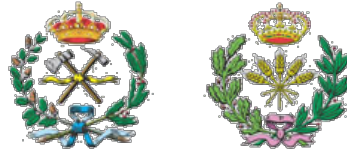


UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA



Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes
Departamento de Ingeniería Forestal

INFLUENCIA DE LA FECHA DE PLANTACIÓN, LA PREPARACIÓN DEL TERRENO Y LA CALIDAD DE PLANTA EN REPOBLACIONES FORESTALES DE PINO PIÑONERO (*Pinus pinea* L.) Y ENCINA (*Quercus ilex* L.) EN ÁMBITO MEDITERRÁNEO

Memoria presentada por

Guillermo Palacios Rodríguez

para optar al grado de **Doctor por la Universidad de Córdoba**

Los directores de la tesis,

Rafael M^a Navarro Cerrillo
Profesor Titular
Universidad de Córdoba

Antonio D. del Campo García
Profesor Titular
Universidad Politécnica de Valencia

Guillermo Palacios Rodríguez
Córdoba, 2015

TITULO: *Influencia de la fecha de plantación, la preparación del terreno y la calidad de planta en repoblaciones forestales de pino piñonero (Pinus pinea L.) y encina (Quercus ilex L.) en ámbito mediterráneo.*

AUTOR: *Guillermo Palacios Rodríguez*

© Edita: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Córdoba. 2016
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

www.uco.es/publicaciones
publicaciones@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: Influencia de la fecha de plantación, la preparación del terreno y la calidad de planta en repoblaciones forestales de pino piñonero (*Pinus pinea* L.) y encina (*Quercus ilex* L.) en ámbito mediterráneo

DOCTORANDO/A: Guillermo Palacios Rodríguez

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El doctorando presenta y desarrolla en su tesis un trabajo original en el campo de la restauración forestal en ámbitos mediterráneos, centrándose en dos especies de alto interés, como son el pino piñonero (*Pinus pinea* L.) y la encina (*Quercus ilex* L.), y analizando la influencia de varios factores de importancia en proceso restaurador con el establecimiento y desarrollo de las plantaciones.

Los resultados, además de su interés científico, son de aplicación en la planificación y diseño de actuaciones de restauración forestal en zonas mediterráneas, las cuales, en numerosas ocasiones, no cuentan con la información necesaria para garantizar el éxito de las plantaciones. Los resultados obtenidos son, por tanto, transferibles a organismos e instituciones de gestión y ejecución de actividades de repoblación y restauración forestal.

El desarrollo metodológico es correcto y riguroso tanto en su planteamiento teórico como en su desarrollo posterior, lo cual asegura la validez de los resultados obtenidos, y permite su generalización en posteriores trabajos de investigación. En este sentido cabe destacar el diseño experimental (planteado en condiciones reales de campo), la innovación de las técnicas de análisis utilizadas (como es el caso de la regresión logística aplicada al campo forestal), y su aplicación a especies con un elevado interés ambiental y socioeconómico.

El resultado es original en el contexto de la restauración y la ecofisiología forestal, como ha sido reconocido con la publicación de un artículo indexado "Site preparation, stock quality and planting date effect on early establishment of Holm oak (*Quercus ilex* L.) seedlings" (Palacios *et al.*, 2009; Ecological Engineering 35: 38-46).

Como resultado de todo lo anterior consideramos que la tesis objeto de defensa reúne las condiciones formales y científicas para proceder a su presentación.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 27 de noviembre de 2015.

Fdo.: Rafael M^a Navarro Cerrillo

Fdo.: Antonio D. del Campo García

Índice general

Resumen de la tesis.....	1
Thesis Summary	3

Capítulo 1.

Introducción general	6
La calidad de planta forestal.....	12
Los tratamientos de preparación del terreno en repoblaciones forestales.....	16
La fecha de plantación en las repoblaciones forestales.....	17
El análisis de las interacciones entre factores.....	19
El pino piñonero y la encina: especies de gran potencial repoblador	25
Estructura y objetivos de la tesis	28

Capítulo 2.

Site preparation, stock quality and planting date effect on early	32
establishment of Holm oak (<i>Quercus ilex</i> L.) seedlings*	32
Abstract.....	34
2.1. Introduction.....	36
2.2. Materials and methods	38
2.2.1. Site description	38
2.2.2. Seedling assessment	40
2.2.3. Experimental design	41
2.2.4. Plant analysis	42
2.2.5. Data analysis.....	42
2.3. Results	42
2.3.1. Survival analyses	43
2.3.2. Growth analyses.....	46
2.4. Discussion	49
2.5. Conclusions	52
2.6. Acknowledgements.....	53

Capítulo 3.

Establishment of stone pine (<i>Pinus pinea</i> L.) in response to site preparation, stock	54
quality and planting date*	

Abstract.....	56
3.1. Introduction.....	58
3.2. Materials and methods.....	59
3.2.1. Site description.....	59
3.2.2. Experimental design.....	61
3.2.3. Seedling data collection.....	62
3.2.4. Data analysis.....	62
3.3. Results.....	63
3.3.1. Seedling survival.....	63
3.3.2. Growth analyses.....	67
3.4. Discussion.....	72
3.5. Conclusions.....	75
3.6. Acknowledgements.....	76

Capítulo 4.

Root morphology traits response of Stone pine (*Pinus pinea* L.) and Holm oak (*Quercus ilex* L.) to site preparation, seedling quality and planting date..... 78

Abstract.....	80
4.1. Introduction.....	82
4.2. Materials and methods.....	84
4.2.1. Site description.....	84
4.2.2. Experimental design.....	85
4.2.3. Seedling and root collection and analysis.....	88
4.2.4. Field xylem water potential measurements.....	88
4.2.4. Data analysis.....	89
4.3. Results.....	89
4.3.1. Survival analyses.....	89
4.3.2. Root growth analyses.....	94
4.3.3. Water potential analyses.....	98
4.4. Discussion.....	101
4.5. Conclusions.....	107
4.6. Acknowledgements.....	107

Capítulo 5.

Discusión General..... 110

5.1. Introducción.....	112
------------------------	-----

5.2. Respuesta post-trasplante en términos de supervivencia y crecimientos	116
5.3. Desarrollo radicular tras el proceso de plantación	121
5.4. Comportamiento hídrico de las plántulas en su establecimiento.....	126

Capítulo 6.

Conclusiones	132
---------------------------	------------

Referencias bibliográficas.....	136
--	------------

Índice de figuras

Fig. 2.1.- Location of the experimental plot.....	39
Fig. 2.3. Mean survival rate (%) of <i>Quercus ilex</i> seedlings planted in early, mid-season and late plantings over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	43
Fig. 2.4. Height growth rate (cm) of <i>Quercus ilex</i> seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	48
Fig. 2.5. Diameter growth rate (mm) of <i>Quercus ilex</i> seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	48
Fig. 3.1.- Location of the experimental plot.....	60
Fig. 3.2.- Climate conditions for plantation site (Aznalcollar, Spain) during the trial period January–December 2002 (P = 539.6mm; T = 17.28 °C, ETP = 1269.3mm) and January–December 2003 (P = 773.6mm; T = 17.81 °C; ETP = 1308.0 mm).....	60
Fig. 3.3. Mean survival rate (%) of <i>Pinus pinea</i> seedlings planted in early, mid-season and late plantings over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings, after first (a) and second (b) summer after plantation. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	65
Fig. 3.4. Height growth rate (cm) of <i>Pinus pinea</i> seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings, one year (a) and two years (b) after plantation. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	68
Fig. 3.5. Diameter growth rate (mm) of <i>Pinus pinea</i> seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings, one year (a) and two years (b) after plantation. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.....	70
Fig. 4.1.- Soil moisture measurements registered in Mechanical Subsoiling preparation and Manual Holing preparation, measured at 30 cm and 60 cm depth.	87
Fig. 4.2.- Mean survival rate (%) of <i>Quercus ilex</i> (a) and <i>Pinus pinea</i> (b) seedlings planted in early, mid-season and late plantings over manual holing or mechanical subsoiling, using high-quality or low-quality seedlings, after first growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	91
Fig. 4.3.- <i>Quercus ilex</i> root seedlings morphology traits (total root length (RL, cm); surface root area (RSA, cm ²); average root diameter (RAD, cm); total root volume (RV, cm ³), and root tips (NT, uds)) according to planting date, site preparation, and seedling quality after one growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	96
Fig. 4.4.- <i>Pinus pinea</i> root seedlings morphology traits (total root length (RL, cm); surface root area (RSA, cm ²); average root diameter (RAD, cm); total root volume (RV, cm ³), and root tips (NT, uds)) according to planting date, site preparation, and seedling quality after one growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.	97
Fig. 4.5.- <i>Quercus ilex</i> (a) and <i>Pinus pinea</i> (b) seedling water potential (predawn (Ψ_{pd}) and midday (Ψ_m) needle water potential, MPa) according to planting date, site preparation, and seedling quality after one growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.....	99

Índice de tablas

Table 2.1.- Morphologic and physiologic quality attributes of <i>Quercus ilex</i> L. stocks. (mean; N=25 morphology, N=5 nutrient analysis).....	41
Table 2.2.- <i>Quercus ilex</i> seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the site preparation, stock quality, and planting date models two years after planting.	44
Table 2.3. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on relative height and diameter growth rate 2 years after plantations (variables in bold are significant at the 0.05 level).	47
Table 3.1.- Morphologic and physiologic quality attributes of <i>Quercus ilex</i> L. stocks. (mean; N=25 morphology, N=5 nutrient analysis).....	62
Table 3.2.- <i>Pinus pinea</i> seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the site preparation, stock quality, and planting date models one year (a) and two years (b) after plantation.	66
Table 3.3. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on Relative Height Growth Rate one year (a) and two years (b) after plantation. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.	69
Table 3.4. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on Relative Diameter Growth Rate one year (a) and two years (b) after plantation. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.	71
Table 4.1.- Nursery cultivation regime parameters	86
Table 4.2.- Morphologic and physiologic quality attributes of seedling stocks (mean \pm standard error)	86
Table 4.3.- <i>Quercus ilex</i> seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the planting date, site preparation and plant quality models after one growing season.	92
Table 4.4.- <i>Pinus pinea</i> seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the planting date, site preparation and plant quality models after one growing season.	94
Table 4.5.- Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on <i>Quercus ilex</i> seedlings root growth parameters after one growing season. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.	95
Table 4.6.- Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on <i>Pinus pinea</i> seedlings root growth parameters after one growing season. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.	98
Table 4.7. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on <i>Quercus ilex</i> Predawn (a) and Midday (b) Water potential. Variables in bold are significant at the 0.05 level.....	100
Table 4.8. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on <i>Pinus pinea</i> Predawn (a) and Midday (b) Water potential. Variables in bold are significant at the 0.05 level.....	101

Resumen de la tesis

Son múltiples los factores que afectan a la respuesta al establecimiento de las plántulas en una repoblación forestal en ámbito mediterráneo, los cuales, en su conjunto, deben condicionar la calidad de la planta y la técnica repobladora a emplear. Las condiciones ambientales tras la plantación, el manejo realizado de la planta, así como su morfología y fisiología, son considerados como los factores más determinantes para el establecimiento de una repoblación forestal. Entre estos factores que pueden influir en el establecimiento de las repoblaciones forestales en ámbito mediterráneo, este trabajo de investigación ha planteado como objetivo general estudiar el efecto que la fecha de plantación, los tratamientos de preparación del terreno utilizados y la calidad de planta, ejercen en la supervivencia y el desarrollo de las repoblaciones forestales tras su establecimiento. Para ello, se ha analizado la influencia relativa de cada uno de los factores estudiados, controlando el efecto del resto de variables, y estableciendo así la importancia relativa que cada uno de ellos presenta sobre el establecimiento definitivo de plantaciones forestales en ámbito mediterráneo. El estudio se centró en dos especies mediterráneas de alto valor ambiental y socioeconómico, como son la encina (*Quercus ilex* L.) y el pino piñonero (*Pinus pinea* L.).

Para abordar el objetivo general, este trabajo ha planteado una serie de hipótesis a contrastar, centradas en *a)* determinar si los tres factores analizados (fecha de plantación, preparación del terreno y calidad de planta) ejercen la misma influencia en la supervivencia y crecimiento de plantaciones de *Q. ilex* y *P. pinea* realizadas en medio mediterráneo, *b)* analizar si el valor o característica de cada uno de los factores estudiados condiciona la respuesta al establecimiento respecto al resto de factores, existiendo, por tanto, interacciones entre ellos, y *c)* determinar la posible respuesta diferencial en términos de estrategias fisiológicas y morfológicas entre *Q. ilex* y *P. pinea* para la superación del estrés hídrico inicial en repoblaciones forestales mediterráneas.

El ensayo fue realizado en condiciones reales en una repoblación forestal ubicada en el término municipal de Aznalcóllar (Sevilla), estableciendo 3 fechas de plantación (temprana – media – tardía), 2 tratamientos de preparación del terreno (ahoyado manual – subsolado mecánico) y 2 calidades de planta (alta – baja), con una muestra de 1200 plantas por especie estudiada. Para el análisis de los datos se acudió a técnicas estadísticas paramétricas (ANOVA multivariante) y no paramétricas (regresión logística), con objeto de poder analizar las interacciones existentes entre los factores estudiados.

Los resultados de este trabajo han confirmado que la fecha de plantación, los tratamientos de preparación del terreno y la calidad de planta determinan la respuesta al establecimiento de *Q. ilex* y *P. pinea* en repoblaciones realizadas bajo condiciones mediterráneas, si bien es necesaria la consideración de las interacciones existentes entre ellos para analizar cómo estos factores afectan a la supervivencia y al crecimiento de las plántulas. La fecha de plantación es la variable que más influye en el establecimiento de plantaciones de *Q. ilex* y *P. pinea* en medios mediterráneos, siendo las fechas tempranas (noviembre) y medias (enero) las más adecuadas, en tanto

que el suministro hídrico tras la plantación resulta más probable. Las fechas de plantación tardías (marzo) limitan la capacidad de crecimiento radicular tras la plantación, debido a que las plantas disponen de un período vegetativo más corto para el proceso de arraigo, lo que compromete su supervivencia y crecimiento. Las preparaciones del terreno mecanizadas mediante subsolado ofrecen un mayor volumen de suelo a ser explorado por las raíces de la planta, incrementando la disponibilidad de agua tras el establecimiento frente al ahoyado manual, aumentando de este modo las posibilidades de éxito de la repoblación. *Q. ilex* y *P. pinea* han mostrado estrategias diferentes tanto en el desarrollo de su morfología radicular como en el control de sus funciones fisiológicas, arrojando una respuesta diferencial en cuanto al establecimiento. La calidad de planta ha demostrado tener un efecto limitado sobre la supervivencia y el crecimiento de plántulas de *Q. ilex* y *P. pinea* tras su establecimiento, si bien su influencia aumenta al considerar el efecto combinado con la fecha de plantación y el tratamiento de preparación del terreno utilizado.

Un adecuado diseño de los trabajos de repoblación forestal debe tener en cuenta la interacción de los factores que presentan mayor influencia en el éxito de la plantación, dado que una inadecuada elección de uno de ellos (ej. una fecha de plantación inadecuada) puede comprometer el efecto beneficioso del resto de factores (ej. preparación mecanizada del terreno).

Thesis Summary

Many factors affect the seedlings establishment response in Mediterranean reforestations, which, should determine the quality of the plant and the reforestation technique selected. Environmental conditions after planting, plant management and its morphology and physiology, are considered as the most important factors for the establishment of reforestations. Among the factors that may influence the establishment of reforestations in Mediterranean area, this research has raised overall objective to study the effect of planting date, the site preparation treatments and the plant quality have on survival and development of the reforestation after its establishment. The relative influence of each of the factors studied, controlling for the other variables, have been analyzed, establishing the relative importance of each one on the final establishment of Mediterranean reforestations. The study focused on two Mediterranean species with high environmental and socio-economic value, such as Mediterranean holm oak (*Quercus ilex* L.) and stone pine (*Pinus pinea* L.).

To address the overall objective, this work has raised a number of hypotheses to be tested, focused on *a*) determining whether the three factors analyzed (planting date, soil preparation and plant quality) exert the same influence on survival and growth of *Q. ilex* and *P. pinea* plantations conducted in Mediterranean environments, *b*) analyzing whether the value or characteristic of each factor studied conditions the response to the establishment over other factors existing, therefore, interactions between them, *c*) determine the possible differential response in terms of physiological and morphological strategies between *Q. ilex* and *P. pinea* to overcome the initial water stress in Mediterranean afforestation.

The trial was conducted under real conditions in a reforestation located in the municipality of Aznalcóllar (Sevilla), establishing three planting dates (early - mid - late), 2 treatments of soil preparation (manual holing – mechanical subsoiling) and 2 plant qualities (high - low), with a sample of 1,200 plants per each specie tested. Data analysis was attended by parametric (multivariate ANOVA) and nonparametric (logistic regression) statistical techniques in order to be able to analyze the interactions between the factors studied.

Results have confirmed that planting date, soil preparation treatments and plant quality determine the establishment response of *Q. ilex* and *P. pinea* in reforestations conducted under Mediterranean conditions, although consideration of the interactions between them is needed to analyze how these factors affect the survival and growth of seedlings. The planting date is the most influential variable in establishing *Q. ilex* and *P. pinea* plantations in Mediterranean environments, being the most appropriate early dates (November) and mid-dates (January), while the water supply after planting is more likely. Late planting dates (March) limit the ability of root growth after planting, because plants have a shorter growing season for roots development, which compromises their survival and growth. Mechanical soil preparations by subsoiling or ripping provide a greater volume of soil to be explored by the roots of the plant, increasing the availability of water after the establishment facing to manual holing, thereby increasing the chances of success of reforestation. *Q. ilex* and *P. pinea* have

shown different strategies in root morphology development and physiological functions control, throwing a differential response in the establishment. The quality of plant has demonstrated a limited effect on the survival and growth of seedlings of *Q. ilex* and *P. pinea* after its establishment, although its influence increases when considering the combined effect of planting date and soil preparation used.

It can be concluded that a proper design of reforestations should take into account the interaction of the factors that have most influence on the success of the plantation establishment, as an inappropriate choice of one of them (eg. an improper planting date) can compromise the beneficial effect of other factors (eg. mechanical soil preparation).

Capítulo 1

Introducción general

Los bosques tienen un valor inestimable para la vida en la Tierra, cubriendo 1/3 de la superficie terrestre, albergando la mayor parte de la biodiversidad presente en el planeta, y ofreciendo una variada multitud de beneficios socioeconómicos, centrados principalmente en el consumo de los bienes y servicios forestales. De este modo, tanto los recursos maderables como leñas y madera aserrada, como otros productos no leñosos como caza, frutos o plantas medicinales, o los servicios ambientales como la fijación del CO₂ atmosférico o la regulación del ciclo hidrológico, suponen sólo una parte del elenco de bienes y servicios que los bosques proporcionan a la sociedad. Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2014), alrededor de 1.300 millones de personas (el 18% de la población mundial) dependen de los recursos forestales para satisfacer sus necesidades de vivienda, más de 2.400 millones utilizan combustible de madera como energía doméstica para cocinar o producir calor y la recolección de productos forestales comestibles también contribuye a la seguridad alimentaria y proporciona nutrientes esenciales a una enorme proporción de la población, principalmente en países en vías de desarrollo, considerando que más de 1.600 millones de personas dependen de los bosques para subsistir. Además, si bien es difícil de cuantificar, se estima un importante incremento de estas cifras al considerar los beneficiarios indirectos de los servicios ambientales proporcionados por los bosques, cuyos efectos tienen consecuencias a un nivel más global. Entre ellos, la mitigación de los efectos del cambio climático de los bosques como sumideros de carbono y el uso de la biomasa como fuente energética alternativa a los hidrocarburos, así como la conservación de la biodiversidad, son considerados como claves y estratégicos entre los retos ambientales y socioeconómicos a los que se enfrenta actualmente la sociedad.

Según las previsiones actuales, la demanda de bienes y servicios forestales continuará aumentando, lo que requerirá un aumento considerable de la productividad y la eficiencia en el uso de la tierra para proporcionar alimento, vivienda y energía a una población mundial creciente que alcanzará los 9.000 millones de habitantes para 2050 (FAO, 2014). En el caso de Europa, las políticas de fomento de las energías renovables como la *Directiva 2009/28/CE*, que establece como objetivos para 2020 que los países miembros alcancen una cuota del 20% de su consumo energético procedente de este tipo de energías, previsiblemente inducirán un aumento del uso de la madera como fuente energética. Iniciativas similares han sido definidas e implementadas tanto a nivel nacional, través del *Plan de Fomento de las Energías Renovables 2011-2020*, como autonómica, con la *Estrategia Energética de Andalucía 2020*.

Este contexto ofrece oportunidades muy importantes al sector forestal en tanto que el desarrollo sostenible se plantea como una estrategia prioritaria de desarrollo global, basado en un mayor protagonismo de los recursos forestales como fuente energética, como garantía de la seguridad alimentaria, así como una herramienta esencial para la conservación de la biodiversidad y los servicios ambientales necesarios para la sostenibilidad del planeta. No obstante, y según se desprende de las conclusiones del documento de *Evaluación de los Ecosistemas del Milenio (2005)*, “en los últimos 50 años, los seres humanos han transformado los ecosistemas más rápida y extensamente que en ningún otro período de tiempo comparable de la historia humana, en gran parte para resolver rápidamente las demandas crecientes de alimento, agua dulce, madera, fibra y combustible”. De hecho, aunque su ritmo se ha reducido en los últimos años, la tasa de deforestación neta a nivel mundial sigue siendo muy elevada. Ante esta situación, la gestión forestal sostenible se ha presentado como una de las opciones fundamentales para revertir y mitigar esta situación de degradación de la tierra y la deforestación, junto con las actividades de restauración y reforestación que contribuyen a reducir de forma significativa la pérdida de bosques. Como consecuencia, la pérdida neta de superficie forestal se ha reducido de los 8,3 millones de hectáreas al año de la década de 1990, a 5,2 millones entre 2000 y 2010, y 3,4 entre 2010 y 2015 (FAO, 2010; 2015). A pesar de esta mejoría, el aumento de la actividad industrial ha provocado que las emisiones antropógenas de gases de efecto invernadero (GEI) totales hayan aumentado en gran medida de 1970 a 2010, siendo entre 2000 y 2010 las más altas en la historia de la humanidad (IPCC, 2014).

