de brinzales. Con frecuencia esta variable se correlacionó positivamente con la altura de los brinzales. Por el contrario, mostró una correlación negativa con el establecimiento en campo. Esta variable se mostró, por lo tanto, como un buen indicador del estado del brinzal, pero pobre indicador del resultado de la plantación en medio semiárido.
- El déficit nutricional durante el periodo de vivero promuevió el desarrollo de rasgos morfo y fisiológicos en diversas especies, mejorando su supervivencia en campo a corto plazo. Las cinco especies estudiadas en ambiente semiárido mostraron una relación negativa entre la altura y la supervivencia, esta relación se pudo modelar mediante regresiones logísticas. Nuestros resultados ponen de manifiesto la necesidad de refinar el

concepto de brinjal de calidad en tierras secas, y explorar las interacciones entre la calidad del brinjal y las condiciones del sitio.

- La mayoría de especies respondieron, en términos de morfología, de manera similar a los diferentes regímenes de fertilización, aunque la magnitud de la respuesta fue contrastada. Las especies que mostraron mayor respuesta fueron *Rhamnus alaternus* y *Pistacia lentiscus*. La especie menos plástica fue *Quercus coccifera*.
- Las manipulaciones del régimen nutricional supusieron cambios en la capacidad de transporte de agua por el sistema radical. La disminución de la capacidad de conducción de agua del sistema radicular por unidad de superficie puede tener importantes implicaciones en el balance de agua en la planta que junto con la disminución del área foliar, puede significar, en ambientes con fuertes restricciones hídricas, una mejora en el uso del agua.
- Las variaciones en el régimen nutricional supusieron un cambio en la morfología y la topología del sistema radical de *Pistacia lentiscus*. Especialmente, la supresión de fósforo tuvo como resultado un aumento muy significativo de la superficie y longitud radicular de los brinzales de esta especie. Este aumento no se tradujo en un aumento de la conductividad hidráulica específica radicular, pero puede suponer un incremento del volumen de suelo explorado.
- La capacidad de transporte de agua por el sistema radical se ha relacionado con la topología, especialmente con el número de ramificaciones, pero no otros rasgos del sistema radical. Esta observación pone de manifiesto la importancia de este rasgo como determinante de la función radical.

Consideraciones adicionales

1. Las características morfológicas y fisiológicas que deben definir una planta de calidad deberían variar según el objetivo final de la repoblación. Existe actualmente una tendencia a modificar al alza los valores inferiores de los rangos de altura y diámetro considerados en la legislación de la calidad morfológica. Es necesario profundizar en el estudio de las características morfológicas, especialmente en el tamaño, y si fuera necesario modificar los rangos morfométricos considerados en la legislación.
2. A tenor de los resultados obtenidos, se hace notoria la necesidad de establecer programas de fertilización característicos de cada especie, encaminados a la mejora de la calidad de la planta producida en vivero, teniendo en cuenta el lugar de plantación.
3. Es necesario centrar futuros estudios en desarrollar técnicas que permitan una mejora de la producción de la planta producida en contenedor. Sería recomendable que se incorporasen tratamientos de endurecimiento nutricional en la fase final del cultivo, así como obtener la información necesaria para elaborar recomendaciones sobre la intensidad y duración del endurecimiento nutricional y sobre recarga nutricional.
4. Uno de los aspectos menos tratados, en relación con la calidad de planta forestal, es la morfología y, sobre todo, la arquitectura del sistema radicular. Hasta el momento se dispone de una reducida bibliografía sobre aspectos morfofisiológicos del sistema radicular, y más específicamente sobre aspectos de la arquitectura radicular y su capacidad de obtener recursos del suelo en especies mediterráneas. Todo

ello, pese al papel crucial que juega el sistema radicular en la definición de calidad de planta forestal.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

APÉNDICE I



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Manipulación de las dimensiones de los contenedores forestales y su aplicación a la restauración

Roman Trubat¹, Jordi Cortina¹, Alberto Vilagrosa²

1 Depto. de Ecología. U. de Alicante. Ap. 99 03080 Alicante

2 CEAM. Depto. de Ecología. U. de Alicante. Ap. 99 03080 Alicante

Resumen

Dentro de la producción de planta forestal en vivero, el contenedor constituye uno de los principales elementos para alcanzar un desarrollo óptimo. Diversos estudios han mostrado que el diseño del contenedor condiciona diversas variables morfológicas y funcionales de las planta, y puede afectar su comportamiento en el campo. Sin embargo, la mayoría de estudios consisten en comparaciones entre contenedores comerciales, en los que varían simultáneamente materiales, formas y dimensiones. Estas comparaciones dificultan la obtención de conclusiones extrapolables. En este trabajo hemos construido contenedores a partir de un mismo modelo (Superleach®), variando sistemáticamente el diámetro de boca y la altura (3 niveles en cada caso), obteniendo 9 volúmenes de contenedor diferentes. Después de una estación de crecimiento, valoramos el efecto de los tratamientos sobre la morfología, vitalidad (potencial de crecimiento de raíces) y supervivencia en el campo de plantones de *Pistacia lentiscus* introducidos en una zona semiárida degradada. La biomasa de los plantones incrementó con la profundidad, y especialmente con la anchura de los contenedores. No observamos una relación positiva entre el tamaño y la supervivencia de los plantones en el campo tras el shock de plantación o al cabo de un año. Las dimensiones medias (e.g., cercanas a 47 mm de boca, 19 cm de profundidad y 330 cm³ de volumen) proporcionaron los mejores resultados de campo a corto plazo.

Palabras clave: contenedor forestal, calidad planta, *Pistacia lentiscus*, shock de transplante, potencial crecimiento de raíces

1. Introducción

En los últimos años se ha diseñado una gran variedad de contenedores forestales. Esta diversificación ha ido acompañada de su incorporación gradual en la gestión viverística, la influencia del contenedor en la calidad final de la planta ha sido objeto de numerosos estudios, existe un cierto acuerdo en que los contenedores de mayores dimensiones suelen proporcionar mejores plantas (Landis, 1984; Pardos y Moreno, 1997; Peñuelas, 2000). En plantaciones bajo condiciones particularmente limitantes (zona semiárida, terrenos intensamente degradados), la incertidumbre de los resultados y el coste que supone la reposición de marras, fácilmente justificarían el uso de contenedores más caros si su eficacia estuviera justificada. La normativa de la Conselleria de Medio Ambiente de la Generalitat Valenciana establece un volumen de 150-300 cm³ para resinosas de 1 savia, 225-350 cm³ para resinosas de 2 savias, 200-400 cm³ para frondosas de una savia, y 350-550 cm³ para frondosas de dos savias.

Existen numerosos estudios sobre el efecto de diferentes tipos de contenedores sobre la morfología de brinzales y su comportamiento en el campo (Romero et al., 1986; Bainbridge, 1994; Domínguez Lerena et al., 2000). Sin embargo, la mayoría de éstos se centran en la comparativa entre contenedores que difieren en diversos parámetros simultáneamente (dimensión de la boca, profundidad, morfología, materiales), de manera que se hace difícil identificar qué características de los contenedores son más relevantes. Por otra parte, a partir de la comparativa entre modelos comerciales resulta difícil extrapolar los resultados a otros modelos no contemplados en el diseño experimental original.

La utilización de diferentes tipos de contenedores permitiría manipular las características morfo-funcionales de los plantones destinados a la repoblación en medios semiáridos. Estas modificaciones podrían mejorar el éxito de las repoblaciones. Para

indagar en estos aspectos, planteamos una serie de experimentos que tienen como objetivo principal definir las dimensiones óptimas de los contenedores para la producción de especies leñosas de interés para la restauración de medios semiáridos. Para desarrollar este objetivo hemos llevado un experimento, utilizando *Pistacia lentiscus*, una especie arbustiva ampliamente empleada para la restauración de medios semiáridos.

2. Materiales y métodos

La experiencia se llevó a cabo en los viveros de la Conselleria de Medio Ambiente de la Generalitat Valenciana de Santa Faç (Alicante), con exposición directa al sol. La temperatura media de la estación meteorológica más cercana (Alicante, Ciudad Jardín) es de 17.8 °C y la precipitación media de 335 mm. Seleccionamos una marca comercial de contenedor que incluyera un amplio rango de dimensiones, especialmente anchuras de boca (Super-Leach®). Éstos son contenedores suspendidos plásticos de color verde, troncocónicos, con costillas laterales de ca. 1 mm, y base abierta, para permitir el repicado aéreo. A partir de 3 modelos diferentes, manipulamos la altura de los contenedores de manera que al final obtuviéramos 3 alturas, 3 anchuras y 9 volúmenes distintos (Tabla 1). Rellenamos los contenedores forestales con una mezcla de turba rubia encalada y no fertilizada, y fibra de coco (1:1, v:v).