En este sentido, los bosques juegan un papel principal en la mitigación de los efectos del Cambio Climático, y la comunidad internacional ha puesto en marcha diversas estrategias como el programa REDD+ de la Naciones Unidas, dirigido a la reducción de emisiones de carbono derivadas de la deforestación y la degradación forestal. Así, en relación a los posibles efectos totales de mitigación de los efectos del Cambio Climático vinculados a los bosques, se estima que el 50% del total se podría conseguir reduciendo las emisiones causadas por la deforestación, concentrándose el 65% del total de dichos efectos mitigadores potenciales en las regiones de los trópicos (IPCC, 2007).

Fruto de esta concienciación y cooperación internacional, las plantaciones forestales, la restauración del paisaje y la expansión natural de los bosques han reducido notablemente la pérdida neta de área del bosque (FAO, 2014). Estas tendencias de mejoría son especialmente marcadas en determinadas áreas del planeta entre las que se encuentra Europa y,

especialmente España, tercer país europeo con mayor superficie forestal con más de 18,5 millones de hectáreas arboladas, sólo superada por Suecia y Finlandia (SECF, 2009). Además, es el país de Europa con mayor incremento anual de superficie de bosque, a un ritmo medio de 91.050 ha/año para el período 1990-2010, aportando más del 40% del incremento europeo. En relación a los efectos mitigadores, los bosques españoles acumulan alrededor de 87 millones de toneladas de carbono anuales por efecto de su crecimiento, lo que supone que los bosques fijan cada año más del 24% del total de emisiones de España (Montero y Serrada, 2013). Esta situación pone de manifiesto la importancia que la actividad repobladora presenta como herramienta necesaria para la consecución de los objetivos de mitigación del cambio climático y mantenimiento de los ecosistemas forestales, que actualmente la sociedad asume y demanda.

Dentro de esta realidad global, los ecosistemas mediterráneos juegan un papel esencial, tanto en relación a la protección y mantenimiento de la biodiversidad como en el control del avance de la desertificación, caracterizándose al igual que otros ecosistemas semiáridos, por una dinámica lenta y compleja. Pero los ecosistemas mediterráneos son también especialmente proclives a presentar procesos de degradación derivados del uso tradicional del suelo, el particular aprovechamiento de los productos forestales, tanto leñosos como no leñosos, la constante presencia del fuego dentro de la dinámica del monte mediterráneo, así como la fuerte antropización del medio (Llovet, 2006). Cuando la regeneración natural que sigue a una determinada explotación o alteración del medio natural es inadecuada, la repoblación forestal se presenta como la práctica más habitual para la restauración de áreas degradadas dentro de los ecosistemas mediterráneos (Serrada, 1993).

La actividad repobladora en ámbitos mediterráneos ha sido, a lo largo de la historia forestal, una de las pugnas más intensas entre los técnicos forestales y la naturaleza. El medio mediterráneo engloba un cúmulo de factores limitantes a los que la planta ha de enfrentarse desde los primeros momentos de su establecimiento, factores que el repoblador ha de analizar y gestionar en busca de maximizar las garantías de respuesta post-trasplante. De todos los factores ambientales que definen el medio mediterráneo, la existencia de periódicos ciclos de sequía estival, puede considerarse como el más característico y a la vez más limitante de cara al establecimiento de las repoblaciones (Cortina y Vallejo, 1999). No obstante, dentro de la ciencia forestal no existe una técnica específica que se presente como solución definitiva y obligada de cara al establecimiento de las plantas en los procesos de reforestación. El tipo de técnica repobladora a utilizar dependerá de las condiciones del medio en el que se establecerá

la plantación, así como las especies elegidas. Las condiciones naturales del medio cambian en función de lapsos de tiempo que pueden ser desde muy cortos (ej. intensidad lumínica a lo largo del día), hasta muy largos (ej. variables climáticas en función de la estación del año). Cada especie forestal es capaz de soportar un cierto rango de cambios en dichas condiciones ambientales y sus fluctuaciones, ocasionando cambios evolutivos en su respuesta al medio, lo que se conoce como *adaptaciones* (Margolis y Brand, 1990; Caldwell y Pearce, 1994) .

A corto plazo, el propósito de cualquier lote de planta cultivado en vivero y destinado a repoblación es superar satisfactoriamente la fase de establecimiento, y es en base a este objetivo que tanto el ciclo de cultivo, la selección de especies y las técnicas repobladoras deben ser definidas (Mattsson, 1997). En el establecimiento puede distinguirse una fase inicial, especialmente crítica, en la cual la plántula debe recuperarse del posible estrés sufrido durante su manejo, y establecer el contacto entre sus raíces y el suelo que le permita retomar las funciones vitales de absorción de agua y nutrientes en el nuevo ambiente (Caldwell y Pearce, 1994). Esto hace que los factores que afectan al estado hídrico de la planta en el momento del establecimiento tengan una influencia decisiva en la supervivencia inicial (Heiskanen y Rikala, 2000). En una segunda fase, tras el restablecimiento de las funciones fisiológicas de la planta, lo deseable es que ésta exhiba unos patrones de crecimiento y desarrollo adecuados a las condiciones de la estación y a la propia capacidad de la especie. Este desarrollo morfológico cobra especial importancia en climas mediterráneos, donde la planta debe garantizarse el suministro hídrico antes de que llegue el primer verano (Maestre y Cortina, 2004). El mayor o menor éxito en la consecución de estos objetivos es lo que constituye la respuesta en plantación, tradicionalmente cuantificada en términos de supervivencia y crecimiento.

La respuesta al establecimiento se ve afectada por multitud de factores que, en conjunto, son los que deben condicionar la calidad de planta y la técnica restauradora a emplear. Es comúnmente aceptado que estos factores son, en orden de importancia, las condiciones ambientales, el manejo de la planta, su morfología y su fisiología (South, 2000), a lo que habría que añadir los factores genéticos de la planta (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2008). La influencia de estos factores en el establecimiento ha recibido considerable atención de cara a una mejor predicción y/o interpretación de la supervivencia (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a), siendo numerosos los casos que mencionan la predominancia de los factores ambientales y de estación sobre los propios de la calidad de planta (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2014). No obstante, el análisis aislado de cada uno de estos factores no arroja toda la información necesaria para

poder entender el comportamiento post-trasplante de las plantas, ya que el efecto de cada factor parece tener influencia en el resto de factores estudiados, por lo que numerosos autores consideran que la respuesta al establecimiento debe considerar un contexto de posibles interacciones entre ellos (Ketchum y Rose, 2000; Ceacero *et al.* 2012).

La calidad de planta forestal

Durante los últimos cincuenta años, el concepto de calidad de planta ha supuesto un intenso campo de trabajo para investigadores y forestales, si bien es en las últimas dos décadas cuando se han producido los mayores avances, tanto en la mejora de las técnicas de cultivo, como en el desarrollo de test y atributos para medir la calidad de planta y su posible respuesta en campo (Cortina *et al.*, 2013; Tsakaldimi *et al.*, 2013). Así, hoy día se entiende que la calidad de planta es un concepto que debe aludir al conjunto de características morfológicas y fisiológicas que estén cuantitativamente relacionadas con una respuesta satisfactoria en campo (Del Campo *et al.*, 2011). De esta forma, la calidad de planta presenta una doble vertiente complementaria según se considere el interés del viverista o del repoblador (Brichler *et al.*, 1998). El conocimiento de la calidad de planta permite al viverista determinar cómo influye cada práctica de cultivo sobre ella, permitiéndole seleccionar y adecuar estas prácticas a los objetivos de calidad prefijada o solicitada. En cuanto al repoblador, la evaluación de calidad le permite mejorar los resultados de la plantación, ya que podrá determinar con mayor facilidad cuáles han sido las razones del éxito o fracaso, distinguiendo entre aquellos factores asociados a la calidad de la planta y los que sean de un origen distinto. Así, la identificación de los factores de estación más importantes en la respuesta de la planta al establecimiento permitirán ir mejorando y adaptando los criterios de calidad de planta que deben ser controlados en el vivero, solicitando a éste un tipo determinado de planta en función de esas condiciones (Brichler *et al.*, 1998). En este sentido, la calidad de planta entendida como una adecuación al uso al que irá destinada, es decir, la capacidad de una planta para alcanzar unas expectativas de supervivencia y crecimiento en una estación particular, es la definición más aceptada entre los distintos autores (Vilagrosa *et al.*, 2007; del Campo *et al.*, 2007; Oliet *et al.*, 2007). De este modo, podemos decir que la calidad no debe considerarse como un conjunto de atributos prefijados que definen un producto, sino que es un concepto variable con el uso y el usuario ya que se relaciona con el éxito de la plantación, el cual puede depender de múltiples factores (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006c).

Numerosos autores han concluido sus trabajos con una relación positiva entre la calidad de planta y el comportamiento de la planta tras su establecimiento en campo, lo que ha permitido el desarrollo de estándares de calidad morfológicos y/o fisiológicos para las especies y condiciones ecológicas más importantes (Folk y Grossnickle, 1997; Dunsworth, 1997; Kooistra y Brazier, 1999; South, 2000; Menzies *et al.*, 2001; Stape *et al.*, 2001). En España, el establecimiento de programas integrados de mejora de calidad de planta forestal también ha tenido un amplio desarrollo, destacando sobre todo los avances en *Pinus spp.* (Cañellas *et al.*, 1999; del Campo *et al.*, 2007) y en algunas frondosas mediterráneas del género *Quercus* (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Trubat *et al.*, 2010).

En el caso de las dos especies estudiadas en este trabajo (*Pinus pinea* L. y *Quercus ilex* L.), el concepto de calidad de planta entendido en un contexto de uso está significativamente marcado por las limitaciones que impone el medio mediterráneo, lo que exige la producción de un material específicamente resistente (Oliet *et al.*, 2007; Del Campo *et al.*, 2010). Así, la calidad de planta es un aspecto de particular importancia que debe definirse de acuerdo a una morfología y fisiología que permitan a los brinzales una mejor respuesta frente a la aridez, termicidad y degradación extremas características del lugar de establecimiento, a través de su capacidad para superar el estrés de plantación y crecer aprovechando todo el potencial que ofrece una estación particular (Trubat *et al.*, 2010). No obstante, la calidad de la planta al salir del vivero solo está parcialmente correlacionada con la respuesta en campo ya que esta respuesta está muy condicionada por otros aspectos tales como el transporte, la manipulación, las técnicas de plantación y las condiciones del lugar (South, 2000).

La variabilidad del concepto de calidad con el uso y usuario, hace que ésta deba definirse sobre unas características básicas comunes del material vegetal que variarán cualitativa y/o cuantitativamente en función de este uso. Estas características o *atributos de calidad* de planta pueden llegar a ser muy diversos según las especies o lugares de plantación considerados (Burdett, 1990), por lo que es necesaria una clasificación que estructure esta variedad. Ritchie (1984) organizó la evaluación de la calidad de planta en la determinación de dos tipos de atributos: los *materiales* y los de *respuesta*. Los primeros se refieren tanto a características morfológicas como fisiológicas pero todos ellos han de ser directamente medibles. Los atributos de respuesta (también llamados de desarrollo o de comportamiento) miden la respuesta que presenta la totalidad de la planta cuándo ésta es sometida a unas condiciones de ensayo particulares. Actualmente esta clasificación es la más extendida en la

evaluación de la calidad de planta, tanto a nivel nacional (Villar-Salvador *et al.*, 2004; del Campo *et al.*, 2007; Del Campo *et al.*, 2010; Trubat *et al.*, 2010) como internacional (Page-Dumroese *et al.*, 2008; Jackson *et al.*, 2012).

No obstante, si se considera la realidad de los actuales procesos de restauración en medios mediterráneos, a menudo la evaluación de la calidad de planta a utilizar en las repoblaciones forestales se basa únicamente en los atributos morfológicos de fácil, rápida y económica medición, dependiendo la decisión de elegir uno u otro lote de planta, en la mayoría de las ocasiones, de una evaluación visual de los lotes de planta disponibles en los viveros. El número de atributos e índices morfológicos que pueden medirse en una planta constituye una extensa lista que incluye desde los más evidentes (ej. altura) hasta los más complejos de determinar (ej. conductancia estomática). Es, por tanto, de alto interés, determinar cuáles de éstos atributos son apropiados para medir calidad de planta en una determinada especie, estando algunos de ellos muy correlacionados con la respuesta post-trasplante (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006c), por lo que deberían elegirse aquellos que proporcionen más información y sean de medición más sencilla (Johnson y Cline, 1991). La considerable importancia de este grupo de atributos es debida en buena parte a su facilidad de medición (a menudo no destructiva), lo que les ha otorgado un lugar prioritario en muchos estudios, controles y normativas de calidad de planta (South, 2000; Menzies *et al.*, 2001). Sin embargo, este hecho también ha provocado que, con frecuencia, viveristas y repobladores antepongan el aspecto externo de la planta a otros atributos importantes como pueden ser los fisiológicos.

Los atributos morfológicos de calidad de planta más frecuentes son la altura y el diámetro del cuello de la raíz (South *et al.*, 2005; Dumroese *et al.*, 2009; Tsakalidimi *et al.*, 2005, 2013; Sigala *et al.*, 2015), así como los pesos secos de raíz y parte aérea, que presentan información más relacionada con procesos fisiológicos como el área foliar y actividad fotosintética o el contenido de reservas y carbohidratos (Oliet *et al.*, 2007). Los índices o relaciones morfológicas son combinaciones de dos o más medidas de atributos morfológicos. El índice parte aérea/parte radical (PA/PR) es un atributo relacionado con ciertos procesos fisiológicos relacionados con el estado hídrico de la planta, por lo que debe ser tenido en cuenta en la evaluación de la calidad de la misma (Berger y Glatzel, 2001; Villar-Salvador *et al.*, 2004). Este índice puede obtenerse relacionando pesos, volúmenes o superficies, y evalúa el grado de equilibrio existente entre las superficies transpirante y absorbente de la planta (Brichler *et al.*, 1998). La esbeltez es la relación existente entre la altura y el diámetro del

cuello de la raíz de la planta y algunos autores asocian a este índice una capacidad de predicción del crecimiento y la supervivencia de la planta superior a la del diámetro del cuello de la raíz (Oliet *et al.*, 2005). Estos índices vienen a paliar la deficiencia interpretativa que algunos atributos morfológicos poseen al considerarlos de forma individualizada, sobre todo cuando se analiza el equilibrio alcanzado entre el desarrollo de la parte aérea o transpirante y la radical o absorbente (Bernier *et al.*, 1995). El índice de calidad de Dickson (Ritchie, 1984) integra la esbeltez y el PA/PR y se ha empleado con éxito para predecir el comportamiento en campo de varias especies de coníferas (Olivo y Buduba, 2006; del Campo *et al.*, 2007). De este modo, considerando los atributos anteriormente citados desde una óptica meramente viverística, la morfología de la planta es la manifestación de su respuesta fisiológica a las condiciones ambientales del vivero y a las prácticas de cultivo empleadas: fecha de siembra, densidad de cultivo, fertilización, riego y podas aéreas (Mexal y Landis, 1990).

Estas características morfológicas y fisiológicas vienen determinadas por los regímenes de cultivo utilizados en los viveros y pueden determinar de manera importante las características funcionales de las plántulas y su capacidad de respuesta post-trasplante (Villar-Salvador *et al.*, 2004). Dentro de los parámetros de cultivo, la fertilización es una herramienta que determina fuertemente los atributos funcionales de las plantas, habiéndose constatado que la fertilización aumenta la capacidad de crecimiento de nuevas raíces en coníferas, así como la supervivencia y capacidad de crecimiento de las plántulas en plantación (Landis, 1985; Timmer *et al.*, 1991; van den Driessche, 1992). No obstante, otros autores también han reportado efectos negativos de fertilización en vivero de cara a la respuesta de las plántulas tras el establecimiento. De este modo una fertilización con elevados contenidos de N puede reducir la tolerancia a la sequía (Tan y Hogan, 1995), así como la biomasa de la raíz, aumentando el área foliar, y la relación entre la biomasa aérea y la radicular (A/R) (Canham *et al.*, 1996; Graff *et al.*, 1999; Berger y Glatzel, 2001). Por tanto, se puede considerar que plántulas con estas características morfológicas puedan ser más vulnerables al estrés hídrico que aquellas con sistemas radiculares más desarrollados en relación a su parte aérea (Leiva y Fernández-Alés, 1998), habiendo sido encontradas, para las especies mediterráneas, correlaciones negativas entre su relación A/R y el estado hídrico y la supervivencia de las plántulas tras el establecimiento en campo (Lloret *et al.*, 1999).

Resulta pues evidente que la calidad de planta forestal ha sido uno de los factores más ampliamente estudiados de cara a mejorar el comportamiento de las repoblaciones forestales, especialmente en ámbito mediterráneo, pero existe un cúmulo de factores relacionados con el

establecimiento definitivo de la planta en campo que, del mismo modo, deben ser tenidos en cuenta.

Los tratamientos de preparación del terreno en repoblaciones forestales

Las variables relacionadas con las características edáficas de la estación reciben una gran importancia en muchos modelos de potencialidad del terreno siendo relacionadas por diferentes autores con la respuesta inicial en campo (Olarieta *et al.*, 2000; Ceacero *et al.*, 2012). Variables edáficas como el porcentaje de partículas finas (limos finos y arcillas), porcentaje de gravas o la profundidad del suelo pueden afectar al comportamiento de los brinzales introducidos mediante plantación, incluso a partir de variaciones relativamente modestas (Maestre *et al.*, 2003).

La realización de labores de preparación del terreno es un procedimiento habitual previo a la repoblación forestal, destinado a favorecer la supervivencia y el crecimiento de las plántulas introducidas mediante el control de la competencia de la vegetación preexistente (Karlsson, 2002) y la remoción de un determinado volumen de suelo para favorecer el desarrollo inicial de las raíces y la disponibilidad hídrica durante las primeras etapas del establecimiento y desarrollo (Querejeta *et al.*, 2001; Fuentes *et al.*, 2004; Ceacero *et al.*, 2012; Löf *et al.*, 2012). De este modo, el procedimiento de preparación utilizado en la plantación es otra de las variables que influye en la supervivencia de la misma, especialmente en climas mediterráneos (Querejeta *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2001; Maestre y Cortina, 2004). Es en estos ambientes mediterráneos, con un clima caracterizado por una desigual distribución de los períodos de lluvia, un prolongado período de sequía estival y la periodicidad de ciclos de años particularmente secos, donde adquiere especial importancia la función de las preparaciones del terreno utilizadas en las repoblaciones, de forma que mejoren la capacidad de acogida de agua del suelo y maximicen la cantidad de agua puesta a disposición de las plántulas, especialmente en los primeros años de la plantación. Son numerosos los ensayos realizados con el fin de evaluar la efectividad de diferentes tipos de preparación del terreno, con diferentes especies y diversas condiciones ecológicas. Desde los primeros trabajos publicados en nuestro país (Navarro, 1977) hasta la actualidad, los principales métodos de preparación del terreno no han cambiado sustancialmente, a excepción del desarrollo de nueva maquinaria, si bien la investigación relativa ha permitido conocer mejor la adecuación de cada tipo de trabajo a las condiciones del medio. De este modo, y dentro de la gama de métodos de preparación del terreno existentes, el subsolado y el ahoyado, en sus múltiples versiones de

diseño y maquinaria utilizada, son los métodos de preparación más extendidos y empleados (Page-Dumroese *et al.*, 2008; Löf, *et al.*, 2012).

El uso de preparaciones poco intensas, como puedan ser los ahoyados manuales que remueven poco volumen de suelo y por lo tanto proporcionan un escaso volumen útil para la exploración inicial de las raíces, puede obstaculizar el desarrollo de las mismas (Navarro-Cerrillo y Palacios, 2004). El uso de preparaciones del terreno más intensas generalmente ofrece mejores resultados de supervivencia, especialmente al comparar métodos manuales y mecanizados (Querejeta *et al.*, 2001; Karlsson, 2002; Ezell *et al.*, 2004), sin embargo, preparaciones muy intensas como el laboreo agrícola, donde se remueve una elevada superficie de suelo, pueden provocar un elevado aumento de la evaporación de agua del suelo, favoreciendo la rápida desecación del mismo en reducidos intervalos de tiempo (Bocio *et al.*, 2001). Al mismo tiempo, las preparaciones del terreno de cierta intensidad también fomentan la liberación de carbono orgánico en el suelo (McLaughlin *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2016), favoreciendo el desarrollo de las plántulas. La mezcla que se produce entre la capa orgánica superficial y el suelo mineral que se encuentra a cierta profundidad, y la ruptura de los agregados del suelo provocan la creación de condiciones favorables para los microorganismos y un aumento de la tasa de descomposición de la materia orgánica en profundidad (Johansson, 1994; La Scala *et al.*, 2008).

La fecha de plantación en las repoblaciones forestales

Las condiciones climáticas previas a la plantación, así como aquellas inmediatamente posteriores a la misma, son fundamentales de cara a la supervivencia inicial de las plantas (Margolis y Brand, 1990), pero una vez que el primer período de crecimiento vegetativo finaliza, su estado hídrico depende en gran medida de la capacidad de retención de agua del suelo, así como de la capacidad de las plántulas para desarrollar raíces, factores que están relacionados con la preparación del terreno (Querejeta *et al.*, 2001), y la calidad de la planta (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a).

Existe un amplio consenso en afirmar que la evolución de las condiciones climatológicas imperantes tras el establecimiento de la plantación determinará la supervivencia de la misma (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a). Dentro del ambiente mediterráneo la existencia de precipitaciones que aseguren el arraigo inicial de la planta, y un periodo vegetativo suficientemente largo, previo a la llegada del periodo estival seco son los factores

más determinantes de cara al éxito de las plantaciones (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Mollá *et al.*, 2006).

De este modo, otro de los factores que parece tener una alta influencia en el establecimiento inicial de las plantaciones es la fecha de plantación (Royo *et al.*, 2000), si bien los estudios sobre la influencia de esta variable en la respuesta al establecimiento en trabajos de investigación en el ámbito mediterráneo no es tan amplia (Serrada *et al.*, 2005; Cortina *et al.*, 2006; Grossnickle, 2012), a pesar de ser uno de los factores que más determina las condiciones ambientales que afectan a la planta en sus primeros momentos en campo y, por tanto, su supervivencia inicial (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a).

El análisis de la influencia de la fecha de plantación en el establecimiento de las plántulas ha sido estudiado en condiciones boreales (Luoranen *et al.*, 2006). Estos autores determinaron que en las fechas de plantación tardías (junio y julio) se propiciaba una mayor capacidad de crecimiento radicular inicial de las plantas, frente a las plantaciones tempranas (octubre-mayo) en las que las plántulas eran introducidas en campo en estado de “dormancia” vegetativa (Luoranen *et al.*, 2003). La temperatura del suelo fue uno de los factores de mayor influencia en el crecimiento de las raíces determinando, por tanto, en la respuesta al establecimiento (Lopushinsky y Max , 1990; Vapaavuori *et al.*, 1992, Iivonen *et al.*, 1999 y Domisch *et al.*, 2001), pero la sequía no fue considerado un factor relevante para ésta (Helenius *et al.*, 2002). Sin embargo, en condiciones mediterráneas, la sequía estival resulta ser uno de los principales condicionantes en el proceso de establecimiento de la planta en campo, sobre todo durante el primer año tras la plantación (Maestre *et al.*, 2003; Rey y Camacho, 2004; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005, Sánchez-Gómez *et al.*, 2006; Ceaceros *et al.* 2012). Por otra parte, algunos autores consideran que uno de los factores a tener en cuenta para elegir la época de plantación es la altitud a la que se encuentra el vivero respecto a la de la zona de plantación (Royo *et al.*, 2000). De este modo, cuando el vivero está situado a una altitud menor, la reanudación del crecimiento vegetativo en primavera comienza antes que en el monte, pudiendo ser necesario el uso de material vegetal almacenado en frío para mantener el estado de reposo vegetativo (García, 1985; Jenkinson *et al.*, 1993).

Actualmente, la época de plantación en repoblaciones forestales en la España mediterránea abarca desde primeros de noviembre hasta finales de marzo (Royo *et al.*, 2000), un período prolongado en el que pueden aparecer los principales limitantes para el establecimiento de las plántulas, como son períodos de sequía muy prolongados o los daños

por heladas, bien sea por descalces del sistema radicular o por congelamiento de las zonas aéreas (Molla *et al.*, 2006; Heredia *et al.*, 2009).

El análisis de las interacciones entre factores

Dentro de las ciencias forestales, es frecuente el uso de factores o variables denominadas categóricas o cualitativas, es decir, aquellas cuyo resultado es un valor o categoría de entre un conjunto finito de respuestas posibles. En el caso de este trabajo, las variables o factores que se estudiarán para explicar la respuesta post-trasplante pertenecen todas a este tipo de variables categóricas: la *fecha de plantación* (temprana, media, tardía), la *preparación del terreno* (ahoyado, subsolado) y la *calidad de planta* (alta, baja). El estudio de la dependencia-independencia existente entre las diferentes variables categóricas se realizará a través de análisis de la varianza multivariante (MANOVA) en el caso de que la variable dependiente sea numérica y continua (ej. crecimientos aéreo y radicular, potenciales hídricos). Cuando la variable de estudio sea también categórica, como es el caso de la *supervivencia*, que puede adoptar los valores vivo-muerto, se recurrirá a técnicas basadas en la distribución *Chi-Cuadrado* (X^2), como son el análisis de tablas de contingencia y los modelos de regresión logística. Este tipo de análisis se encuadra dentro de las técnicas de la estadística no paramétrica, si bien es frecuente que en la literatura aparezcan separadas de las técnicas no paramétricas, bajo el nombre general de *análisis de variables categóricas* (Hosmer y Lemeshow, 2000; Agresti y Kateri, 2011).

El uso de pruebas MANOVA está considerablemente documentado en la literatura científica en el campo forestal, pero los análisis no paramétricos, y en concreto el uso de la regresión logística no han sido tan ampliamente tratados (Wilson, *et al.* 1996; Dupré y Diekmann, 1998; Packer y Clay, 2000; Moles y Westoby, 2004). Es por ello que se ha considerado realizar una introducción a esta técnica de análisis en este capítulo.

Al trabajar con variables categóricas, los datos suelen organizarse en tablas de doble entrada, llamadas *tablas de contingencia*, en las que cada entrada representa un criterio de clasificación (una variable categórica). Como resultado de esta clasificación, las frecuencias (expresadas en número o en porcentaje de casos) aparecen organizadas en una matriz que contiene información sobre la relación existente entre ambos criterios. En este tipo de tablas habitualmente se desea conocer si existe asociación entre las dos variables, o si por el contrario se pueden considerar independientes. Es decir, se desea confirmar si la proporción de casos para cada categoría de una de las variables es independiente del valor que toma la

otra variable. El razonamiento para contrastar si existe o no asociación entre dos variables cualitativas se basa en calcular cuales serían los valores de frecuencia esperados para cada una de las celdas en el caso de que efectivamente las variables fuesen independientes, y compararlos con los valores realmente observados. Si no existe diferencia significativa entre ambos, no hay razones para dudar de que las variables sean independientes (Everitt, 1992).

Junto con las tablas de contingencia, los procedimientos de análisis generan una serie de estadísticos que permiten contrastar la hipótesis de independencia entre las variables categóricas que la forman, mediante el estadístico conocido como *chi*-cuadrado de Pearson (Pearson, 1911). El estadístico X^2P permite contrastar la hipótesis de independencia en una tabla de contingencia pero no cuantifica la fuerza de asociación existente entre las variables estudiadas. Esto se debe a que su valor depende, no sólo del grado en que los datos se ajustan al modelo de independencia, sino del número de casos de que consta la muestra. Así, con tamaños de muestra muy grandes (en el caso de este trabajo 1200 plantas forman la muestra para cada una de las especies estudiadas), diferencias relativamente pequeñas entre las frecuencias observadas y esperadas pueden dar lugar a valores de X^2P demasiado altos (Pardo y Ruíz, 2002). Por esta razón, para estudiar el grado de asociación existente entre dos variables, se utilizan medidas de asociación que intentan cuantificar el grado de asociación eliminando el efecto del tamaño de la muestra (Ortega y Cayuela, 2002).

El coeficiente de contingencia (CC), es una medida basada en la distribución X^2 e intenta corregir el valor del estadístico X^2P para hacerle tomar un valor entre 0 y 1, minimizando el efecto del tamaño de muestra sobre la cuantificación de la asociación (Pearson, 1913). Un coeficiente de 0 indica independencia, mientras que un coeficiente que alcanza su valor máximo indica asociación perfecta (Pardo y Ruíz, 2002).

El caso más sencillo de tablas de contingencia corresponde a aquella en la que se utilizan sólo dos criterios de clasificación, llamada tabla de contingencia bidimensional. Sin embargo, el estudio de la asociación entre dos variables cualitativas en ocasiones puede ser insuficiente, ya que la presencia de una tercera variable puede modificar las conclusiones respecto a esa asociación, e incluso puede interesar evaluar la influencia de más variables adicionales (Wickens, 2014). Así, la asociación entre dos variables cualitativas puede resultar espuria cuando se consideran los valores de una tercera o de más variables, situación que se conoce como *paradoja de Simpson* (Simpson, 1951). De este modo, y mediante la introducción de lo que se conoce como variables de segmentación, podemos construir tablas

de contingencia multidimensionales, que nos permiten cruzar variables categóricas teniendo en cuenta los niveles o categorías de una o más variables adicionales. Sin embargo, los estadísticos citados anteriormente sólo son válidos para analizar tablas bidimensionales (Pardo y Ruíz, 2002), ya que, aunque las tablas se encuentren segmentadas, estos estadísticos sólo podrán estudiarse entre dos de las variables utilizadas y enfrentadas en la tabla de contingencia.

En este sentido aparecen los conocidos como *modelos log-lineales* (Hosmer y Lemeshow, 2000; Kleinbaum y Klein, 2010) que son procedimientos estadísticos diseñados para estudiar las relaciones de asociación existentes entre una serie de variables, las cuales pueden o no ser variables categóricas. En ocasiones, cuando se estudia la asociación entre variables cualitativas, una de ellas puede considerarse como variable respuesta y las otras como variables o factores explicativos de la respuesta, como ocurre en este trabajo con el caso de la supervivencia. En ese caso, será más interesante el uso de modelos logísticos como la regresión logística, los cuales describen esa dependencia (Agresti y Kateri, 2011).

La regresión logística es una técnica de análisis multivariante, en la que la variable dependiente (o variable respuesta) es una variable dicotómica o politómica y la variable o variables independientes pueden ser cualitativas o cuantitativas, en el cual se modeliza la probabilidad de un suceso como la función logística de una combinación lineal de las variables dependientes (Hosmer y Lemeshow, 2000). De este modo, el objetivo de esta técnica estadística es expresar la probabilidad de que ocurra un hecho como función de ciertas variables que se consideran potencialmente influyentes (Kleinbaum y Klein, 2010). La regresión logística, al igual que otras técnicas estadísticas multivariantes, ofrece la posibilidad de evaluar la influencia de cada una de las variables independientes sobre la variable respuesta y controlar el efecto del resto variables.

El uso de la regresión logística es habitual si la variable respuesta es dicotómica (regresión logística binaria), ya que el modelo logístico permitirá cuantificar la asociación entre las variables mediante los *odds ratio* correspondientes, que se pueden estimar directamente del modelo de regresión logística. Además de la asociación existente entre la variable respuesta y las variables explicativas, el modelo de regresión logística considerará la posible asociación entre las mismas variables explicativas, a través de lo que se conoce como *términos de interacción* (Kleinbaum y Klein, 2010).

Al ser la variable dependiente ($y = \text{supervivencia}$) dicotómica, podrá tomar el valor "0" si el hecho no ocurre (planta muerta) y "1" si el hecho ocurre (planta viva); asignar los valores de esta manera o a la inversa es intrascendente, pero es muy importante tener en cuenta la forma en que se ha hecho llegado el momento de interpretar los resultados (Kleinbaum y Klein, 2010). Las variables independientes (también llamadas *explicativas*) pueden ser de cualquier naturaleza: cualitativas o cuantitativas. La probabilidad de que $y = 1$ se denotará por p . La forma analítica en que la probabilidad objeto de interés se vincula con las variables explicativas es la siguiente (Hosmer y Lemeshow, 2000):

$$p = 1 / [1 + \exp(-\beta_0 - \beta_1 x_1 - \beta_2 x_2 - \dots - \beta_k x_k)]$$

Esta expresión es la que se conoce como función logística, donde \exp denota la función exponencial y $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \dots, \beta_k$ son los parámetros del modelo. Al producir la función exponencial valores mayores que 0 para cualquier argumento, p tomará solo valores entre 0 y 1 (Domínguez y Aldana, 2001).

Los estimadores de los coeficientes β_i se calculan mediante el método de la función de máxima verosimilitud, basado en técnicas de cálculo diferencial, en las que se emplean métodos de cálculo iterativos, hasta que la diferencia con el valor de la función es menor que un valor predeterminado (Álvarez, 1995). El signo de los coeficientes β_i tiene un significado importante. Si los coeficientes son positivos, la variable aumenta la probabilidad del suceso que está siendo estudiado. Por el contrario, si el coeficiente es negativo, la variable en cuestión disminuye la probabilidad de ocurrencia del suceso analizado (Álvarez, 1995).

Interesa saber si existe una dependencia estadísticamente significativa entre las variables, lo que se resolverá mediante la prueba X^2 , y el grado o fuerza de la asociación, estimada a través de las denominadas *medidas de asociación* como son la diferencia de riesgo (DR), el riesgo relativo (RR) y el *odds ratio* (OR). En caso de independencia, DR sería 0, mientras que RR y OR valdrían 1. De entre estas medidas de asociación, la más extendida es el *odds ratio*, definido como el exceso o defecto de ventaja (*odds*), que tienen los individuos expuestos a un determinado factor, de presentar la condición en estudio frente a no presentarla, respecto a la ventaja de los individuos no expuestos al factor de presentar la condición frente a no presentarla (Altman *et al.*, 1998; Davies *et al.*, 1998; Abraia, 2000; Abraia, 2001). Es conveniente que estas estimaciones puntuales se acompañen de su intervalo de confianza, indicando la precisión de la estimación (Martínez *et al.*, 1999; Schiaffino *et al.*, 2003).

El contraste a realizar es $\beta_i = 0$; si no se puede rechazar esta hipótesis indica, salvo problemas de potencia del contraste, que la variable y no depende de la variable explicativa estudiada. A estos contrastes se les denominan *contrastos de Wald* y se distribuyen como una X^2 con 1 grado de libertad (Hosmer y Lemeshow, 2000).

Para analizar los resultados obtenidos en el modelo de regresión logística, es necesario calcular, además de las estimaciones de los coeficientes, sus exponenciales, es decir, los *odds ratio*, así como la *chi-cuadrado* (X^2) o prueba de Wald y su valor p asociado para los contrastes $H_0: \beta_i = 0$. Se calculará también el intervalo de confianza con un nivel de confianza del 95% para el *odds ratio*. Un intervalo de confianza para el exponencial de β_i que contenga al 1 indica que, para ese nivel de confianza, la variable no tiene una influencia significativa en la ocurrencia del suceso y , por el contrario, valores más alejados de éste indican una mayor influencia de la variable (Abbott y Carroll, 1984). En el caso de un modelo de regresión logística múltiple, donde analizamos el efecto de más de una variable independiente sobre la variable respuesta, los coeficientes se estiman y los contrastes de hipótesis se realizan, no sólo sobre cada coeficiente, sino también sobre el modelo completo (Kleinbaum y Klein, 2010).

Para comparar diferentes modelos y elegir el más adecuado se utilizan los denominados *indicadores de bondad de ajuste*, estadísticos que indican la precisión con que un modelo se aproxima a los datos observados (Madala, 1983). A diferencia de la regresión lineal, que dispone del coeficiente de determinación R^2 , en la regresión logística no existe una única medida de ajuste.

Los indicadores de ajuste se basan en el *error de estimación*, definido como la discrepancia entre el valor observado (y) y su estimado (y^*) (Hosmer y Lemeshow, 2000). Esta formulación es similar a la prueba de ANOVA en la regresión lineal. La pregunta podría formarse en los siguientes términos: ¿en cuánto se disminuye el error de estimación cuando se dispone de un modelo? El punto de referencia es un modelo vacío, sin predictores y sólo con la constante ($-2LL_0$). La diferencia entre esta función de máxima verosimilitud calculada al inicio ($-2LL_0$), y al final ($-2LL_1$), que representa la disminución en el error de estimación una vez que se introdujeron todas las variables, sigue una distribución de X^2 . Este estadístico, conocido como *cociente o razón de verosimilitud* (en inglés *likelihood ratio*), se calcula como $G = 2 \sum f \ln (f / F)$, donde f es la frecuencia observada y F la frecuencia esperada según el modelo. Este estadístico se distribuye según una X^2 en la hipótesis de que el modelo es correcto, con grados de libertad que dependen de los parámetros utilizados para ajustar el

modelo (Hosmer y Lemeshow, 2000). Valores elevados de G reflejan un mal ajuste del modelo a los datos, lo que corresponderá a un valor de probabilidad bajo, mientras que una significación asociada a G menor de 0,05 permite rechazar la hipótesis nula de que todos los coeficientes del modelo son igual a 0 (Kleinbaum y Klein, 2010).

Otro indicador de bondad de ajuste utilizado frecuentemente es el correspondiente al test de Hosmer y Lemeshow (Z), que también se distribuye como una χ^2 , si bien en este caso una significación asociada mayor de 0,05 indicará que el modelo es significativo pues alguno de los coeficientes del mismo es distinto de 0 (Hosmer *et al.*, 1997). Se basa en calcular, para cada observación del conjunto de datos, las probabilidades de la variable dependiente que predice el modelo, agruparlas y calcular, a partir de ellas, las frecuencias esperadas para luego compararlas con las observadas mediante la prueba χ^2 (Hosmer y Lemeshow, 2000). Si el ajuste es bueno, un valor alto de la p predicha se asociará (con una frecuencia parecida a la p) con el resultado 1 de la variable binomial. Este índice es útil para evaluar el ajuste global del modelo, especialmente cuando se dispone de muchas variables independientes (Pardo y Ruiz, 2002). Sobre la misma base conceptual en la que se enuncian los anteriores indicadores de bondad de ajuste, se han propuesto medidas análogas al coeficiente de determinación de la regresión lineal. De este modo, las medidas *pseudo* R^2 propuestas Cox y Snell (R^2_{CS}) y Nagelkerke (R^2_N) son generalmente utilizadas (Hosmer y Lemeshow, 2000).

La alternativa de evaluar la bondad del modelo a través de la capacidad predictiva es una estrategia distinta de la anterior. No se considera ahora $(y - y^*)$, sino todos los valores en su conjunto a través de una tabla que relaciona los valores observados de y junto con el grupo estimado de y^* a partir de su probabilidad condicional. De este modo se estima el porcentaje total de predicciones correctas (% P.C.) (Hosmer y Lemeshow, 2000).

Cuando alguna de las variables explicativas de un modelo de regresión logística es de índole nominal de más de 2 categorías (politómicas), es necesario darle un tratamiento especial para incluirla en el modelo. Así, si estamos en presencia de una variable nominal con C categorías, debemos incluirla en el modelo de regresión logística como variable categórica, de manera que a partir de ella se crean $C - 1$ variables dicotómicas llamadas *dummy* o ficticias, que permiten corregir el efecto de la *multiplicatividad* que se asume en los modelos de regresión logística (Schoenfeld, 1982; Álvarez, 1995). Al crear las variables *dummy* se debe precisar con cuál de las categorías de la variable original interesa comparar el resto, será la llamada categoría de referencia. En general, el exponencial del coeficiente correspondiente

a una de las variables *dummy*, estima la magnitud en que varía el riesgo de que ocurra el suceso, comparando esa categoría con la de referencia (Hosmer y Lemeshow, 2000). En este trabajo, y dada la condición de variables categóricas de los factores a estudiar, esto es, la *fecha de plantación* (temprana-media-tardía), *preparación del terreno* (ahoyado-subsolado) y *calidad de planta* (alta-baja), se deberá proceder a codificar dichas variables, transformando estas variables independientes en variables ficticias o *dummy* que permitan analizar el modelo de regresión logística de manera adecuada.

La interacción y la confusión son dos conceptos importantes que se relacionan con la interferencia que una o varias variables pueden realizar en la asociación entre otras. Existe *confusión* cuando la asociación entre dos variables difiere significativamente según que se considere o no, otra variable (variable de confusión). Para contrastar su existencia se requiere comparar los coeficientes de regresión obtenidos en dos modelos diferentes, incluyendo y obviando la posible variable de confusión (Mentes *et al.*, 1999). Por otro lado, existe *interacción* cuando la asociación entre dos variables varía según los diferentes niveles de otra u otras variables. En ocasiones, la influencia de una de las variables sobre la probabilidad de que ocurra el hecho se modifica en función del valor de otra de las variables y es necesario incluir en el modelo una tercera que sea el producto de las anteriores. Estos son los conocidos como *términos de interacción* que pueden incluir dos o más variables (Jaccard, 2001). Comprobar la existencia de interacción entre dos o más variables supone contrastar si el coeficiente del modelo correspondiente al término de interacción es cero (no hay interacción), o distinto de cero (existe interacción) (Hosmer y Lemeshow, 2000). El cambio en el sentido de una asociación entre dos variables (numéricas o cualitativas) cuando se controla el efecto de una tercera variable, se denomina *paradoja de Simpson* (Simpson, 1951), término que ya fue introducido a la hora de analizar las tablas de contingencia segmentadas.

El pino piñonero y la encina: especies de gran potencial repoblador

El pino piñonero (*Pinus pinea* L.) es una especie típicamente mediterránea y como tal se presenta como una de las especies más significativas dentro del panorama forestal español, de un marcado carácter mediterráneo en gran parte de su superficie. Esta especie, además de una gran rusticidad, presenta una diversidad de producción que la convierte en una de las especies forestales más importantes dentro de las que vegetan bajo las duras condiciones del clima mediterráneo. Desde antaño, los pinares de *P. Pinea* se han venido aprovechando para la producción de madera, leña, piñón, pastos, caza y resinas. Pero junto a la producción ha de

destacarse el inseparable carácter protector de los montes mediterráneos, con especial atención al papel que esos pinares han tenido en la fijación y estabilización de dunas y arenales, entre los que Guardamar del Segura en Alicante y Barbate en Cádiz, son algunos de los ejemplos más significativos (DGGMN-CMA, 2004). Hoy en día su principal interés se centra en la producción de piñón para la industria alimentaria, y el aprovechamiento dendroenergético de su madera pero, además, su característico porte aparasolado le hace muy apreciado desde el punto de vista paisajístico y ornamental, usos de gran importancia dentro de la gestión forestal. Por otro lado, en las copas de grandes ejemplares de piñonero, principalmente dentro de los Espacios Naturales Protegidos, suelen anidar a una gran variedad de especies de aves, alguna de ellas amenazadas como el águila imperial, el buitre negro y la cigüeñas negra (Ceballos y Ruiz de la Torre, 1979; Montero y Cañellas, 2000).

La gran frugalidad y facilidad de regeneración de esta especie, son las causas de su amplia distribución. La delimitación de su área natural resulta complicada, también debido en parte a la intensa transformación del territorio en el cual es espontáneo, siendo imposible distinguir, en las zonas donde su distribución está consolidada, entre las masas que históricamente han permanecido allí y las provenientes de algún otro origen secundario. El pino piñonero consta de una amplia distribución marcada por su eminente mediterraneidad, extendiéndose de forma espontánea por los países ribereños del mar Mediterráneo (Ceballos y Ruiz de la Torre, 1979; Montero y Cañellas, 2000). El *P. pinea* frecuentemente se encuentra mezclado con otras especies mediterráneas, como *Quercus suber* L., *Quercus ilex* L. y *Pinus pinaster* Ait., o en pequeñas manchas dispersas (Barranco y Ortuño, 2004), lo que dificulta una estimación precisa de la superficie total ocupada por la especie. No obstante, se estima que en España se localiza más del 50% del total de la superficie ocupada por *P. pinea* a nivel mundial (Montero y Cañellas, 2000), y que de las más de 550.000 hectáreas ocupadas por el *P. pinea* en Europa, más de 400.000 se sitúan en España, donde se encuentran los pinares de mayor extensión y variabilidad ecológica, encontrándose en el resto de la cuenca mediterránea principalmente vinculados a las estaciones costeras (Osvando *et al.*, 2008).