Tabla 1: Dimensiones de los 9 tipos de contenedores (M1 a M9) resultantes de manipular contenedores del tipo Super-Leach utilizados en el primer experimento.

OS	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
altura boca (mm)	35	35	35	47	47	47	56	56	56
anchura boca (mm)	14	19	24	14	19	24	14	19	24
vol. (cm ³)	135	183	230	243	330	416	345	468	590

Al final del período de vivero (otoño de 2002) realizamos un análisis morfológico de 10 brinzales por tratamiento (90 brinzales en total). En esta fecha estimamos la vitalidad de los brinzales (Crecimiento Potencial de Raíces), mediante el conteo de las nuevas raíces surgidas del cepellón durante 28 días en condiciones óptimas de humedad y nutrición (vermiculita fertirrigada). En febrero del 2002, realizamos una plantación de 30 individuos por tratamiento en una parcela experimental en ambiente semiárido (Albatera, Alicante), mediante ahoyado de 40 cm de profundidad efectuado por retroexcavadora montada en tractor araña, a una densidad de plantación de 1000 pies ha⁻¹. En abril de 2003 y enero de 2004 evaluamos la supervivencia, altura y diámetro del cuello de la raíz de los brinzales.

3. Resultados

Observamos un efecto significativo y positivo del tamaño de los contenedores sobre la morfología de los brinzales (Tabla 2). Los brinzales respondieron más intensamente a variaciones de la anchura del contenedor que a variaciones de la profundidad del mismo. Los brinzales más grandes (contenedor de mayores dimensiones, M9) fueron casi cinco veces mayores que los cultivados en contenedores de 14 cm de profundidad y 35 mm de diámetro de boca. Los resultados del análisis de la varianza para evaluar el efecto de dos factores aleatorios (diámetro de la boca del contenedor y profundidad del mismo) sobre la acumulación de biomasa aérea de los brinzales mostró un efecto significativo de ambos factores y ausencia de interacciones entre ambos (datos no mostrados). La proporción biomasa subterránea: biomasa aérea no se vio afectada por los cambios en la profundidad del contenedor.

A los dos meses de la plantación, lo que podríamos considerar como shock de transplante, la supervivencia de los brinzales osciló entre 56 y 81% (Tabla 3). Los brinzales de mayor tamaño mostraron tendencia a presentar mayores mortalidades.

La supervivencia al cabo de un año en el campo osciló entre 38 y 73%. Obtuvimos una relación significativa entre el diámetro del contenedor y la supervivencia a los 12 meses ($R^2= 0.74$) sugiriendo que los diámetros de boca intermedios, dentro del rango evaluado (i.e. cercanos a 50 mm) ofrecerían resultados superiores al resto.

4. *Discusión*

Las características de diseño de los contenedores inciden en el tamaño de las plantas, en la relación entre sus diferentes partes, y en consecuencia el resultado de las plantaciones. Un incremento de las dimensiones de los contenedores afecta positivamente a las dimensiones de los brinzales de *Pistacia lentiscus* (Tabla 1), resultados similares obtienen diversos trabajos de otros autores (Pardos y Moreno, 1997; Peñuelas, 2000). Dentro del concepto de tamaño del contenedor las variables que se tienen más en cuenta son el volumen, cuanto más grande es el envase mayor es la planta que se puede producir (Marcelli y Piotto, 1993; Peñuelas y Ocaña, 2000), y la altura, una alta profundidad unida a una sección estrecha puede ocasionar malos resultados por una falta de aeración en las raíces (Marien y Drowin, 1978). Otro parámetro no tan estudiado es el diámetro de boca. El diámetro de la boca del contenedor, y por lo tanto el volumen, parece tener un mayor efecto que la profundidad del contenedor. Los resultados sugieren que, dentro de las dimensiones evaluadas, el diámetro y el mayor cambio en volumen que lleva asociado, tendrían un efecto superior sobre las dimensiones finales del brinzal que la profundidad del contenedor.