La valoración económica de los pinares de piñonero ha cambiado de manera sustancial en las últimas décadas, al tiempo que lo hacían los usos tradicionales y el papel desempeñado por éste como elemento fundamental de las economías de escala en aquellas poblaciones rurales que carecían de otro tipo de masas forestales (Gordo *et al.*, 1999). De esta forma, los aprovechamientos maderables han pasado a un segundo plano en aquellos pinares netamente productores de piña. No obstante, su papel protector sobre suelos fácilmente erosionables, el

uso dendroenergético de madera o su función mitigadora de los efectos del Cambio Climático como sumidero de CO₂ son, hoy en día, otras importantes funciones de esta especie (Osvando *et al.*, 2008; De Luis *et al.*, 2009). Es por ello que el *P. pinea* ha sido utilizado frecuentemente en las repoblaciones forestales, tanto con objetivos de producción como protectores.

La encina (*Quercus ilex* L.) es una de las frondosas esclerófilas más importante de los ecosistemas mediterráneos, cuya área de distribución se extiende por toda la cuenca mediterránea, principalmente en su vertiente occidental, abarcando sus principales poblaciones desde el suroeste de Francia al norte de Marruecos (Puerta-Piñero *et al.*, 2007). Se trata de una especie de hoja perenne cuyas bellotas se dispersan en el otoño, tanto de forma abiótica como biótica, en este último caso siendo transportadas lejos de encinas adultas y enterradas bajo arbustos o debajo de otras especies de árboles a través de aves y roedores, (Gómez, 2003; Gómez *et al.*, 2003). Las plántulas emergen a finales de la primavera y principios del verano (Gómez, 2004), siendo una especie tolerante a la sombra durante las primeras etapas de su ciclo de vida (Espelta *et al.*, 1995; Retana *et al.*, 1999; Gómez-Aparicio *et al.*, 2005), si bien su tolerancia a la sombra se considera moderada (Niinemets y Valladares, 2006). Se trata de una especie de la sucesión tardía que domina muchos tipos de bosques en la cuenca mediterránea occidental (Retana *et al.*, 1999; Mollá *et al.*, 2006).

El uso de *Q. ilex* en los programas de reforestación en España ha aumentado de manera importante en las últimas décadas tanto en repoblaciones forestales como en forestación de tierras agrícolas abandonadas (Rey y Camacho, 2004; Ceacero *et al.*, 2012), superando incluso a las especies de *Pinus*, que eran las especies tradicionalmente más utilizadas en el pasado (Villar-Salvador *et al.*, 2004). No obstante, y en comparación con otras especies leñosas mediterráneas, principalmente del género *Pinus*, a menudo las plántulas *Q. ilex* presentan menor supervivencia y crecimiento tras su establecimiento (Vallejo y Alloza, 1999; Bocio *et al.*, 2001; Jiménez *et al.*, 2013; Pascual *et al.*, 2012), lo que indica que la especie es muy vulnerable a factores de estrés abiótico durante sus primeras etapas de vida, sobre todo durante el primer período estival (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Oliet y Jacobs, 2007). Para superar este problema, algunos autores han propuesto el uso de sombreado y aplicación de riegos en el campo, lo que puede mejorar la respuesta post-trasplante (Rey, 1998), pero aumentando en gran medida los costes de reforestación. Esta limitada respuesta al establecimiento también ha sido asociada por diversos autores a una deficiente calidad de las plántulas utilizadas (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a; Mollá *et al.*, 2006), determinada por características morfológicas y fisiológicas que limitan su capacidad de

respuesta ante condiciones de estrés hídrico (del Campo *et al.*, 2007). El uso de tubos protectores también ha sido una práctica utilizada por diversos autores (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005; Oliet *et al.*, 2015), habiendo encontrado una mejor respuesta al establecimiento de las plántulas, sobre todo bajo condiciones desfavorables de estación (Oliet *et al.*, 2003).

En Andalucía los *Quercus* aparecen como especies dominantes en más del 75% de la superficie forestada, siendo especialmente destacable el papel de *Q. ilex*, presente en más del 50% de esta superficie (MAPA, 2006). Por tanto, la importancia de esta especie en la actividad repobladora desarrollada en los últimos años, así como la que previsiblemente se realizará en un futuro justifica la importancia de su inclusión en estudios de investigación en el campo de la ciencia agroforestal.

Estructura y objetivos de la tesis

Son múltiples los factores que afectan a la respuesta al establecimiento de las plántulas en una repoblación forestal, los cuales, en su conjunto, deben condicionar la calidad de la planta y la técnica repobladora a emplear. Las condiciones ambientales tras la plantación, el manejo realizado de la planta, así como su morfología y fisiología, son considerados como los factores más determinantes para el establecimiento de una repoblación forestal (South, 2000), debiendo considerar además el propio genotipo de la planta (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2008). Del mismo modo, la capacidad de arraigo de las plántulas durante el establecimiento, es decir, su capacidad de producción de raíces en la fase inicial tras la plantación, supone uno de los principales factores de cara a la supervivencia en repoblaciones forestales (Tsakalidimi *et al.*, 2005), en tanto que resulta una importante herramienta para superar el estrés ocasionado durante el proceso de plantación (Royo *et al.*, 2000). En ambientes mediterráneos, este estrés post-trasplante está definido principalmente por el estrés hídrico al que se ve sometida la planta en el momento del establecimiento en campo (Vilagrosa, 2002, Serrada *et al.*, 2005), el cual condiciona los procesos fisiológicos principales que se producen en las plántulas y, por tanto, su supervivencia inicial.

Por ello, diversos trabajos han estudiado la influencia de estos factores en el establecimiento de repoblaciones forestales, en busca de obtener una mejor predicción e interpretación de la supervivencia (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a). Los resultados obtenidos en estos estudios, parecen indicar que el efecto de cada factor ejerce cierta influencia en el resto de factores estudiados, por lo que un adecuado análisis de la respuesta al establecimiento

requiere considerar las interacciones que se producen entre ellos (Ketchum y Rose, 2000; Ceaceros *et al.* 2012).

De todos los factores que pueden influir en el establecimiento de las plantaciones forestales en ámbito mediterráneo, este trabajo de investigación plantea como objetivo general estudiar el efecto que la fecha de plantación, los tratamientos de preparación del terreno utilizados y la calidad de planta, ejercen en la supervivencia y el desarrollo de las repoblaciones forestales tras su establecimiento. Se analizará la influencia relativa de cada uno de los factores estudiados, controlando el efecto del resto de variables, estableciendo así la importancia relativa que cada uno de ellos presenta sobre el establecimiento definitivo de plantaciones forestales en ámbito mediterráneo.

Para abordar este objetivo general, fueron planteadas algunas hipótesis en base a las cuales fueron estructurados los diferentes capítulos de esta tesis doctoral:

- a) ¿presentan los tres factores analizados (fecha de plantación, preparación del terreno y calidad de planta) la misma influencia en la supervivencia y crecimiento de plantaciones de *Pinus pinea* y *Quercus ilex* realizadas en medio mediterráneo?
- b) ¿el valor que toma cada uno de los factores estudiados condiciona la respuesta al establecimiento respecto al resto de factores de estas plantaciones, existiendo, por tanto, interacciones entre ellos?
- c) ¿presenta *P. pinea* estrategias fisiológicas diferentes que *Q. ilex* para afrontar el estrés de plantación tras su establecimiento en repoblaciones forestales mediterráneas?
- d) ¿desarrolla *P. pinea* sistemas radiculares más eficientes que *Q. ilex* como respuesta al establecimiento ofreciéndole ventajas fisiológicas para la superación del estrés hídrico inicial en repoblaciones forestales mediterráneas?

En base a estas hipótesis la memoria de este trabajo se ha estructurado en diferentes capítulos que intentan ofrecer una respuesta adecuada a las mismas, según se detalla a continuación.

En relación a las hipótesis a) y b) el **capítulo II** estudia la influencia que los diferentes factores estudiados (la fecha de plantación, los tratamientos de preparación del terreno y la calidad de planta) ejercen sobre la supervivencia y desarrollo post-trasplante de plántulas de encina (*Quercus ilex* L.) en una repoblación forestal realizada en ámbito mediterráneo. Se analiza también la posible interacción entre los distintos factores estudiados a través de

técnicas de análisis paramétrico (para caso del crecimiento) y no paramétrico (para el caso de la supervivencia)

El **capítulo III** presenta una estructura y objetivos similares a los del capítulo II (hipótesis a) y b)), presentando en esta ocasión la respuesta en términos de supervivencia y crecimiento que las plántulas de pino piñonero (*Pinus pinea* L.) mostraron tras su establecimiento en la repoblación forestal realizada.

En respuesta a las hipótesis c) y d), en el **capítulo IV** se estudia el desarrollo morfológico radicular de las plantas de *P. pinea* y *Q. ilex* en función de los diferentes factores estudiados, y su interacción con el estado fisiológico de la mismas en relación a su estado hídrico. Se analiza la relación entre los resultados obtenidos y la supervivencia registrada en cada especie.

El **capítulo V** recoge una síntesis y discusión general de los resultados obtenidos a lo largo del estudio y presentados en capítulos anteriores, suponiendo una revisión general de todo el trabajo e incluyendo algunas recomendaciones de nuevas líneas de investigación a seguir en el campo de la restauración forestal en ambientes mediterráneos.

Finalmente, en el **capítulo VI** serán expuestas las principales conclusiones obtenidas en este trabajo.

Capítulo 2

Site preparation, stock quality and planting date effect on early establishment of Holm oak (*Quercus ilex* L.) seedlings*

*Artículo publicado en la revista *Ecological Engineering* (2009 *Impact Factor*: 2.745).

Palacios, G.; Navarro-Cerrillo, R.M.; del Campo, A.; Toral, M. 2009. *Site preparation, stock quality and planting date effect on early establishment of Holm oak (*Quercus ilex* L.) seedlings*. *Ecological Engineering* 35: 38-46.

Abstract

Nursery researchers tend to study seedling quality instead of other silvicultural practices such as soil preparation and planting date. The aim of this study was to determine the effects and interactions of site preparation and stock quality on the survival and growth of 1-year-old *Quercus ilex* L. seedlings planted on different dates. Based on the hypothesis that soil preparation affects out-planting performance more than stock quality does in Mediterranean areas, two different site preparations (subsoiling and manual holing) and three planting dates were studied. Two years after planting, high-quality seedlings planted on an early date over a subsoiling preparation showed the best survival rates (61%), followed by the same quality plant and soil preparation treatments on a mid-season planting date (40%). After two growing seasons, planting date and site preparation affected height growth rate positively, whereas relative diameter growth rate of surviving seedlings was affected by planting date only. A correct selection of the planting date and soil treatment plays an important role in the expression of seedling quality in terms of survival and growth.

Key words: Reforestation, seedlings establishment, site preparation, seedling quality, planting date, *Quercus ilex*, logistic regression, Mediterranean environment.

2.1. Introduction

More than two-thirds of peninsular Spain belongs to the Mediterranean climate domain, which features at least 2 months of drought per year, hot dry summers, and moderately cold, wet winters (Ceballos *et al.*, 2004), where both water and nutrients are the primary factors limiting plant activity and vegetation structure (Pigott and Pigott, 1993). However, the main characteristic of the Mediterranean climate is its temporal and spatial variability, this being considered as a transition between subtropical desert zone and temperate zone. Few species can fulfill the requirements of the Mediterranean environment, which limits the choices for afforestation of lower altitude areas. These requirements are mainly: tolerance to summer drought, tolerance to large amounts of active calcium in soils, and the ability to cope with occasional low temperatures in winter (Court-Picon *et al.*, 2004). Mediterranean Holm oak (*Quercus ilex* L. *ballota* (Desf.) Samp.) is one of the most important woody species in the forest communities of the western Mediterranean basin. This species is a very typical Mediterranean sclerophyll growing throughout the entire Mediterranean basin region and can be found forming pure or mixed stands, whose ranges overlap each other along a south to north rainfall gradient ranging from 400 to 1000 mm year⁻¹. The use of this evergreen sclerophyllous tree in Spanish reforestation programs has greatly increased in the last 10 years to exceed that of the *Pinus* species widely used in the past (MAPA, 2006). While *Q. ilex* L. is considered as being a comparatively late-successional species, often found on more mesic areas, seedlings often have lower survival and growth in plantations when compared to other Mediterranean woody species like *Pinus* sp. (Bocio *et al.*, 2004). This indicates that *Q. ilex* L. is very vulnerable to stress factors during its early life stages, especially during the first summer drought (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005). Shading and irrigation in the field might enhance its post-planting performance, but would greatly increase reforestation costs.

Early mortality and low growth rate have been identified as critical impacts to successful plantation establishment in Mediterranean areas, and several circumstances may act synergistically to influence plant performance (Broncano *et al.*, 1998), including environment, handling, morphology and physiology of seedlings (South *et al.*, 2001). Each of these has an influence and interacts with the others (Ketchum and Rose, 2000), which should be taken into consideration when evaluating a reforestation proposal.

Over the past two decades, various seedling quality assessment methods and their importance in predicting field performance have been developed and tested (Folk and Grossnickle, 1996). Root-collar diameter (RCD) and sturdiness of seedlings have been considered as good predictors of field performance (Aphalo and Rikala, 2003; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a), and height is also frequently used as a culling criterion for container seedlings (Tsakalimi *et al.*, 2005; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006b,c). They are relatively simple to measure and in many cases exhibit good correlation with field performance (Dey and Parker, 1997; Jacobs *et al.*, 2005). Despite advances in seedling quality testing and the prediction of field performance, no single test has proved suitable across a wide range of species and conditions (Davis and Jacobs, 2005). The current performance of newly planted seedlings depends not only on the inherent performance potential (seedling quality) of seedlings but also to what extent the environmental conditions of the site allow this potential to be expressed (Folk and Grossnickle, 1996).

Generally, nursery researchers tend to study nursery treatments (e.g. growing medias, fertilizer applications or container types), and foresters are inclined to evaluate site preparation methods (e.g. mechanical *vs.* manual preparations, planting dates, seedlings protectors, use of mulch or herbicides). Due to this fragmented approach, trials that combine nursery treatments with site preparation treatments are rare, so that, as a result, much is known about the main effects but little is known about their interactions (South *et al.*, 2001).

There are conflicting recommendations as to which nursery practices and attributes are best because of the great variation in seedling quality and field performance (Pardos *et al.*, 2003; Villar-Salvador *et al.*, 2004). The poor development of *Q. ilex* plantations could also be attributed to the low quality of the planted seedlings. Low quality plants might exhibit morphological and physiological characteristics that impair their performance under stressful conditions. Nursery cultivation regimes can strongly determine the functional characteristics of seedlings and their field performance. Therefore, a seedling quality program has been conducted by the Andalusia Forest Department over the last 10 years to perceive the state-of-the-art of *Q. ilex* nursery practices in public and private nurseries. Nowadays, the use of rigid tubes (300–500 cm³) filled with a mixture of perlite/vermiculite and peat with a height fertilization program is recommended to cultivate height quality seedling of this species (e.g. Villar-Salvador *et al.*, 2004).

Site environment (i.e. where the seedlings are planted), referring to soil water content at their planting time, temperature and amount of rainfall soon after planting, soil texture and soil depth, among others (South et al., 2001), is also of great importance. Site preparation modifies soil structure and changes nutrient and water availability for seedling establishment (Sutton, 1993), depending on the soil texture and structure obtained (English *et al.*, 2005). In addition, weather affects soil temperature and moisture, and, consequently, the planting date is also an important factor affecting seedling establishment (de Chantal *et al.*, 2003, 2004). Although there are few studies about the influence of the planting date under Mediterranean conditions (Royo *et al.*, 2000; Radoglou *et al.*, 2003), its effect, combined with site preparation and seedling quality, has been studied widely under other different ecological conditions (Pitt *et al.*, 1999; South *et al.*, 2001).

The aim of this study was to determine the combined effect of the planting date, site preparation, and seedling quality on establishment, survival and growth of seedlings of *Q. ilex* L. (Mediterranean Holm oak), with the aim of improving the success of reforestation under Mediterranean conditions. In particular, based on the hypothesis that soil preparation affects out-planting performance more than stock quality does in Mediterranean areas, site preparation of two intensities was studied: subsoiling and manual holing.

2.2. Materials and methods

2.2.1. Site description

The trial was performed in Aznalcollar (Seville, southern Spain, 37° 35' N, 2° 41' W, 300–400 m a.s.l) (**Fig. 2.1**) on a 30% medium slope site with a southern exposure. The area has a dry Mediterranean climate with an average annual rainfall of 650 mm with hot, dry summers (30–35 mm of average summer precipitation between June and September) and mild winters. Rainfall, potential evapotranspiration, average temperature, and atmospheric humidity were recorded with a complete weather station situated in the area between January 2002 and December 2003 (**Fig. 2.2**).



Fig. 2.1.- Location of the experimental plot.

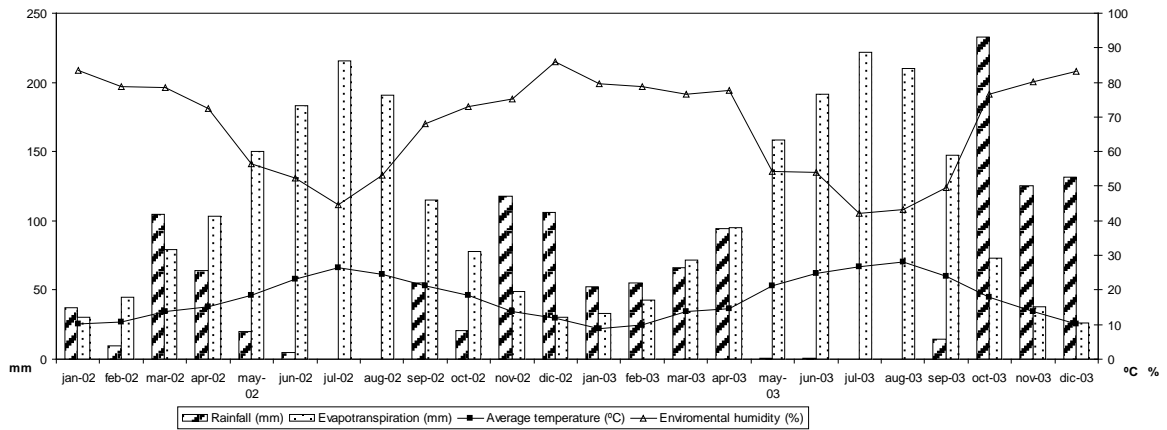


Fig. 2.2.- Climate conditions for plantation site (Aznalcollar, Spain) during the trial period January–December 2002 (P = 539.6mm; T = 17.28 °C, ETP = 1269.3mm) and January–December 2003 (P = 773.6mm; T = 17.81 °C; ETP = 1308.0 mm).

The soils, formed mainly of Precambrian and Palaeozoic schist rocks, are poorly developed because of erosion processes accelerated by human activities. Following Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 1998), the soil in the plots is a Eutric

Regosol (AB_tC), with a very fine-grained and loamy texture (55.6% clay, 20.3% silt, and 23.9% sand), and the mean bulk density of top soil (0–30 cm) was $1.60 \pm 0.10 \text{ g cm}^{-3}$. Mean organic carbon content was 3.64% and pH (H₂O) was 4.4 (n=5).

The area was damaged by fire in 1995 and the dominant vegetation is composed of common post-fire species: *Cistus ladanifer* L., *C. populifolius* L., *Halimium ocymoides* (Lam.) Willk., *Erica australis* L., and *E. umbellata* Loefl. ex L.

2.2.2. Seedling assessment

11-month-old seedlings of *Q. ilex* were cultivated in two private nurseries. The different cultivation parameters permitted the classification of two different plant qualities, high-quality and low-quality stocks. High-quality seedlings were grown in 300 cm³ Plasnor® containers (density 283 plants m⁻², 19 cm long), using peat (Pinstub)-vermiculite (3:1 volume) as substrate. Nutrients were supplied as a N-P-K (New Plant, 16-16-16) slow release fertilizer mixed in the peat (1 kg m⁻³ of peat), which contained 48 mg N, 48 mg P, and 48 mg K per seedling. Low-quality seedlings were grown in 250cm³ Arnabat® containers (density 378 plants m⁻², 14 cm long), using pure peat (Kekila D1K2). Nutrients were supplied as a N-P-K (Perk, 4-0-10) slow release fertilizer mixed in the peat (1 kg m⁻³ of peat), which contained 8 mg N, 0 mg P and 20 mg K per seedling.

At the end of nursery production (last week of November 2001), a randomly-selected sample of 25 seedlings was assessed for height, root collar diameter (RCD), root and shoot dry mass, and nutrient concentration of the shoots. For nutrient analyses, the leaves of five seedlings per treatment were oven-dried (70°C) and ground through a 0.5 mm screen, giving five replicates for each treatment. After plant tissue preparation by dry ash method, the concentration of nitrogen was determined by the micro-Kjeldahl method. Potassium, calcium, and magnesium content was determined using a Varian SpectraAA-10 Atomic Absorption Spectrometer, while a Skalar segmented flow auto analyzer was used for colorimetric determination of phosphorus (880 nm). Seedling attributes at the end of cultivation are shown in **Table 2.1**.

Table 2.1.- Morphologic and physiologic quality attributes of *Quercus ilex* L. stocks. (mean; N=25 morphology, N=5 nutrient analysis).