El efecto de las manipulaciones en los contenedores sobre el comportamiento en el campo de los brinzales es bastante significativo (Tabla 3), aunque las respuestas no parecen lineales. Al cabo de un año, las dimensiones medias de contenedor parecieron mostrar los niveles de supervivencia mayor, siendo máximo el del tratamiento M5 (47 mm de boca, 19 cm de profundidad de contenedor y 330 cm³ de volumen), que mostraba tamaños

intermedios y el tratamiento M4 (47 mm de boca, 14 cm de profundidad y 243 cm³ de volumen). Dentro del rango de contenedores intermedios (M4, M5 y M6) el de mayor volumen (M6) mostró un número de marras superior a los de los otros dos tipos de contenedores (Tabla 3), a pesar de mostrar una mayor biomasa radical y una biomasa aérea parecida. Quizás el factor determinante entre este tipo de contenedores fue la altura de la planta que aumentó en el tratamiento M6.

Los diámetros de boca intermedios, dentro del rango evaluado (i.e. cercanos a 50 mm) son los que ofrecieron un resultado superior al resto. La supervivencia tras el shock postrasplante y al año de la plantación en los contenedores de rango intermedio (M4 y M5) osciló entre el 71 y el 80% tras los dos primeros meses, y entre el 64 y 73% al año. La relación entre el diámetro del contenedor y la supervivencia al año de la plantación ($R^2= 0.74$) indicando que los diámetros de boca intermedios ofrecen resultados superiores al resto, tanto en supervivencia como en biomasa radical: biomasa total y en área específica foliar. Los brizales respondieron más intensamente a variaciones de la anchura del contenedor que a variaciones de la profundidad del mismo. La proporción biomasa subterránea: biomasa aérea no se vio afectada por los cambios en la profundidad del contenedor, pero disminuyó con el incremento de la anchura.

5. Agradecimientos.

A Felipe Gil y al personal de Sta Faç por su ayuda y cedernos el espacio para realizar este estudio. A Carlos Martínez (Servicios Territoriales de la Conselleria de Territorio y Vivienda) y a Luciano Esparcia (VAERSA) por las plantaciones realizadas en Albaterra. Agradecemos la financiación obtenida de la Generalitat Valenciana (Convenio de investigación con la Fundación CEAM). La Fundación CEAM está financiada por la Generalitat Valenciana y Bancaza.

6. Bibliografía

- Argillier, C., Falconnet, G., Gruez, J. 1991. Production de plants forestiers. Guide technique du forestier méditerranéen français. CEMAGREF. Aix-en-Provence.
- Bainbridge, D.A. 1994. Container optimization-field data support container innovation. In LANDIS T.D. DUMROESE R.K. (tech. coords.) National Proceedings. Forest and Conservation Nursery Associations. Gen. Tech. Rep. RM-257. FT. COLLINS. CO, USA. 99-104.
- Domínguez Lerena, S. 2000. Influencia de distintos tipos de contenedores en el desarrollo en el campo de *Pinus halepensis* y *Quercus ilex*. Actas de reunión de coordinación I+D CEAM.
- Landis, T.D., 1989. The container tree nursery manual. Vol. 4: Seedling nutrition and irrigation. USDA FS.
- Marcelli, A.R., Piotto, B. 1993. Recientes estudios sobre la cría de eucaliptos en Italia. Congreso Forestal Español. Tomo III.
- Marien, J.N., Drovin, J. 1978. Études sur les conteneurs a parois rigides. Annales des recherches sylvicoles. AFOCEL.
- Montoya, J.M., Cámara M.ªc. 1996. La planta y el vivero forestal. Mundiprensa. Madrid. 127 pp.
- Peñuelas, J.L. 2000. Calidad de la planta forestal. Calidad genética, biológica, morfológica y fisiológica. Normas de calidad. Control. In 'Estrategias de restauración forestal en la Región Mediterránea'. IAMZ. Zaragoza.