	Low quality	High quality
Height (cm.)	13.80	23.81***
Diameter (mm.)	4.12	5.12**
Total leaf weight (g)	1.40	2.11**
Shoot dry mass (g)	1.98	3.22***
Root dry mass (g)	4.34	4.00
Total dry mass (g)	6.32	7.23*
Shoot/Root	0.48	0.84**
Height/Diameter	3.40	4.69**
N (mg g⁻¹)	9.8	12.7**
P (mg g⁻¹)	0.9	1.2*
K (mg g⁻¹)	5.2	5.5
Ca (mg g⁻¹)	8.6	10.3**
Mg (mg g⁻¹)	3.8	4.9**

* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$

2.2.3. Experimental design

The experiment was arranged as a multi-factorial design with two levels of soil preparation (i.e. manual holing and mechanical subsoiling), two levels of seedling quality (i.e. high-quality and low-quality), and three planting dates (i.e. early, middle, and late), in a completely randomized four blocks design. Each experimental plot consisted of 25 seedling samples per factorial combination, with 4 replicates or blocks for each treatment combination. Thus, there were a total of 100 plants per treatment, distributed according to a slope gradient. Treatments were fully randomized within each block separately. The study involves 12 treatment combinations, which entails a total of 1200 seedlings. The planting was done by hand in a rectangular plot (5 m × 10 m) following a systematic spatial pattern distribution (1 m × 2 m) in November 2001 (early season), January 2002 (mid-season), and March 2002 (late season). Two site preparation treatments (manual holing and mechanical subsoiling) were carried out in September 2001 by level curves every 2 m. In manual holing, rectangular holes (40 cm × 40 cm × 40 cm) 1 m apart were dug with hoes, the holes being made just before planting. The mechanical subsoiling was done using a ripper to a depth of more than 50 cm. Tree shelters were used to protect seedlings from potential damage not controlled in the experiment.

2.2.4. Plant analysis

Survival was measured after summer in 2 consecutive years: October 2002 (data not included) and September 2003. Height and diameter above the root collar (at 1 cm above soil) were measured and recorded at the time of planting and during the study using electronic calipers. Growth rate was computed as the difference in height (H) and diameter (D) between two consecutive determinations: planting to October 2002 (data not included) and planting to September 2003.

2.2.5. Data analysis

Survival and growth rate data were examined to ascertain that the variables were normally distributed and the variances were homogeneous (Levene test). To determine the influence on plant survival of planting date, site preparation, and plant quality, contingency table analyses and binary logistic regression were used. All categorical variables were turned into *dummy* variables in order to allow the correct development and interpretation of the model. Variables were introduced into the model by the forward stepwise method based on the likelihood ratio (Hosmer and Lemeshow, 2000). First, the main stand level effects and all two-way interactions in the model were entered. Then, based on Wald statistics, a non-significant interaction or main variable was removed at every step. The performance and success of the model obtained were evaluated by the *log likelihood ratio* (Hosmer and Lemeshow, 2000), and the rate of false positive (seedling predicted to be alive but observed as having died) and false negative (seedling predicted to be dead but observed as being alive) cases. *Nagelkerke R²* was also calculated for the final model.

Growth parameters were also studied, determined as the difference between height and diameter measured on the control 2 years after plantations and the measurement on these growth parameters at the moment of plantations. The effects of the variables studied on height and diameter growth parameters were tested by a multifactorial ANOVA. Tukey's post hoc multiple comparisons test for observed means was carried out to test for differences between treatments. The effect of treatments on the variables measured was tested for significance at the 0.05 level. All the statistical analyses of the data were done using SPSS version 13.0 software.

2.3. Results

2.3.1. Survival analyses

Two years after planting, high-quality seedlings planted at an early date on subsoiling preparation showed the best survival rates, obtaining $61 \pm 3.6\%$ ($n = 100$), followed by the same quality plant and soil preparation treatments at amid-season planting date ($40 \pm 11.8\%$; $n = 100$) (**Fig. 2.3**). The worst survival rate was shown by high-quality plants in holing preparation planted at a late date, with hardly any survivors (0%), followed by low-quality plants planted on the same date and preparation with $4 \pm 1.63\%$ ($n = 100$; **Fig. 2.3**).

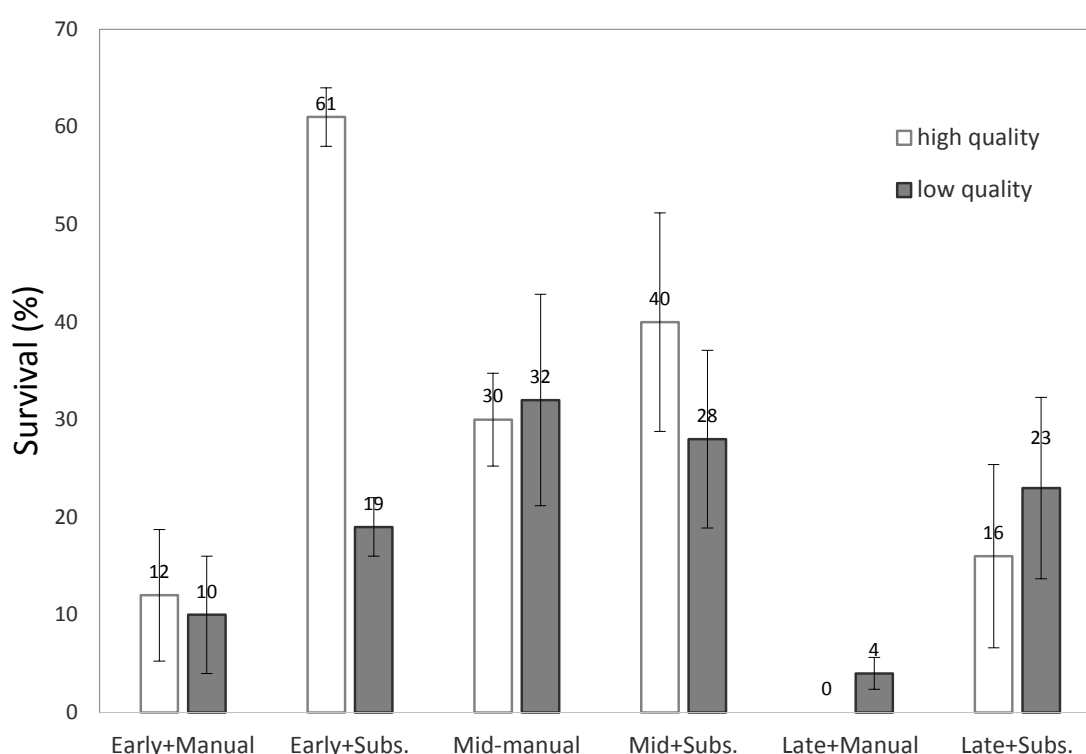


Fig. 2.3. Mean survival rate (%) of *Quercus ilex* seedlings planted in early, mid-season and late plantings over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

A statistically significant logistic regression model of survival (likelihood ratio (LR) = 186.403; $P < 0.001$) was developed (**Table 2.2**). Almost 22% of total variance was explained by the model and around 79% of cases were predicted correctly. Two of the main factors, planting date and soil preparation, two of the first-order interaction factors, planting date (PD) \times soil preparation (SP) and planting date (PD) \times plant quality (PQ), and the second-order

interaction factor (PD × SP × PQ) were considered as being statistically significant explicative variables of *Q. ilex* L. survival.

Table 2.2.- *Quercus ilex* seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the site preparation, stock quality, and planting date models two years after planting.

Variable	β	S.E.	Wald	p	Exp(β)	95.0% C.I. for Exp(β)	
						Lower	Upper
PD							
Mid-season	1.291	0.273	22.374	p<0.001	3.635	2.129	6.205
Late	-1.801	0.553	10.595	0.001	0.165	0.056	0.488
SP							
Mechanical subsoiling	2.538	0.305	69.186	p<0.001	12.655	6.959	23.014
PD x SP							
Mid-season x Mechan. subs.	-2.143	0.398	29.050	p<0.001	0.117	0.054	0.256
Late x Mechan. subs.	-0.304	0.650	0.219	0.640	0.738	0.206	2.637
SP x PQ							
Mechan. subs. x low-quality	-1.897	0.327	33.640	p<0.001	0.150	0.079	0.285
PD x SP x PQ							
Mid-seas. x M. subs. x low-quality	1.358	0.445	9.305	0.002	3.890	1.625	9.310
Late x subs. x low-quality	2.347	0.488	23.161	p<0.001	10.457	4.020	27.199
Constant	-2.091	0.226	85.588	p<0.001	0.124		
Likelihood ratio = 186.403							
p< 0.001							
Nagelkerke R² = 0.218							
Correctly predicted = 78.9%							

β: coefficients for the logistic regression for each variable, S.E.: standard error associated with each coefficient, Wald: Wald statistic used for significance tests, p: the probability associated with the Wald statistic, exp(β): the exponentials of β coefficients or odds ratio for each variable, and 95% C.I.: the confidence interval at 95% for the odds ratio.

Variables abbreviations – PD: planting date; SP: soil preparation; PQ: plant quality.

In order to measure the influence of each variable and its interaction on seedlings survival, odds ratio obtained will be used. The odds ratio takes values between zero (‘0’) and infinity. One (‘1’) is the neutral value and means that there is no difference between the groups compared; close to zero or infinity means a large difference. An odds ratio larger than one means that group one has a larger proportion than group two, if the opposite is true the

odds ratio will be smaller than one. If you swap the two proportions, the odds ratio will take on its inverse ($1/OR$). Thus, the odds ratio gives the ratio of the odds of suffering some fate, in this case the survival of seedlings. But also the odds themselves are a ratio.

To explain this we will take the example of traditional versus alternative soil preparation. If 10% of seedlings planted results survival, then the odds of to be successful with plantation if traditional soil preparation is used equals 0.11 ($0.1/0.9$, you have a 0.11 times higher chance of to be successful than of not to be successful). Also we can suppose that 12.5% of the seedlings using the alternative soil preparation result survival, giving odds of 0.143 ($0.125/0.875$). The odds ratio equals 0.778 ($0.11/0.143$). You have a 0.778 times higher chance of to be successful (seedlings alive) than of not to be successful (seedlings dead), in traditional as compared with alternative surgery. The inverse of the odds ratio equals 1.286. You have a 1.286 times higher chance of to be successful than of not to be successful, in alternative as compared with traditional soil preparation. Thereby, planting date was the variable which had a major influence on seedling survival after 2 years of being planted (**Table 2.2**). Considering this variable alone, seedlings planted in mid-season (January) were upper than three times more likely to survive ($\exp(\beta) = 3.635$; $P < 0.001$) than seedlings planted on an early date (reference category), while seedlings planted on an early planting date (November) has six times more survival probability ($\exp(\beta) = 0.165$, and $1/0.165 = 6.061$; $P < 0.001$) than seedlings planted on late date (March). Site preparation was the next variable in importance to explain the survival 2 years after planting, estimating that the survival probability using mechanical subsoiling ($\exp(\beta) = 12.655$; $P < 0.001$) increased as much as 12 times compared to manual holing. Plant quality was not considered in the model as being an important variable, as it displayed a scant influence on plant survival when considered alone. However, plant quality entered the model associated with the planting date and soil preparation, as an interaction term.

The effect on seedling survival of three main variables studies, including plant quality, also resulted in being significant in the model as interaction terms, so the results shown above had to be fitted to the interaction term “odds ratios”. This indicates that survival probability related, for example, to the planting date, may be different if the seedlings correspond to high- or low-quality plants, or have been planted with mechanical subsoiling or with manual holing. So although we first affirmed that seedlings planted in mechanical subsoiling had 12 times more survival probability than those planted in holes, this was only strictly true for a high-quality seedling planted on an early date (reference categories), because if we considered the

same plant quality but planted on a mid-season date, this estimated odds decreased to 1.5 ($\exp(\beta) = 12.655, 0.117$), and, in the case of a late date, the estimated odds were around 9 ($\exp(\beta) = 12.655, 0.738$). In the same way, if we want to estimate the odds ratio for low-quality seedlings we need to consider the three second-order interaction factor and its odds. Thus, if high-quality seedling planted on a mid-season date had 1.5 times more survival probability if they are planted on mechanical subsoiling instead of manual holes, or 9 times in the case of late date, considering low-quality seedlings these odds come to 5.89 for mid-season date ($\exp(\beta) = 12.655, 0.117, 3.980$), and 97.66 for late date ($\exp(\beta) = 12.655, 0.738, 10.457$) (see **Table 2.2**).

2.3.2. Growth analyses

After two growing seasons, the planting date ($P=0.005$) and site preparation ($P<0.001$) affected height growth, as shown in the ANOVA analysis (**Fig. 2.4** and **Table 2.3**). The effect of plant quality on height growth was not statistically significant ($P=0.696$), (**Fig. 2.4** and **Table 2.3**). Seedlings planted at an early date on subsoiling preparation showed the best height growth results, while those planted on late date over manual holes had no height growth (**Fig. 2.4**).

In the case of diameter growth, planting date ($P=0.030$) was considered by ANOVA analysis as the only statistically significant variable (**Fig. 2.5** and **Table 2.3**). Seedlings of early plantation over subsoiling preparation showed the larger diameter growths. Also later plantation on manual holes showed good diameter growth, while less than 4% of seedlings were alive (Figs. 3 and 5). Worst diameters growth was obtained by middle date plantation on manual holes (**Fig. 2.5**).

Table 2.3. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on relative height and diameter growth rate 2 years after plantations (variables in bold are significant at the 0.05 level).

Variable	d.f.	F	P
Height			
Planting date (PD)	2	5.411	0.005
Site preparation (SP)	1	24.394	<0.001
Plant quality (PQ)	1	0.153	0.696
PD x SP	2	1.974	0.141
PD x PQ	2	1.040	0.355
SP x PQ	1	0.963	0.327
DP x SP x PQ	1	0.041	0.840
Corrected Model	10	7.355	<0.001
Intercept	1	75.913	<0.001
Error	264		
Total	275		
Corrected Total	274		
*R² = 0.218 (Fitted R² = 0.188)			
Diameter			
Planting date (PD)	2	3.560	0.030
Site preparation (SP)	1	2.162	0.143
Plant quality (PQ)	1	1.523	0.218
PD x SP	2	1.547	0.215
PD x PQ	2	1.693	0.186
SP x PQ	1	1.207	0.273
PD x SP x PQ	1	2.104	0.148
Corrected Model	10	5.010	<0.001
Intercept	1	35.912	<0.001
Error	264		
Total	275		
Corrected Total	274		
*R² = 0.160 (Fitted R² = 0.128)			

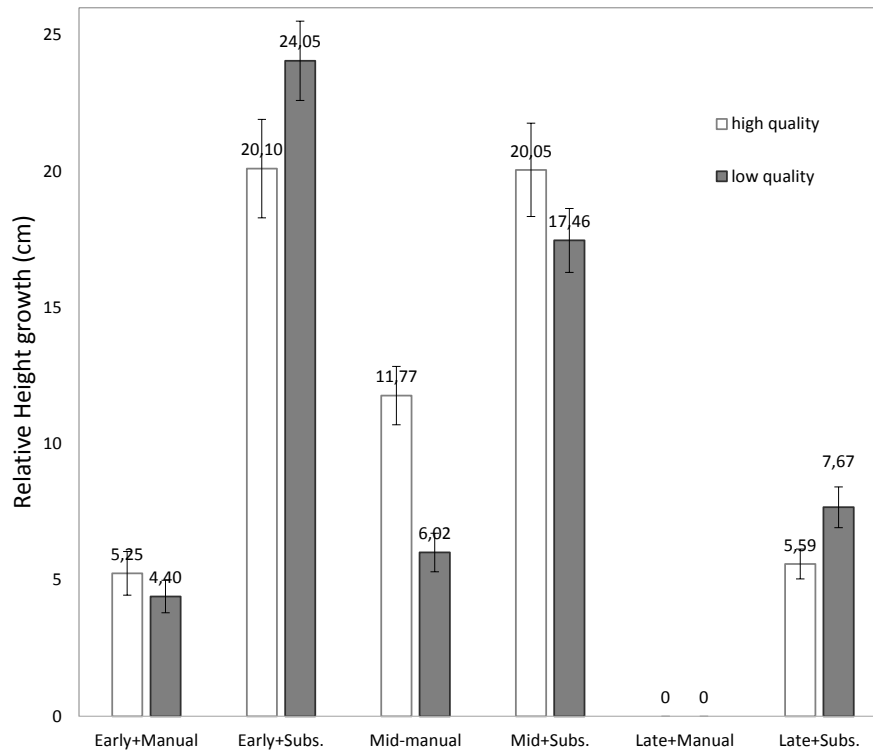


Fig. 2.4. Height growth rate (cm) of *Quercus ilex* seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

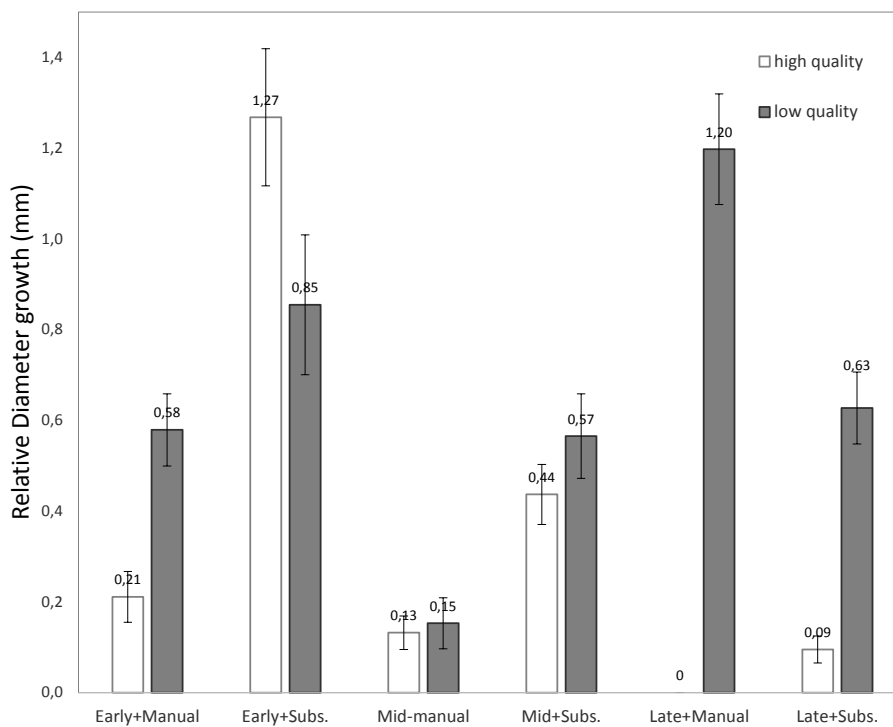


Fig. 2.5. Diameter growth rate (mm) of *Quercus ilex* seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

2.4. Discussion

Few studies have included both nursery and field treatments in the same experiment design to explain survival and growth responses (South *et al.*, 2001). Our results showed that the planting date and site preparation can significantly affect the survival and growth of Mediterranean Holm oak (*Q. ilex* L. *ballota* (Desf.) Samp.) seedlings. However, although the logistic regression model for survival of seedlings contained two- and three-way interaction terms involving plant quality, the effect of plant quality on height and diameter growth is not statistically significant.

Planting date was the variable with the greatest influence on plant survival, followed by site preparation, as indicated by the entry order in the logistic regression model (Hosmer and Lemeshow, 2000). The best survival results were recorded for the mid-season and early dates, while the late date showed high mortality rates. These results differ with previous studies in Mediterranean environments, which concluded on no statistical differences between planting dates (Royo *et al.*, 2000; Radoglou *et al.*, 2003), or established a period of planting too many wide (i.e. from November to March) (Jenkinson *et al.*, 1993).

The second effect in importance was soil preparation, obtaining better survival results using mechanical subsoiling instead of manual holing, which agree with many studies performed under different environmental conditions (Querejeta *et al.*, 2000, 2001; Karlsson, 2002), including Mediterranean environments. One of the major ecological factors acting on afforestation performance under Mediterranean climate is water availability (Ceballos *et al.*, 2004), and mechanical subsoiling effectively increases water penetration into the soil (Querejeta *et al.*, 2001).

However, the long duration of the dry season and the great rainfall variability within and between years are characteristic of Mediterranean areas (Infante *et al.*, 2003), in the context of this climatic variability, positive effect of an adequate site preparation could be reduced by an incorrect choice of planting date. In this research, there was hardly 80 mm of rainfall between the months of May and September 2002 in the planting area. The seedlings planted on a late date (March, 2002) received some rain in April, but the next rainfall events in the area were not recorded until September. According to the planting dates, during the first growing season the difference in the total growing season duration between each planting date was 2 months, with the difference between the early and late planting being 4 months. So, seedlings planted on the early and mid-season dates had a favourable period of time of 5 and

3 months with rainfall, respectively (**Fig. 2.2**), for their vegetative growth, mainly of their roots. However, the seedlings of the late date planting experienced a much less favourable period, with hardly 100 mm of rainfall on the 6 months following after plantation, which limited their capacity to uptake the scant water reserves available in the soil during this prolonged drought period. Thus, it was observed how, in plantings with a manual holing preparation on a mid-season date, survival rates were higher than those recorded in planting over mechanical subsoiling carried out on the late date (**Fig. 2.3**).

Weather conditions previous to, and immediately after, planting are fundamental with respect to the initial survival of plants (Margolis and Brand, 1990), but once the first growing season is over, their hydric state greatly depends on the soil's water retention capacity, as well as the seedlings' ability to develop roots, these factors being related to site preparation (Querejeta *et al.*, 2001), and plant quality (Burdett, 1987). Under strong water stress conditions like those recorded in this assay (i.e. on September 2003 all treatments showed dawn hydric potential lower than -3MPa, and midday hydric potential lower than -5MPa; data not included on this paper obtained with Scholander pressure chamber), the water accumulated in the deep areas of the soil may be the only reserve available to seedlings during drought periods. The summer of 2003 was even drier than that of 2002 (16 mm of rainfall accumulated between May and September), so that the development of a deep rooting system was essential for survival and growth under such extreme conditions (Querejeta *et al.*, 2001). Site preparation modifies soil properties such as surface layer structure, bulk density, aeration, temperature, and, consequently, the availability of nutrients and water (Prévost, 1992; Sutton, 1993; de Chantal *et al.*, 2004). A more intensive soil preparation permits greater root development so that the seedling can explore larger volumes of soil. Thus, during the summer period, deep rooting becomes increasingly important for the water uptake of seedlings as the surface soil dries out (Talsma and Gardner, 1986). It is precisely during the early stages of seedling development that deep rooting becomes more necessary in the case of the exhaustion of the topsoil moisture (Mitchell and Correl, 1987). Thus, we can observe the great difference in survival terms shown between plantings with subsoiling and holing site preparations, only attenuated in mid-season date plantings, which offer the best weather conditions.