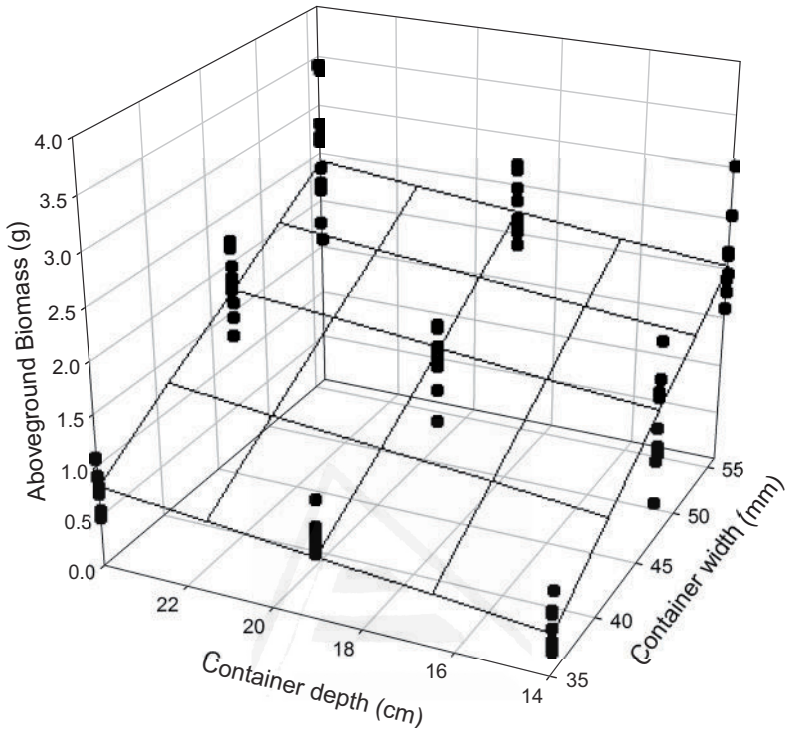
- Peñuelas, J.L., Ocaña, B. 2000. Cultivo de plantas en contenedor. Mundi-prensa. Madrid.
- Romero, A.E., Ryder, J., Fisher, J.T., Mexal J.G. 1986. Rooting system modification of container stock for arid land planting. Forest Ecology Management 16: 281-290.



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Tabla 2: Morfología de brinzales de *Pistacia lentiscus* creciendo en vivero en 9 tipos de contenedores forestales diferentes. Para cada variable se muestra la media de N=10 brinzales y el error típico de ésta. Las siglas corresponden a: Biomasa aérea:biomasa subterránea (BA:BR), diámetro del cuello de la raíz (DCR), biomasa radical/biomasa total (BR:BT), área específica radicular (AEF) y crecimiento potencial de raíces (CPR).

	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8	M9
Biomasa foliar (g)	0.3±0.	0.5±0.	0.5±0.	0.9±0.	1.1±0.	1.1±0.	1.3±0.	1.5±0.	1.7±0.
	504	906	705	411	707	208	708	709	207
	0.3±0.	0.6±0.	0.7±0.	0.8±0.	0.9±0.	1.3±0.	0.7±0.	1.0±0.	1.2±0.
B. Raíces (g)	503	303	108	208	111	321	904	208	111
	1.3±0.	1.2±0.	1.3±0.	1.5±0.	1.9±0.	1.3±0.	2.2±0.	2.2±0.	2.0±0.
BA:BS	811	709	225	819	833	726	911	523	214
Área foliar (cm)	9.4±1.	15.±0.	21.±1.	30.±3.	42.±3.	34.±2.	44.±2.	60.±3.	48.±1.
	907	488	571	892	273	776	545	771	994
	10.±0.	±0.	±0.	10.±0.	12.±0.	13.±0.	14.±0.	17.±0.	16.±0.
Altura (cm)	869	8.356	9.221	929	331	451	137	228	531
	2.9±0.	2.5±0.	2.8±0.	3.9±0.	4.4±0.	3.7±0.	4.9±0.	4.9±0.	4.4±0.
DCR (mm)	114	511	608	625	115	917	326	326	921
	12.±0.	17.±1.	22.±1.	19.±1.	21.±1.	20.±1.	23.±2.	25.±2.	27.±1.
Nº hojas	389	811	144	924	225	833	606	604	991
	0.7±0.	0.8±0.	1.0±0.	0.7±0.	0.6±0.	0.9±0.	0.4±0.	0.4±0.	0.5±0.
BR:BT (g g⁻¹)	707	104	111	411	115	515	402	804	204
	30.±3.	26.±2.	38.±1.	32.±1.	35.±1.	31.±1.	32.±1.	39.±1.	28.±1.
AEF (cm² g⁻¹)	176	843	147	717	552	361	978	193	727
	29.±2.	17.±0.	19.±1.	±1.	26.±2.	16.±0.	16.±0.	32.±2.	32.±2.
CPR	913	954	536	1864	523	298	274	806	906



Universitat d'Alacant

Figura 1: Acumulación de biomasa aérea en brinzales de *Pistacia lentiscus* de una savia, en función de la altura y diámetro de boca de contenedores del tipo Superleach modificados. La malla corresponde a la regresión lineal $BA = -2.82 + 0.077(0.004) \cdot \text{DIAM} + 0.039(0.009) \cdot \text{ALT}$ ($R^2 = 0.795$; $N = 90$), donde BA=biomasa aérea, DIAM: diámetro boca contenedor y ALT: altura contenedor (errores de los parámetros entre paréntesis)

APÉNDICE II



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

Tabla 1: Real Decreto 289/2003, de 7 de marzo, sobre comercialización de los materiales forestales de reproducción. Requisitos aplicables a las plantas comercializadas para el consumidor final en regiones de clima mediterráneo.

Especies	Edad máxima (savias)	Altura mínima/ cm (1)	Altura máxima/ cm (1)	Diámetro mínimo en el cuello/ mm
<i>Abies pinsapo</i> (2)	-	-	-	-
<i>Pinus canariensis</i>	1	10	25	2
	2	15	35	3
<i>Pinus halepensis</i>	1	10	25	2
	2	15	40	3
<i>Pinus pinaster</i>	1	10	30	2
	2	15	45	3
<i>Pinus pinea</i>	1	10	30	3
	2	15	40	4
<i>Pinus uncinata</i>	1	4	-	2
	2	6	-	2
	3	8	-	2
<i>Quercus faginea</i>	1	6	30	2
	2	10	50	3
<i>Quercus ilex</i>	1	8	30	2
	2	15	50	3
<i>Quercus pyrenaica</i>	1	6	30	2
	2	10	50	3
	1	15	60	3
<i>Quercus suber</i>				

Tabla 2: Directiva 1999/105/CE del consejo de 22 de diciembre de 1999 sobre la comercialización de materiales forestales de reproducción. Requisitos aplicables a las plantas comercializadas para el consumidor final en regiones de clima mediterráneo. Dimensiones de las plantas.

Especies	Edad máxima (savias)	Altura mínima/ cm (1)	Altura máxima/ cm (1)	Diámetro mínimo en el cuello/ mm
<i>Pinus halepensis</i>	1	8	25	2
	2	12	40	3
<i>Pinus leucodermis</i>	1	8	25	2
	2	10	35	3
<i>Pinus nigra</i>	1	8	15	2
	2	10	20	3
<i>Pinus pinaster</i>	1	7	30	2
	2	15	45	3
	1	10	30	3
<i>Pinus pinea</i>	2	15	40	4
	1	8	30	2
<i>Quercus ilex</i>	2	15	50	3
	1	13	60	3
<i>Quercus suber</i>				

Universitat d'Alacant
 Universidad de Alicante

Tabla 3: Rangos de variación sugeridos de algunos parámetros morfológicos en especies mediterráneas cultivadas en contenedor en los que el desarrollo de la plantación puede ser el adecuado.

Especies	Edad máxima (savias)	Altura mínima/cm (1)	Altura máxima/cm (1)	Diámetro mínimo en el cuello/mm
<i>Pinus halepensis</i>	1	15	30	3-4
<i>Pinus pinea</i>	1	20	30	3.5-4.5
<i>Pinus canariensis</i>	1	15	30	-
<i>Pinus pinaster</i>	-	-	-	-
<i>Abies pinsapo</i>	2-3	8	9	3-5
<i>Quercus ilex</i>	1	20	30	4-5
<i>Ceratonia siliqua</i>	1-2	6	10	2-3
<i>Olea europea</i>	1	30	50	4-5
<i>Quercus coccifera</i>	1	>20	-	>4
<i>Pistacia lentiscus</i>	1	15	30	3-5
<i>Lavandula stoechas</i>	1-2	25	50	2-47

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la fecha acordó otorgar, por _____ a la Tesis
Doctoral de Don/Dña. _____ la calificación de _____.