Focussing on plant quality, it can be observed how, for different stock qualities, the same as for the rest of the variables, the survival differences found were considerably fewer than those recorded for plants of the same quality but planted on different dates or over different soil preparation. Many studies confer a principal role to plant quality with regard to

survival and out-planting growth (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006b), although others have not found any clear relation between plant quality and post-transplanting response (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a). This disparity of opinions is due to it not being possible to assess the effect of plant quality on the establishment of plantations as an isolated variable, but it can offer a valuable information when is studied jointly with the environmental factors and the repopulation techniques employed. In the logistic regression models, stock quality was the variable showing the least power of association with survival, and was not considered as a statistically significant main term (**Table 2.2**). Results observed in our study show a generally better response of plantations in which high-quality plants were used; mainly when the rest of the factors studied were favourable (early and midseason dates with subsoiling site preparation). Thus, it can be observed how in early date plantings in mechanical subsoiling, plant quality becomes highly important, and high-quality plant survival was around 50% greater than those of a low quality (**Fig. 2.3**). However, when the conditions studied were highly unfavourable, such as late planting, but principally in a manual holing site preparation, plant quality effect seemed to weaken, which demonstrated the lesser power of association with seedling survival when is considered as an isolated factor. This also indicates the important influence of the planting date and site preparation on plant quality in survival probability.

Growth response of seedlings was different depending on the parameter studied. Thus, with regard to height growth, planting date and soil preparation was the only variables considered statistically significant, and stock quality and all interaction terms were not considered by the ANOVA test as statistically significant. In the case of diameter growth, only planting date was considered as statistically significant (**Table 2.3**). With regard to planting date and site preparation, these exerted a similar influence on growth to that observed for survival, with the best results being found in the seedlings planted on early and mid-season dates over mechanical subsoiling (**Figs. 2.4** and **2.5**). This response is to be expected if it is realized that height and diameter growth are the first physiological processes affected by water stress (Larcher, 1995). In addition, they are quickly adjusted to the new growth environment, and only have an effect on first-year shoot-apex dieback (Aphalo and Rikala, 2003). Thus, after the second growing season, seedlings planted at an early date in subsoiling preparation recorded best height growth results, which were similar for low- and high-quality ones, confirming that plant quality did not influence seedling growth. Regarding stock quality role, previous studies considered that root-collar diameter was the non-destructive

measurement of plant quality most closely correlated with field performance, while height and 'sturdiness' indices were not significantly correlated with it (Tsakalimi *et al.*, 2005). Also, other studies concluded that root mass (Villar-Salvador *et al.*, 2004) or root growth potential (Radoglou *et al.*, 2003; Mollá *et al.*, 2006) did not significantly affect the out-planting performance of seedlings. Results of this research confirm that stock quality should not be used as a predictor of Holm oak growth seedling performance or survival after field establishment.

2.5. Conclusions

Planting date and site preparation have been shown to be factors determining survival response of *Q. ilex* in reforestation carried out in the Mediterranean area. Water availability in the first months after planting seems to be vital to the survival of seedlings. An intensive soil preparation gives a larger volume of soil which comes in useful to the plant, increasing its water availability. However, if the use of mechanical means such as subsoiling can somehow limit the planting work on suitable dates, the carrying out of less intensive soil preparation, done on more favourable dates for the initial growth of the seedlings in the field, might be more efficient. The extraordinary variability of rainfall in the Mediterranean may cause a bad planting date choice to greatly jeopardize the survival of our plantation. A correct planting date selection, mainly determined by the occurrence of rain both before and just after planting, plays an important role in plant survival. This effect, of the greatest importance during the first growing season (results not included), diminishes as time goes by, but also after the second growing season, the planting date effect can be considered as the main variable affecting survival and growth Mediterranean Holm oak seedlings.

Survival effect of stock quality was not considered significant when this variable is considered in an isolated manner, but its combined effect with planting date and site preparation seems to be important. Thus, in order to understand how these variables affect the survival and growth of the repopulations, they have to be studied and analyzed jointly, since the value or characteristic of just one of them affects the behaviour of the rest. However, stock quality seems to have no relation to growth response, while the growth effects of planting date and site preparation seem to be less clear than survival effects.

To conclude, we should point out that out-planting results obtained in this research are relevant for reforestations with *Q. ilex* in dry continental Mediterranean sites, where the

combined effects of nursery and reforestation techniques have not been extensively studied, so that more in-depth research on these combined effects is required.

2.6. Acknowledgements

This work was supported by the Agricultural, Fisheries and Food Department of Junta de Andalucía through the project “*Seguimiento del Programa de Forestación de Tierras Agrarias de Andalucía*”. The authors wish to thank Manuel Arroyo Sauces for the nursery survey information.

Capítulo 3

Establishment of stone pine (*Pinus pinea* L.) in response to site preparation, stock quality and planting date*

*Artículo enviado a la revista *Annals of Forest Science* (2014 *Impact Factor*: 1.981).

Abstract

Pine seedling survival and growth in southern Spain have often been related to site preparation, planting date and seedling stock. However, in spite of the acknowledged about the importance of establishment techniques in seedling performance, little is understood about how synergic effect of those techniques may modify seedling response to plantation, particularly on dry sites. We tested the hypotheses that growth and survival of *Pinus pinea* seedlings are related to stock quality, plantation date and site preparation. The objective of this study was to determine the effect of site preparation, stock quality and date of planting on the survival and growth of one-year-old *Pinus pinea* seedlings. We tested the hypothesis that soil preparation affects survival and growth more than stock quality in Mediterranean areas. One year after planting, high-quality seedlings planted in the middle of the season showed the highest survival rates (95%), over a subsoiling preparation, followed by the same quality plant and soil preparation treatments at an early planting date (94%). Two years later, this planting tendency lasted. After one growing season date of planting and site preparation affected relative height growth rate whereas relative diameter growth rate of surviving seedlings after one growing season was affected by planting date, site preparation and plant quality. Appropriate selection of planting date, mainly determined by the occurrence of rain both before and immediately after planting, plays an important role in survival of *P. pinea* seedlings.

Key words: Reforestation, seedlings establishment, site preparation, seedling quality, planting date, *Pinus pinea*, logistic regression, Mediterranean environment.

3.1. Introduction

Forest plantations in Mediterranean areas are strongly limited by the inherent characteristics of this climate (with hot, dry summers and cold, rainy winters) (Archibold, 1995), but particularly by the low small-scale soil water availability, which is highly sensitive to the microenvironmental conditions (Snyder and Tartowski, 2006; Quero *et al.*, 2011). Soils are also often poorly developed, shallow (20-40 cm), stony, poor in organic matter and sometimes with impermeable horizons (Puigdefábregas, 1998). In these areas, restoration projects often use soil preparation to improve root depth, increase soil infiltration and nutrient availability, reduce water runoff and control competing vegetation (Barberá *et al.*, 2005; Palacios *et al.*, 2009; Löf *et al.*, 2012). *Pinus pinea* L. (Mediterranean Stone pine) is one of the most important woody species in the forest communities of the western Mediterranean basin. This species can be found in monospecific or mixed stands, along a rainfall gradient from south to north ranging from 400 to 1000 mm yr⁻¹. Stone pine is considered an early successional species which occupies highly xeric and exposed areas, contributing to ecosystems biodiversity and dynamic on degraded land and has important ecological, social, and economic value (DGGMN-CMA, 2004).

Early mortality and low growth rates of have been identified as critical drawbacks to the successful establishment of tree plantations in the Mediterranean (Cortina *et al.*, 2006). Previous studies aiming to improve woody seedling establishment in these areas have shown the effectiveness of using high-quality seedlings (Puértolas *et al.*, 2003; del Campo *et al.*, 2007a,b, 2011; Oliet *et al.*, 2009; Grossnickle, 2012; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2014), controlling for date of planting (Seifert *et al.*, 2006; Palacios *et al.*, 2009), implementing early growth promotion treatments (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006c, 2014; del Campo *et al.*, 2011; Villar-Salvador *et al.*, 2012) and mechanical soil preparation techniques (Thiffault and Roy, 2011), or their interaction effects (Palacios *et al.*, 2009; Ceacero *et al.*, 2012; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2014). In spite of the potential benefits of soil preparation, the direct effect on reforestation success is often unknown (Löf *et al.*, 2012). Site preparation involves the modification of soil structure and nutrient and water availability for seedling establishment (De Chantal *et al.*, 2004), depending on the texture and structure obtained (English *et al.*, 2005). In addition, weather affects soil temperature and moisture. Consequently, the date chosen to plant seedlings is an important but often overlooked factor affecting establishment (De Chantal *et al.*, 2003; Palacios *et al.*, 2009). While the effect of planting date, combined

with site preparation and seedling quality, has been studied widely under different ecological conditions, few studies have examined this effect under Mediterranean conditions (Royo *et al.*, 2000). Nursery researchers tend to study nursery treatments and planters tend to evaluate site preparation methods. Due to this fragmented approach, trials combining nursery with site preparation treatments are rare. Therefore, when identifying the primary effects of a soil preparation treatment, a direct quantification of the influence of other variables affecting seedling response is required. A greater understanding of the synergic effects of those factors limiting the growth and survival of forest plantations will help managers to design practices that optimize restoration success while minimizing costs.

The goal of this study is to address the combined effect of the planting date, site preparation and seedling quality on establishment, survival and growth of seedlings of *Pinus pinea* L., in an attempt to improve reforestation success under Mediterranean conditions. To achieve this objective, (1) simultaneously allowed for the effects of planting date (early, middle and late), seedling stock quality (two qualities) and soil preparation (manual and mechanical); and (2) related the direct measurements of survival and growth to those factors to optimized establishment conditions for reforestation practices in comparison with traditional techniques.

3.2. Materials and methods

3.2.1. Site description

The field trial was conducted in Aznalcollar (Seville, southern Spain, 37° 35' N, 2° 41' W, 300-400 m a.s.l), a site with a 30% slope and southern exposure (**Fig. 3.1**). The climate is a dry Mediterranean climate with a mean annual rainfall of 650 mm. Summers are hot and dry, with only 30–35 mm of precipitation falling between June and September, while winters are moderately warm and humid. Mean annual temperature during the trial was 17.5 °C. The rainfall, evapotranspiration, average temperature and air humidity were recorded from January 2002 to December 2003 with a data logger (HOBO Pro Series 8 Temperature and relative humidity) located in the study areas and averaged on a daily basis (**Fig. 3.2**).



Fig. 3.1.- Location of the experimental plot.

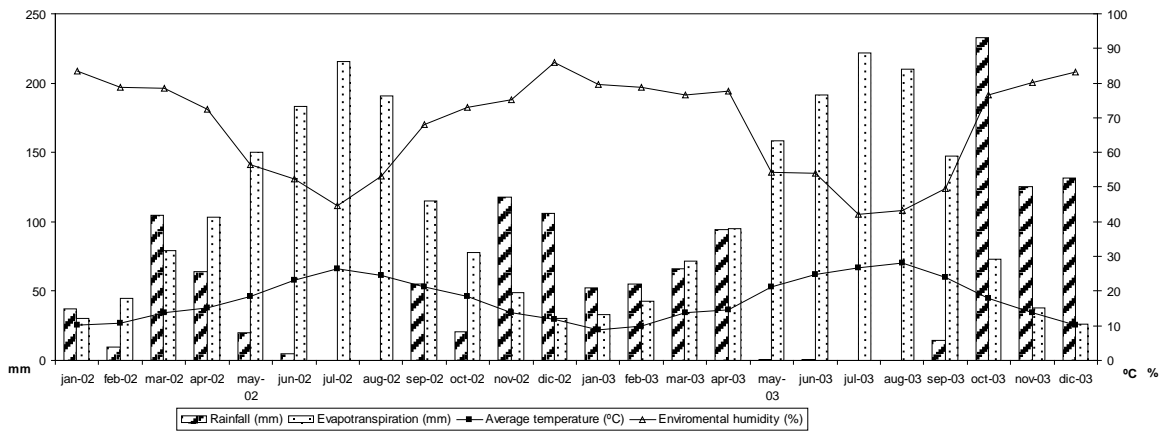


Fig. 3.2.- Climate conditions for plantation site (Aznalcollar, Spain) during the trial period January–December 2002 (P = 539.6mm; T = 17.28 °C, ETP = 1269.3mm) and January–December 2003 (P = 773.6mm; T = 17.81 °C; ETP = 1308.0 mm).

The soils, formed mainly of Precambrian and Palaeozoic schist rocks, are poorly developed because of erosion processes accelerated by human activities. As classified by Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 1998), the soil in the plots is a Eutric Regosol (AB_tC), with a very fine–grained and loamy texture (55.6% clay, 20.3% silt,

and 23.9% sand), and the mean bulk density of top soil (0–30 cm) was $1.60 \pm 0.10 \text{ g cm}^3$. Mean organic carbon content was 3.64% and pH (H₂O) was 4.4 (n=5).

In 1995 the trial area was damaged by fire and the dominant vegetation is composed of common post-fire species: *Cistus ladanifer* L., *C. populifolius* L., *Halimium ocymoides* (Lam.) Willk., *Erica australis* L., and *E. umbellata* Loefl. ex L.

3.2.2. Experimental design

To compare the effect of stock quality on seedling growth and survival, 11-month-old seedlings of *P. pinea* were cultivated using different fertilization regimes. They were grown in 300 cm³ containers (growing density: 283 plants m⁻², 190 mm depth) filled with peat-vermiculite (3:1 volume, fertilized peat Vapo D1k2) under two different fertilization regimes (monthly and weekly fertilization). Total fertilizer applied per plant during cultivation was: 1) low-quality seedling 60 mg N, 50 mg de P, y 40 mg de K during growth period (height 17.92 cm; diameter 4.09 mm; total dry mass 3.87 g, [N]: 9.2 mg g⁻¹); and 2) high-quality seedling 80 mg N, 60 mg de P, y 50 mg de K during growth period (height 31.30 cm; diameter 4.28 mm; total dry mass 4.68 g, [N]: 11.6 mg g⁻¹). Seedlings were fertilized by applications of a water-soluble fertilizer (N/P/K-120-50-100 mg l⁻¹ Agri Nova Science, Spain). The different cultivation parameters permitted classification into two different plant qualities (high and low) whose seedling quality attributes for each stock is available in **Table 3.1**.

The experiment was arranged as a multi-factorial design with two levels of soil preparation (i.e. manual digging and mechanical subsoiling), two levels of seedling quality (i.e. high and low) and three planting dates (i.e. early, medium and late), in a completely randomized block with 4 blocks and 20 tree replications per factorial combination, giving a total of 80 plants per treatment. Planting was done by hand in a rectangular plot following a regular spatial pattern distribution (1 x 2 m) in November 2001 (early date), and January 2002 (mid-date) and March 2002 (late season) with two types of seedling lots (stock quality, **Table 3.1**) in a three complete random block design. Two soil preparation treatments were carried out in September 2001. In the digging treatment, rectangular holes (40 x 40 x 40 cm) were dug 1 m apart with hoes immediately prior to planting. Mechanical subsoiling was done using rippers with a single tine to a depth of more than 50 cm. Treatments were fully randomized within each of the four separate blocks. Each experimental plot (50 m²) contained 25 seedlings, resulting in a total of 1200 seedlings.

Table 3.1.- Morphologic and physiologic quality attributes of *Quercus ilex* L. stocks. (mean; N=25 morphology, N=5 nutrient analysis).

	Low quality	High quality
Height (cm.)	17.92 ± 2.26	31.30 ± 3.06
Diameter (mm.)	4.09 ± 0.45	4.28 ± 0.73
Total leaf weight (g)	1.82 ± 0.38	2.12 ± 0.40
Shoot dry mass (g)	2.50 ± 0.52	3.22 ± 0.62
Root dry mass (g)	1.36 ± 0.31	1.45 ± 0.26
Total dry mass (g)	3.87± 0.80	4.68± 0.83
Shoot/Root	1.86 ± 0.20	2.24 ± 0.31
Height/Diameter	4.42 ± 0.65	7.50 ± 1.43
Dickson index *	0.64 ± 0.16	0.54 ± 0.12
N (mg g⁻¹)	0.92	1.16
P (mg g⁻¹)	0.07	0.10
K (mg g⁻¹)	0.20	0.43
Ca (mg g⁻¹)	0.53	0.91
Mg (mg g⁻¹)	0.59	0.70

* Ritchie, 1984

3.2.3. Seedling data collection

At the time of planting in November 2001, January 2002 and March 2002, all transplanted seedlings were tagged and their diameter (at ground level) and height (stretched distance from ground level to highest living bud) were measured. Seedling height, basal diameter, and survival were then measured in October 2002 and September 2003. Seedlings were considered dead if their shoot was brown and shriveled. Growth rate was computed as the difference in height (H) and diameter (D) between planting date and 2 strategic assessments in the first year after planting (Oct-02 and Sep-03).

3.2.4. Data analysis

To determine the influence of planting date, site preparation and stock quality on plant survival, contingency table analyses and binary logistic regression were used. All categorical variables (Date planting, site preparation and plant quality) were turned into *dummy* variables in order to insure the correct development and interpretation of the model. Variables were introduced into the model by the forward stepwise method based on the likelihood ratio (Hosmer and Lemeshow, 2000). Based on Wald statistics, every non-significant main effect

or interaction was removed at each step. The performance of the model was evaluated by the *log likelihood ratio* (Hosmer and Lemeshow, 2000), and by the rate of false positive (i.e., seedlings predicted to be alive but observed as dead) and false negative (seedlings predicted to be dead but observed as alive) cases. Nagelkerke R square was also calculated for the final models. Separate logistic regression models were carried out for each time survival was measured one and two years after planting. Survival and RGR were examined to insure that the assumptions of normality and homoscedasticity were met.

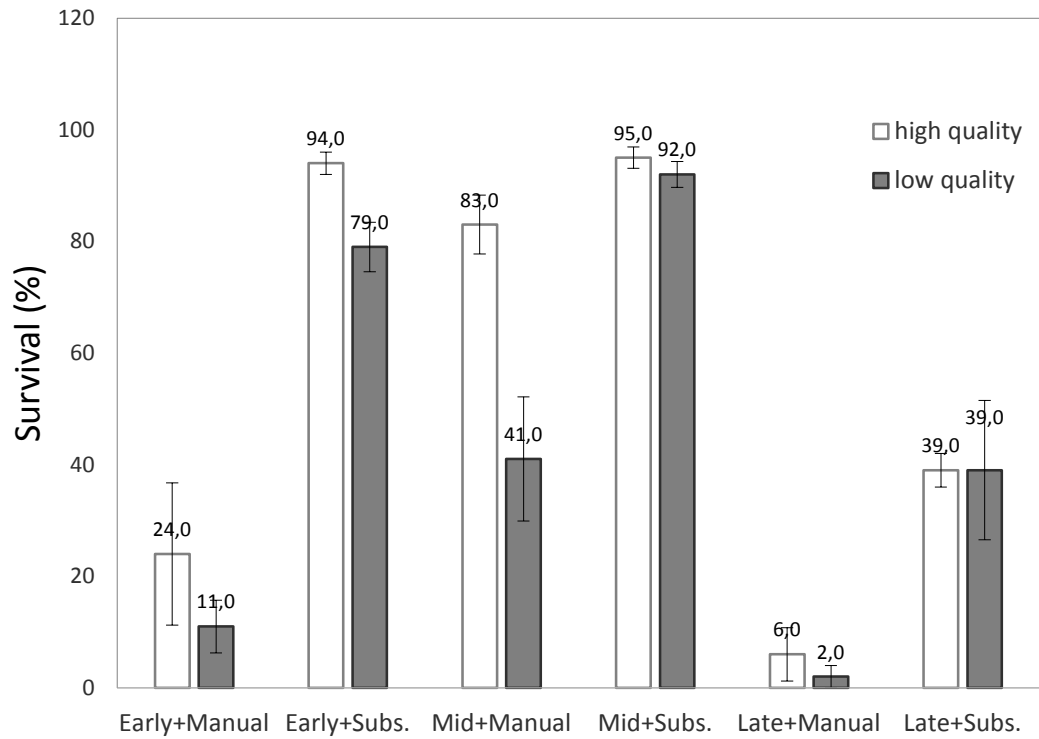
The effects of the variables studied on the RGR of height and diameter were tested with a multifactorial ANOVA. Differences between treatments were tested with Tukey's Post Hoc test. The effect of treatments on the variables measured was tested for significance at the 0.05 level. All statistical analyses were conducted with SPSS v.13.0.

3.3. Results

3.3.1. Seedling survival

After first summer after planting, high-quality seedlings planted at mid-season with the subsoiling preparation showed the best survival rates ($95 \pm 1.9\%$) (**Fig. 3.3.a**), followed by high-quality seedlings with subsoiling preparation planted at an early planting date ($94 \pm 2.0\%$) (**Fig. 3.3.a**). The lowest survival rates were obtained in low- and high-quality plants in manual holing preparation planted on a late date ($2 \pm 2.0\%$ and $6 \pm 4.7\%$, respectively) (**Fig. 3.3.a**). After second summer, this planting tendency lasted but only low-quality seedlings on a mechanical subsoiling preparation planted on a mid-season date underwent an important survival rate drop, falling to $60 \pm 17.4\%$ survival in the second year (**Fig. 3.3.b**).

a) seedlings survival after 1st summer



b) seedlings survival after 2nd summer

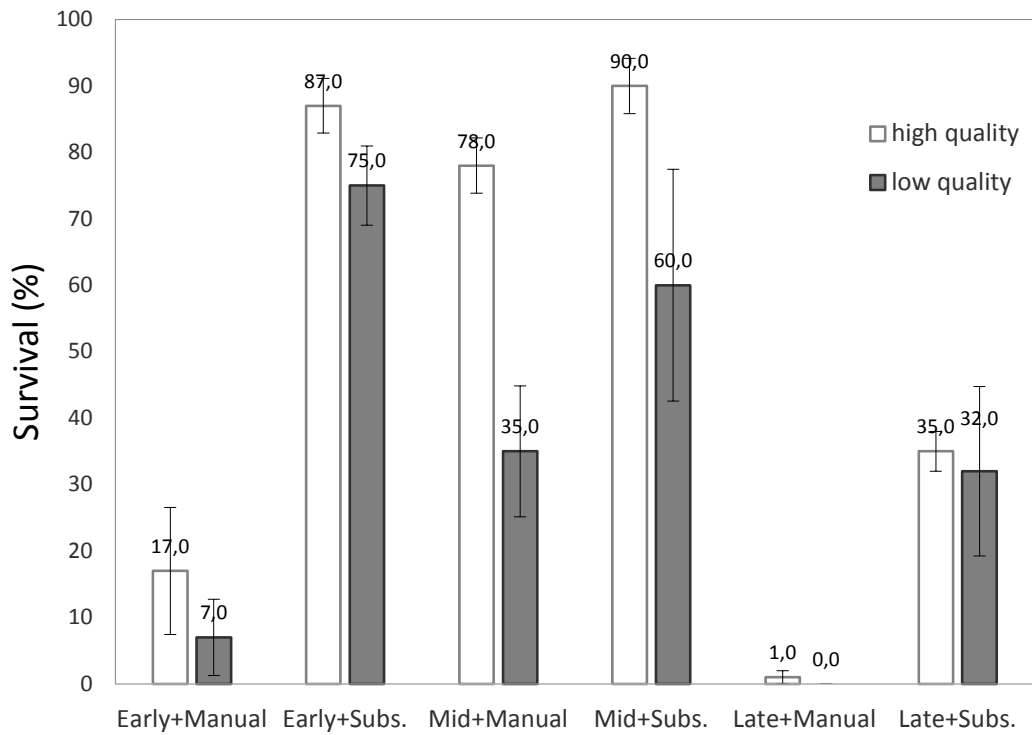


Fig. 3.3. Mean survival rate (%) of *Pinus pinea* seedlings planted in early, mid-season and late plantings over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings, after first (a) and second (b) summer after plantation. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

Table 3.2 shows the variables included in the survival model 1 year and 2 years after planting. The survival model performed for 1 year after planting was considered as being statistically significant, as shown in the associated likelihood ratio significance (**Table 3.2.a**), with over 57% of total variance was explained by the model and nearly 82% of the cases were predicted correctly. All the main factors studied, and some of the interaction factors, were considered as being statistically significant explicative variables of *P. pinea* survival. The planting date was the variable with a major influence on *P. pinea* survival after 1 year of being planted (**Table 3.2.a**). Attending to this variable individually, seedlings planted in mid-November had nearly 10 times more survival probability ($\text{Exp}(\beta)=9.90$; $P<0.001$) than seedlings planted on the early date (reference category), while seedlings planted on a late date ($\text{Exp}(\beta)=0.18$; $P<0.001$) had an 81.5% lesser survival probability than the early planting date. Site preparation was the next variable in importance to explain the survival after 1 year, estimating that the survival probability using mechanical subsoiling ($\text{Exp}(\beta)=44.34$; $P<0.001$) increased as much as 44 times in respect of manual holing. With regard to plant quality, the third variable entered in the model, low-quality seedlings ($\text{Exp}(\beta)=0.22$; $P<0.001$) showed around 78% lesser survival probability than high-quality seedlings.

Nevertheless, two interaction terms also resulted in being significant to the model, so the results shown above have to be fitted with the interaction term odds ratios. This indicates that survival probability related, for example, to the planting date, may be different if the seedlings correspond to high- or low- quality stock plant, or have been planted with mechanical subsoiling or with manual holing. So that if first we affirmed that seedlings planted in mechanical subsoiling have 44 times more survival probability than those planted in holes, this is only strictly true for a high-quality seedlings planted on an early date (reference categories), because if we consider the same quality of plant but planted on a mid-season date, this odds would be reduced to 5 ($\text{Exp}(\beta)=44.34$ $P=0.115$), and in the case of the late date, the estimated odds would be around 9 ($\text{Exp}(\beta)=44.34$ $P=0.208$).

Table 3.2.- *Pinus pinea* seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the site preparation, stock quality, and planting date models one year (a) and two years (b) after plantation.

Variable	β	S.E.	Wald	P	Exp(β)	95,0% C.I. for exp(β)	
						Lower	Upper
a) after 1st summer after plantation							
DP			135.925	p<0.001			
Mid-season	2.293	0.258	78.834	p<0.001	9.909	5.973	16.440
Late	-1.690	0.412	16.829	p<0.001	0.185	0.082	0.414
SP							
Mechanical subsoiling	3.792	0.307	152.417	p<0.001	44.348	24.289	80.970
PQ							
Low-quality	-1.510	0.221	46566	p<0.001	0.221	0.143	0.341
DP x SP			15.685	p<0.001	0.115	0.035	0.382
Mid-season x subsoiling	-2.163	0.613	12.460	p<0.001			
Late x subsoiling	-1.571	0.529	8.814	0.003	0.208	0.074	0.586
DP x SP x PQ			17.675	p<0.001			
Mid-season x subsoiling x low-quality	1.007	0.629	2.568	0.109	2.739	0.799	9.392
Late x subsoiling x low-quality	1.510	0.365	17.133	p<0.001	4.525	2.214	9.248
Constant	-0.978	0.201	23.622	p<0.001	0.376		
Likelihood ratio = 677.284; P< 0,001							
Nagelkerke R² = 0.575							
Correctly predicted = 81.8%							
b) after 2nd summer after plantation							
SP							
Mechanical subsoiling	3.766	0.307	150.713	p<0.001	43.205	23.682	78.823
DP			102.926	p<0.001			
Mid-season	2.463	0.276	79.381	p<0.001	11.736	6.827	20.173
Late	-3.345	1.028	10.592	0.001	0.035	0.005	0.264
DP x SP x PQ			15.162	0.001			
Mid-season x subsoiling x low-quality	-0.408	0.448	0.830	0.362	0.665	0.276	1.600
Late x subsoiling x low-quality	1.249	0.372	11.297	0.001	3.486	1.683	7.221
PQ							
Low-quality	-1.383	0.219	39.770	p<0.001	0.251	0.163	0.385
DP x SP			26.634	p<0.001			
Mid-season x subsoiling	-2.554	0.516	24.466	p<0.001	0.078	0.028	0.214
Late x subsoiling	0.437	1.075	0.165	0.684	1.548	0.188	12.733
Constant	-1.477	0.229	41.596	p<0.001	0.228		
Likelihood ratio = 602.421; P< 0,001							
Nagelkerke R² = 0.530							
Correctly predicted = 80.3%							

β : coefficients for the logistic regression for each variable, S.E.: standard error associated with each coefficient, Wald: Wald statistic used for significance tests, P: the probability associated with the Wald statistic, $\exp(\beta)$: the exponentials of β coefficients or odds ratio for each variable, and 95% C.I.: the confidence interval at 95% for the odds ratio. Variables abbreviations—PD: planting date; SP: soil preparation; PQ: plant quality.

Moreover, 2 years after planting, a statistically significant survival model (LR= 602.421; $P < 0,001$) was developed (**Table 3.2.b**). In this case, 53% of the total variance was explained by the model and around 80% of cases were predicted correctly. The variables included in the model were the same as those in the previous one, but their entry order was different. Thus, site preparation was the first variable incorporated into the model, followed by planting date. The second order interaction term (Planting Date x Soil Preparation x Plant Quality) entered the model before the main factor plant quality, and the first order interaction term (Planting Date x Soil Preparation) was entered in the last position.

3.3.2. Growth analyses

After one growing season, date planting ($F = 9.95$; $P < 0.001$) and site preparation ($F = 9.50$; $P = 0.002$) affected relative height growth rate. However the effect of each variable is not related to the other one ($F = 0.55$; $P = 0.575$) (**Fig. 3.4.a; Table 3.3.a**). Accordingly, one year after planting, subsoiling preparation seedlings were more numerous than holing seedlings, and seedlings planted on a mid-season date had better height growths than plants planted on early or late planting dates (Figure 3). The second year after planting, the tendency was similar, with planting date ($F = 6.57$; $P = 0.002$) and site preparation ($F = 5.99$; $P = 0.015$) as variables affecting the relative height growth rate, should considering the combined effect of them ($F = 4.27$; $P = 0.014$). The effect of plant quality on relative height growth rate was considered not to be statistically significant when estimating the variable individually, but, when contemplating planting date and site preparation, the plant quality effects seemed to be important both at one ($F = 3.65$; $P = 0.026$) and two years ($F = 4.19$; $P = 0.041$) after planting. Thus, high-quality seedlings planted on a mid-season date over a subsoiling preparation showed a higher relative height growth rate (4.65 ± 0.13 cm) after the first growing season. However, two years after planting, low-quality seedlings planted on a mid-season date over subsoiling preparation obtained the best height growths (15.71 ± 2.35 cm). Both high- and low-quality seedlings planted on a late date over manual holes showed the worst results (**Fig. 3.4.b; Table 3.3.b**).

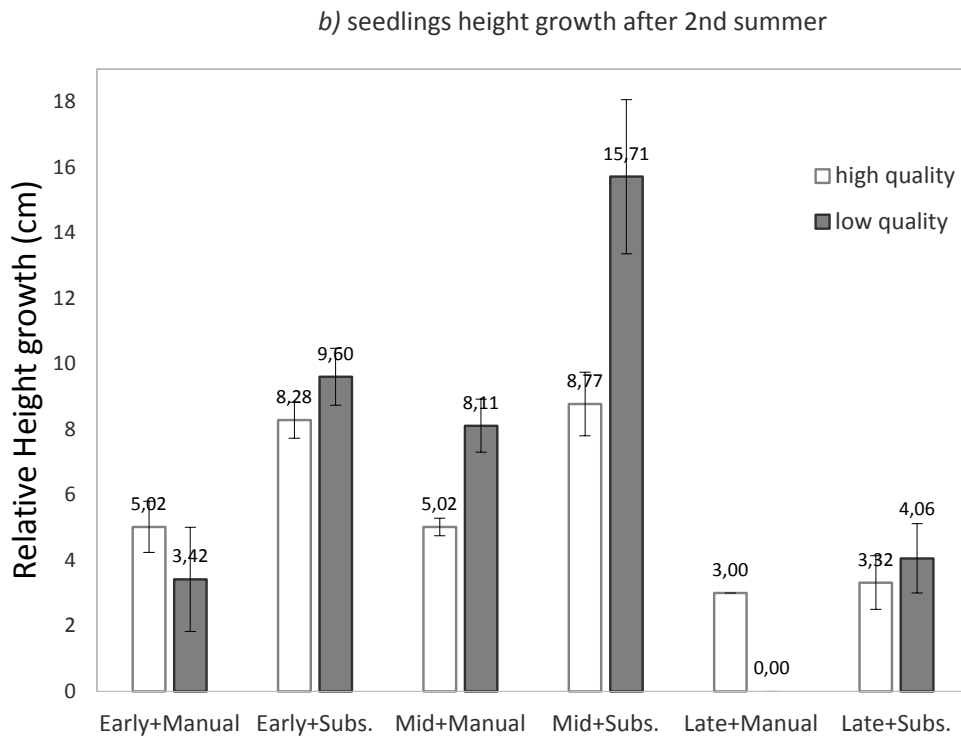
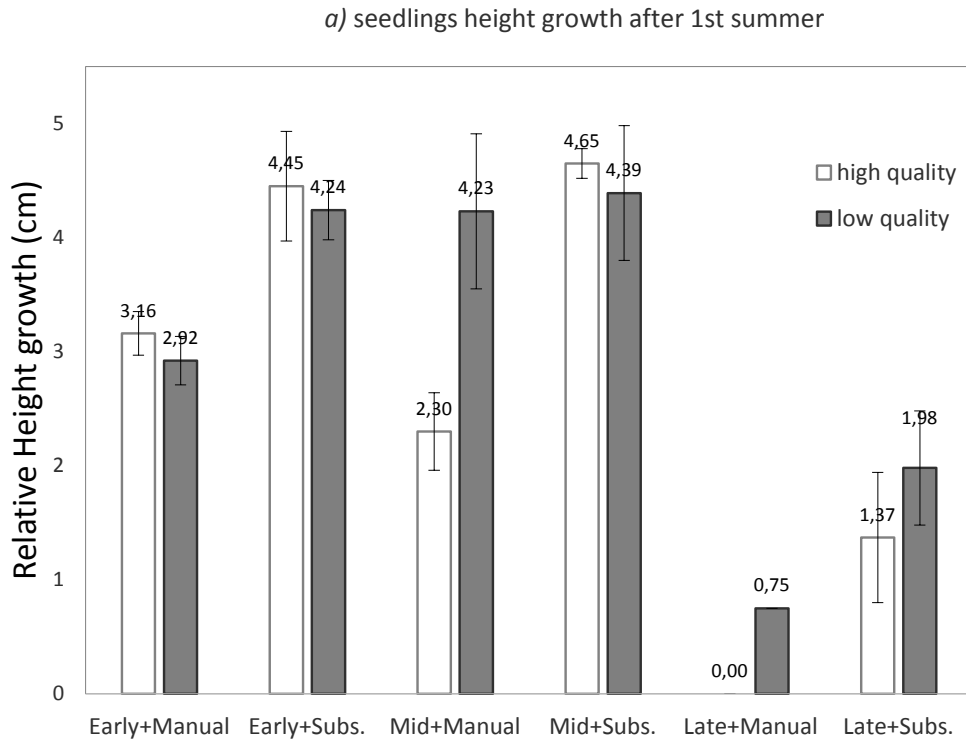


Fig. 3.4. Height growth rate (cm) of *Pinus pinea* seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings, one year (a) and two years (b) after plantation. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

Table 3.3. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on Relative Height Growth Rate one year (a) and two years (b) after plantation. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.

Variable	d.f.	Mean Square	F	P
a) after 1st summer after plantation				
Planting date (PD)	2	90.70	9.95	<0.001
Site preparation (SP)	1	86.56	9.50	0.002
Plant quality (PQ)	1	1.56	0.17	0.679
DP x SP	2	5.05	0.55	0.575
DP x PQ	2	31.40	3.44	0.032
SP x PQ	1	1.49	0.16	0.686
DP x SP x PQ	2	33.26	3.65	0.026
Corrected Model	11	80.96	8.89	<0.001
Intercept	1	1168.63	128.32	<0.001
Error	593	9.10		
Total	605			
Corrected Total	604			
*R² = 0.142 (fitted R² = 0.126)				
b) after 2nd summer after plantation				
Planting date (PD)	2	152.14	6.57	0.002
Site preparation (SP)	1	138.67	5.99	0.015
Plant quality (PQ)	1	23.62	1.02	0.313
DP x SP	2	16.13	0.69	0.499
DP x PQ	2	98.95	4.27	0.014
SP x PQ	1	54.98	2.37	0.124
DP x SP x PQ	1	97.19	4.19	0.041
Corrected Model	10	301.72	13.03	<0.001
Intercept	1	1885.62	81.46	<0.001
Error	506	23.14		
Total	517			
Corrected Total	516			
*R² = 0.205 (fitted R² = 0.189)				

Relative diameter growth rate of surviving seedlings after one growing season was affected by planting date (F=13.42; $P<0.001$), site preparation (F=27.13; $P<0.001$) and plant quality (F=34.95; $P<0.001$) (**Table 3.4.a**). As shown in **figure 3.5 (a, b)**, seedlings located in a subsoiling preparation generally had greater diameter growths than seedlings planted in holes. Similarly, planting carried out on a mid-season date, with seedlings of a high plant quality, showed the best diameter growth results. The planting date effect depends separately on site preparation (F=4.91; $P= 0.008$) and plant quality (F=4.25; $P= 0.015$), but none of these variables depends on the other (**Table 3.4.a**).

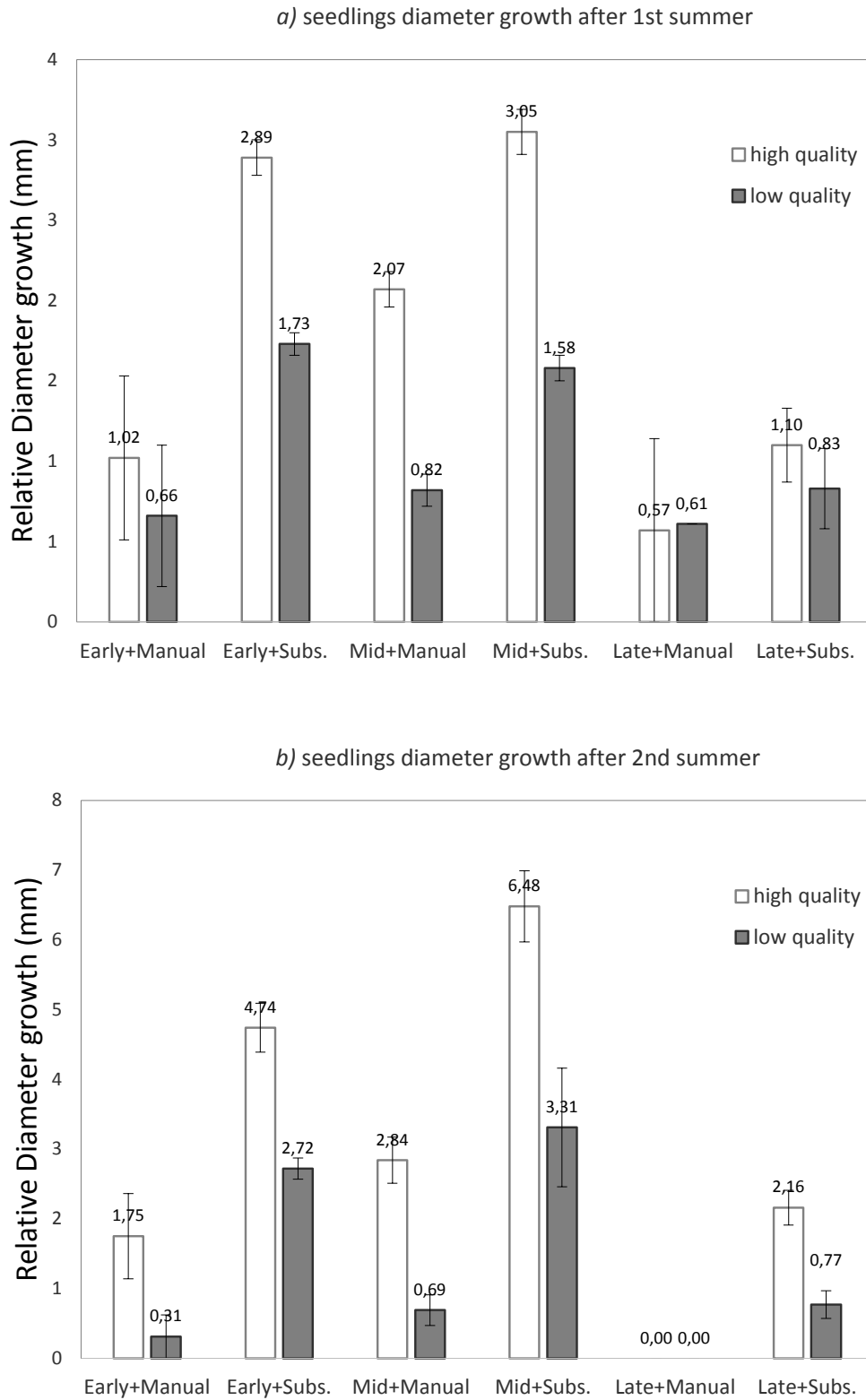


Fig. 3.5. Diameter growth rate (mm) of *Pinus pinea* seedlings planted in early, mid-season and late planting over manual holing or mechanical subsoiling (subs.), using high-quality or low-quality seedlings, one year (a) and two years (b) after plantation. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

The second year after planting, the three main variables continued to affect relative diameter growth rate, but the interactions were not considered statistically significant (**Table 3.4.b**). Therefore, the best results on the relative diameter growth rate corresponded to high-quality seedlings planted on a mid-season date over a subsoiling preparation, both after the first growing season (3.05 ± 0.14) and the second one (6.48 ± 0.51), while low-quality seedlings planted on a late date over manual holes showed the worst diameter growths (**Fig. 3.5.a,b**).

Table 3.4. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on Relative Diameter Growth Rate one year (a) and two years (b) after plantation. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.

Variable	d.f.	Mean Square	F	P
a) after 1st summer after plantation				
Planting date (PD)	2	152.14	6.57	0.002
Site preparation (SP)	1	138.67	5.99	0.015
Plant quality (PQ)	1	23.62	1.02	0.313
DP x SP	2	16.13	0.69	0.499
DP x PQ	2	98.95	4.27	0.014
SP x PQ	1	54.98	2.37	0.124
DP x SP x PQ	1	97.19	4.19	0.041
Corrected Model	10	301.72	13.03	<0.001
Intercept	1	1885.62	81.46	<0.001
Error	506	23.14		
Total	517			
Corrected Total	516			
*R² = 0.205 (fitted R² = 0.189)				
b) after 2nd summer after plantation				
Planting date (PD)	2	51.76	11.58	<0.001
Site preparation (SP)	1	84.47	18.90	<0.001
Plant quality (PQ)	1	209.99	47.00	<0.001
DP x SP	2	8.67	1.94	0.144
DP x PQ	2	5.10	1.14	0.320
SP x PQ	1	2.24	0.50	0.479
DP x SP x PQ	1	0.48	0.10	0.742
Corrected Model	10	172.43	38.59	<0.001
Intercept	1	253.15	56.66	<0.001
Error	506	4.46		
Total	517			
Corrected Total	516			
*R² = 0.433 (fitted R² = 0.422)				

3.4. Discussion

Our results showed that the planting date, site preparation and plant quality can significantly affect survival and growth of Mediterranean stone pine seedlings. There are not many studies including both nursery and field treatments in the same experiment design to explain survival and growth responses (Radoglou *et al.*, 2003; Palacios *et al.*, 2009; Na *et al.*, 2013).