Alicante de de

El Secretario,

El Presidente,

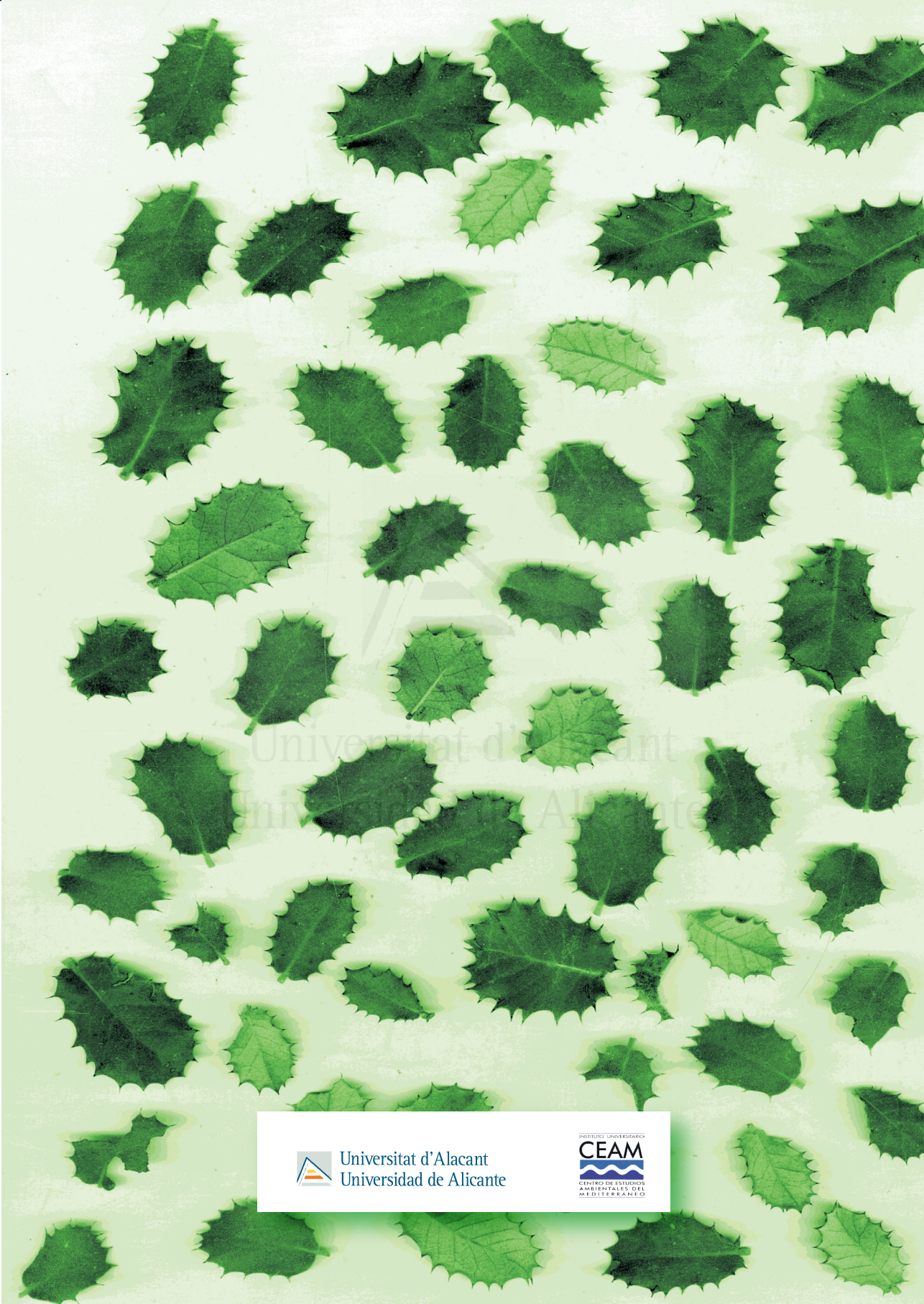


UNIVERSIDAD DE ALICANTE
CEDIP

La presente Tesis de D. _____ ha sido
registrada con el nº _____ del registro de entrada correspondiente.

Alicante ___ de _____ de _____

El Encargado del Registro,



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

INSTITUTO UNIVERSITARIO



CENTRO DE ESTUDIOS
AMBIENTALES DEL
MEDITERRANEO