The planting date was the variable with the greatest influence on plant survival after the first growing season, followed by site preparation and plant quality. However, this main effect was somewhat attenuated after the second growing season, in which the most important variable was site preparation. In view of the results obtained after the logistic regression analysis and the statistical significance achieved by the interaction terms, it would seem to be necessary to carry out a joint analysis of the variables studied, taking note for each independent variable, of the state of the rest of the variables analyzed. When taking into account the planting date, the best survival results were recorded for the mid-season and early dates, while the late date showed high mortality rates (**Fig. 3.3**). In previous studies made with conifers in Mediterranean environments, no significant differences were found between the different planting dates (South *et al.*, 2001), or it was concluded that the most suitable planting dates corresponded to the period between November and March (Jenkinson *et al.*, 1993). However, in this study, it was observed that in that planting period (November to March), the differences in survival and growth terms for different planting dates may be significant.

To see the effect of the planting date on the rest of the variables more clearly, the response of the plantation in terms of the soil preparation must be considered. In this case, and coinciding with results observed in diverse studies performed under different environmental conditions (Querejeta *et al.*, 2000; Karlson, 2002), preparation with mechanical subsoiling gave higher survival rates than that done with manual holing. Querejeta *et al.* (2001), in a study carried out in Mediterranean environments with different soil preparations, verified that mechanical preparations with subsoiling controlled runoff, favored infiltration and increased the soil water reserve more effectively than manual preparation, which, to a great extent, determined repopulation success. One of the major ecological factors acting on afforestation performance under Mediterranean climate is water availability (Ceballos *et al.*, 2004; Grossnickle, 2012)., and mechanical subsoiling effectively increased water penetration into

the soil (Querejeta *et al.*, 2001). However, the long duration of the dry season and the great rainfall variability within and between years are characteristic of Mediterranean areas (Infante *et al.*, 2003), so that the beneficial effect of an adequate site preparation could be reduced by a wrong choice of planting date.

In our particular case, between the months of May and September, 2002, there was hardly 80 mm of rain in the planting area, and seedlings planted on the late date (March, 2002) received some rain in April, but the next rainfall events in the area were not recorded until September (see **Fig. 3.2**). According to the planting dates, during the first growing season the difference in the total growing season duration between each planting date was two months, with the difference between the early and late planting being four months. So, the seedlings planted on the early and mid-season dates had a favorable period of time of 3 and 5 months, respectively, for their vegetative growth, mainly of their roots. However, the seedlings of the late date experienced a much less favorable period, which limited their capacity to uptake the scant water reserves available in the soil during the following prolonged drought period. Thus, it was observed how, in plantings with a manual holing preparation on a mid-season date, survival rates were higher than those recorded in planting over mechanical subsoiling carried out on the late date (**Fig. 3.3**). Normally, most of the water and nutrient absorption of pines is accomplished by the roots in the 30–40 cm surface of the profile (Nambiar, 1990), especially during the first months after planting. For that reason, and although the soil preparation made was very intensive, permitting the plant roots to grow deep down, the lack of a sufficient water supply during those first months, as well as the poor initial root growth, did not permit the plant to reach the deeper water reserves in the soil, greatly limiting their survival.

Focusing our interest on plant quality, it can be observed how, for different stock qualities, the same as for the rest of the variables, the survival differences found were considerably lesser than those recorded for plants of the same quality but planted on different dates or over different soil preparation. Similarly, while the differences found in survival terms between the early and mid-season planting dates were very few when a high-quality plant was used over a subsoiling preparation. These differences became highly significant when conditions were more unfavorable, with a low quality plant and manual holing. There are many studies conferring a principal role to plant quality with regard to survival and out-planting growth (del Campo *et al.*, 2007b), although others have not found any clear relation between plant quality and post-transplanting response (Cortina *et al.*, 2006). This disparity of

opinions is due to it not being possible to assess the effect of plant quality on the establishment of plantations as an isolated variable but jointly with the environmental factors and the repopulation techniques employed. In the logistic regression models, stock quality was the variable showing the least power of association with survival (Hosmer and Lemeshow, 2000). The results observed in our study show a generally better response of plantations in which high-quality plants were used. However, when the rest of the factors studied were very favorable (the case of mid-season date planting in subsoiling) or very unfavorable (late planting in holing and in subsoiling), the plant quality effect seems to weaken, which demonstrated the lesser power of association with seedling survival. However, it can be observed that when the planting date is less limiting (early and mid-season dates) and the second factor in importance acts unfavorably (manual holing), plant quality acquires a greater importance, the high-quality plant survival being around 50% greater than those of a low quality. This indicates the important influence of the planting date and site preparation on the effect of plant quality in survival probability.

The trend observed after the first growing season continued after the second one, the power of association of the planting date was reduced, and there was an increase in that of site preparation, which then became the main factor in survival. The weather conditions found previous to, and immediately after, planting are fundamental with respect to the initial survival of plants (Margolis and Brand, 1990; Sánchez-Gómez *et al.*, 2006; Ceacero *et al.*, 2012), but once the first growing season is over, their hydric state greatly depends on the soil's water retention capacity, as well as the seedlings' ability to develop roots, these factors being related to site preparation (Querejeta *et al.*, 2001; De Chantal *et al.*, 2004), and plant quality (Burdett, 1987; del Campo *et al.*, 2007a). Under strong water stress conditions like those recorded in this assay, the water accumulated in the deep areas of the soil may be the only reserve available to seedlings during drought periods. The summer of 2003 was even drier than that of 2002 (16 mm of rainfall accumulated between May and September), so that the development of a deep rooting system was essential for survival and growth under such extreme conditions (Querejeta *et al.*, 2001). Site preparation modifies soil properties such as surface layer structure, bulk density, aeration, temperature, and, consequently, the availability of nutrients and water (Prévost, 1992; De Chantal *et al.*, 2004; Löf *et al.*, 2012). A more intensive soil preparation permits greater root development so that the seedling can explore larger volumes of soil. Thus, during the summer period, deep rooting becomes increasingly important for the water uptake of pines as the surface soil dries out (Talsma and Gardner,

1986). It is precisely during the early stages of seedling development when deep rooting becomes more necessary in the case of exhaustion of the topsoil moisture (Mitchell and Correl, 1987).

The growth response of seedlings was different depending on the parameter studied. Thus, with regard to height growth, stock quality was the only main variable which was not statistically significant. However, stock quality was represented in the ANOVA test by first and second order interaction terms which, in fact, were statistically significant. In addition, when studying the diameter growth of the seedlings, it was observed that plant quality was statistically significant both for the first and the second growing seasons. Several studies consider that, of the non-destructive measurements of plant quality, the root-collar diameter was that most closely correlated with field performance, while the height and ‘sturdiness’ indices were not significantly correlated with field performance (South *et al.*, 2005; Dumrose *et al.*, 2009; Tsakalidimi *et al.*, 2013). Our results show how the influence of plant quality was concentrated in the root-collar diameter growth, whereas the height growth was less affected by it. These results coincide with those obtained by other authors, who affirmed that diameter was also the best predictor of several physical characteristics of root systems two years after planting (Grossnikle, 2012; Tsakalidimi *et al.*, 2013; Sigala *et al.*, 2015). With regard to planting date and site preparation, these exercised a similar influence on growth to that observed for survival, with the best results being found in the plant planted on a mid-season date over mechanical subsoiling, with worse ones in seedlings of late date on manual holing preparation. This response can be expected if it is taken into account that growth in general, and height in particular, is one of the first visible physiological process affected by water stress while other processes (as foliage reduction) becomes only visible months later (Dobbertin, 2005).

3.5. Conclusions

Planting date, site preparation and stock quality have shown to be factors determining the response of *Pinus pinea* in reforestation carried out in the Mediterranean area. However, in order to understand how these variables affect the survival and growth of the repopulations, these have to be studied and analyzed jointly, since the value or characteristic of just one of them affects the behavior of the rest.

Water availability in the first months after planting seems to be vital to the survival of seedlings. An intensive soil preparation gives a larger volume of soil which comes in useful to the plant, increasing its water availability. The effectiveness of manual holing in improving water availability is reduced by the scant volume of soil moved, which makes it difficult for the seedlings' roots to spread, so that they cannot uptake water from deeper horizons. However, if the use of mechanical means such as subsoiling can somehow limit the planting work on suitable dates, the carrying out of less intensive soil preparation, done on more favorable dates for the initial growth of the seedlings in the field, might be more efficient. The extraordinary variability of rainfall in the Mediterranean may cause a bad planting date choice to greatly jeopardize the survival of our plantation. A correct selection of planting date, mainly determined by the occurrence of rain both before and just after planting, plays an important role in plant survival. This effect, of the greatest importance during the first growing season, diminishes as time goes by, so that after the second growing season the planting date effect is smaller than after the first one.

3.6. Acknowledgements

This work was supported by the Agricultural, Fisheries and Food Department of Junta de Andalusia through the project “*Seguimiento del Programa de Forestación de Tierras Agrarias de Andalucía*”. The authors wish to thank Manuel Arroyo Saucés for the nursery survey information.

Capítulo 4

Root morphology traits response of Stone pine (*Pinus pinea* L.) and Holm oak (*Quercus ilex* L.) to site preparation, seedling quality and planting date

Abstract

Root growth and morphology have been hypothesized to be a key factor in seedling response. Seedling root quality and root response, in particular in Mediterranean species from drier environments, may allow seedling to reach deeper soil water more effectively than those with morphological restrictions, through faster root extension, more efficient depth penetration, and faster plant growth rates to respond rapidly to establishment stress. On this study, root morphology traits [total root length (RL, cm); surface root area (RSA, cm²); average root diameter (RAD, cm); total root volume (RV, cm³), and root tips (NT, uds)] and water potential (Ψ , MPa) of seedlings of *Pinus pinea* and *Quercus ilex* where compare as response to site preparation, seedling quality and plantations dates. One year after planting, high quality *Pinus pinea* seedlings planted in the middle of the season showed the highest survival rates (95%), over a subsoiling preparation, similar to those observed by the same seedling quality and soil preparation for *Quercus ilex* in early plantation (86%). On average, *Pinus pinea* allocated more biomass to roots than *Quercus ilex*, consistent with the expectation that plantation stress pressure selects for greater allocation to roots in more resisters' species. However, some establishment practices (e.g. soil preparation) promoted a faster root growth rates in both species. Both RV and NT were greater among seedlings established using more intensive soil preparation and middle plantation dates, and also differed between seedling quality stocks. Differences between root growth strategies appear to be associated with water plant use (e.g. xylem water potential). Plant root biomass and morphology have been modified by species and establishment techniques and the effects of these factors can supersede any seedling quality selection.

Key words: Reforestation, site preparation, seedling quality, planting date, root morphology, water potential, Mediterranean forests species.

4.1. Introduction

It is generally recognized that water availability is a major factor determining the distribution of plants throughout the world (Breshears *et al.*, 2009). In the Mediterranean climate regions both water and nutrients are the primary factors limiting plant activity and vegetation structure (Royo *et al.*, 2001; Seifert *et al.*, 2006; Grossnickle, 2012). Due to high spatial and temporal distribution of precipitation in these ecosystems, general resource availability is also considered to be highly episodic and unpredictable (Terradas, 1991; Maestre *et al.*, 2003; Valladares *et al.*, 2004). Thus, more than two-thirds of peninsular Spain belongs to the Mediterranean climate domain, which features at least two months of drought per year, hot and dry summers and moderately cold and wet winters (Ceballos *et al.*, 2004). Still, the main characteristic of Mediterranean climate is the temporal and spatial variability, being considered transition between subtropical desert zone and temperate zone (Rodo & Comín, 2001; Lebourgeois *et al.*, 2011). Few species can fulfill the requirements of the Mediterranean environment, which limits the choices for afforestation of lower altitude areas. These requirements are mainly tolerance to summer drought and high amounts of active limestone in soils and the ability to cope with occasional low temperatures in winter (Court-Picon *et al.*, 2004). *Quercus ilex* L. *ballota* (Desf.) Samp. (Mediterranean Holm oak) and *Pinus pinea* L. (Mediterranean Stone pine) are two of the most important woody species in the forest communities of the western Mediterranean basin (Sidari *et al.*, 2008; Palacios *et al.*, 2009). These species can be found forming pure or mixed stands, and their ranges overlap along a south to north rainfall gradient ranging from 400 to 1000 mm yr⁻¹. Stone pine can be considered to be a pioneer or early successional species occupying more xeric and exposed areas, building stable ecosystems on degraded land (Gil & Prada, 1993; MAGRAMA, 2011) and has ecological, social and economic value (Dominguez-Lerena *et al.*, 2006). As for *Quercus ilex* L., the use of this evergreen sclerophyllous tree in the Spanish reforestation programs has strongly increased in the last 10 years overcoming *Pinus* species, which were widely used in the past (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005; Jimenez *et al.*, 2013). While *Quercus ilex* L. is comparatively considered a late successional species, often found on more mesic areas (Perez-Ramos *et al.*, 2013), seedlings often have lower survival and growth in plantations when compared with other Mediterranean woody species like *Pinus spp.* (Pausas *et al.*, 2004; del Campo *et al.*, 2011). This indicates that *Quercus ilex* L. is very vulnerable to stress factors during their early life stages, especially during the first summer drought (Villar-Salvador *et al.*, 2004; Ceacero *et al.*, 2012). Shading and irrigation in

the field can enhance its post-planting performance (Puerta-Pinero *et al.*, 2007) but greatly increases reforestation costs.

Thus, early mortality and low growth rate has been identified as critical factors for successful plantation establishment in Mediterranean areas, and several factors may act synergistically to influence plant performance (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a), including environment, handling, morphology and physiology of seedlings (South, 2000; Villar-Salvador *et al.*, 2012). Each of these factors has an influence and interacts with the others implicated factors (Barbera *et al.*, 2005; del Campo *et al.*, 2007a; Oliet *et al.*, 2009), that which should be considered when a reforestation is evaluated.

To understand the prediction of the response of the plant when analysing the success of reforestation actions, some studies have used relations between some morphological and physiological attributes of seedlings (initial height, initial diameter, morphology of the root system) and its field response (Puertolas *et al.*, 2003; de Chantal *et al.*, 2004;). However, during the establishment phase, the interface between the root system and soil becomes the key factor controlling the transfer of water and nutrients to the roots (Altman *et al.*, 2012; Currey *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013; Na *et al.*, 2013). One of the many mechanisms of plants to tolerate drought is having an efficient absorption system (del Campo *et al.*, 2007b; Tsakalidimi *et al.*, 2013). The increased root density and root depth is considered as the most important mechanism in improving water absorption (Poorter *et al.*, 2012; Trubat *et al.*, 2012). This may be related to the influence that the depth of the root system on survival in dry places (del Campo *et al.*, 2007b; Varone *et al.*, 2012). However, few studies have showed that relationship for Mediterranean forest species.

In this study, we present a real-scale study of root development response of two Mediterranean species (*P. pinea* and *Q. ilex*), and its influence in the seedlings establishment related to date planting, soil preparation and plant quality treatments. In previous chapters we have suggested that there has been a differential response of seedling to establishment conditions along plantations dates. Thus, root morphology and growth may shifts associated with those conditions should be apparent in comparisons between species and establishment factors under common conditions. We concentrated on seedlings because this is the stage at which plants are most sensitive to establishment conditions for reforestation practices, and hence, strategies evolved in response to water deficits should be apparent at this stage. We tested two hypotheses on root adaptations to establishment conditions: i) *Pinus* species have

greater root adaptability than *Quercus* species; ii) Those specific response will be modified by establishment factors allowing more efficiently use of deeper water and faster growth rates.

4.2. Materials and methods

4.2.1. Site description

Planting was conducted in Aznalcollar (Sevilla, south of Spain, 37° 35' N, 2° 41' W, 300-400 m a.s.l) on a 30% medium slope site with south exposition exposure (**Fig. 2.1, Chapter 2**). The area has a dry Mediterranean climate with an average annual rainfall of 650 mm with hot and dry summers (30-35 mm of average summer precipitation between June and September) and warm winters. Mean annual temperature is 15.2 °C The rainfall, evapotranspiration, average temperature and air humidity were recorded from January 2002 to December 2003 with a data logger (HOBO Pro Series 8 Temperature and relative humidity) located in the study areas and averaged on a daily basis (**Fig. 2.2, Chapter 2**). No watering was done during the test in order to reproduce real afforestation conditions.

The area was damaged by fire 5 years before the establishment of the trial and the dominant vegetation was composed by common post-fire species *Cistus ladanifer* L., *C. populifolius* L., *Halimium ocymoides* (Lam.) Willk., *Erica australis* L. and *E. umbellata* Loefl. ex L.

The soils, formed mainly of Precambrian and Palaeozoic schist rocks, are poorly developed because of erosion processes accelerated by human activities. These materials are much refolded and intense schistose. They are generally loamy slates of very fine grain, with reddish colours when they are altered or grey in fresh rock. Gritty ones present clearer colours and appear inserted among the slates in strata with few lateral continuity and scarce thickness (5 to 20 cm.). Following Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO, 1998), the soil in the plots is a Eutric Regosol (AB_tC), with a very fine-grained and loamy texture (55.6% clay, 20.3% silt, and 23.9% sand), and the mean bulk density of top soil (0–30 cm) was $1.60 \pm 0.10 \text{ g cm}^3$. Mean organic carbon content was 3.64% and pH (H₂O) was 4.4 (n=5).

4.2.2. Experimental design

Quercus ilex L. and *Pinus pinea* L. seedlings were cultivated in two nurseries until 11 months old under different cultivation regimes (**Table 4.1**). Fertirrigation programs, determine nutritional status of seedlings being carried out weekly on nursery with high-quality plants, while on nursery with low-quality ones were achieved monthly (case of *P. pinea*). Containers dimensions are also an important cultivation factor, determining root system development (case of *Q. ilex*). Also we have to note plant with low-quality suffered frost damage two months before the plantation, influencing on the low values related with shoot nutrients (**Table 4.2**).

Pinus pinea seedlings were grown in 300 cm³ Plasnor® containers (growing density: 283 plants m⁻², 190 mm depth) filled with peat-vermiculite (3:1 volume, fertilized peat Vapo D1k2) under two different fertilization regimes, monthly for low-quality seedlings and weekly fertilization for high quality seedlings. Total fertilizer applied per plant during cultivation was: 1) low-quality seedlings: 60 mg N, 50 mg de P, y 40 mg de K during growth period; and 2) high-quality seedlings 80 mg N, 60 mg de P, y 50 mg de K during growth period. Seedlings were fertilized by applications of a water-soluble fertilizer (N/P/K 120-50-100 mg l⁻¹ Agri Nova Science, Spain).

Quercus ilex high-quality seedlings were grown in 300 cm³ Plasnor® containers (growing density 283 plants m⁻², 190 mm depth), using peat-vermiculite (3:1 volume) as substrate. Nutrients were supplied as a N-P-K (New Plant, 16-16-16) slow release fertilizer mixed in the peat (1 kg m⁻³ of peat), which contained 48 mg N, 48 mg P, and 48 mg K per seedling. Low-quality seedlings were grown in 250cm³ Arnabat® containers (density 378 plants m⁻², 140 mm depth), using pure peat (Kekila D1K2). Nutrients were supplied as a N-P-K (Perk, 4-0-10) slow release fertilizer mixed in the peat (1 kg m⁻³ of peat), which contained 8 mg N, 0 mg P and 20 mg K per seedling.

The different cultivation parameters permitted classification into two different plant qualities (high and low) whose seedling quality attributes for each stock is available in **Table 4.2**.

Table 4.1.- Nursery cultivation regime parameters

	Low quality	High quality
Altitude (m a.s.l.)	730	970
Exposition	Plain	Valley
Container type	Arnabat-stiff (a) / Plasnor-soft (b)	Plasnor-soft (a,b)
Growing density	378 (a) / 283 (b) plants/m ²	283 plants/m ² (a,b)
Container high	140 (a) / 190 (b) mm	190 mm (a,b)
Container volume	250 (a) / 300 (b) cm ³	300 cm ³ (a, b)
Substratum	Peat (a) Peat + Vermiculite (3:1) (b)	Peat + Vermiculite (3:1) (a,b)
Fertilization	Slow release (4-0-10) (a) Monthly fertirrigation (b)	Slow release (16-16-16) (a) Weekly fertirrigation (b)

a) *Quercus ilex*; b) *Pinus pinea*

Table 4.2.- Morphologic and physiologic quality attributes of seedling stocks (mean ± standard error)

	<i>Quercus ilex</i>		<i>Pinus pinea</i>	
	Low	High	Low	High
Height (cm.)	13.80 ± 4.18	23.81 ± 2.69	17.92 ± 2.26	31.30 ± 3.06
Diameter (mm.)	4.12 ± 0.91	5.12 ± 0.61	4.09 ± 0.45	4.28 ± 0.73
Total leaf weight (gr.)	1.40 ± 0.42	2.11 ± 0.51	1.82 ± 0.38	2.12 ± 0.40
Shoot dry mass (gr.)	1.98 ± 0.60	3.22 ± 0.71	2.50 ± 0.52	3.22 ± 0.62
Root dry mass (gr.)	4.34 ± 1.61	4.00 ± 0.83	1.36 ± 0.31	1.45 ± 0.26
Total dry mass (gr.)	6.32 ± 2.16	7.23 ± 1.21	3.87 ± 0.80	4.68 ± 0.83
Shoot/Root	0.48 ± 0.11	0.84 ± 0.25	1.86 ± 0.20	2.24 ± 0.31
Slimness	3.40 ± 0.94	4.69 ± 0.61	4.42 ± 0.65	7.50 ± 1.43
Dickson index *	1.65 ± 0.71	1.31 ± 0.31	0.64 ± 0.16	0.54 ± 0.12
N (% weight)	0.98	1.27	0.92	1.16
P (% weight)	0.09	0.12	0.07	0.10
K (% weight)	0.52	0.55	0.20	0.43
Ca (% weight)	0.86	1.03	0.53	0.91
Mg (% weight)	0.38	0.49	0.59	0.70

*(Ritchie, 1984)

The experiment was arranged as a multi-factorial design with three levels of date plantation (early, medium and late), two levels of site preparations (manual pitting and mechanical subsoiling) and two levels of quality of plant (high and low) (twelve treatments). Two site preparation treatments were carried out by level curves every 2 m, manual pitting and mechanical subsoiling. In the manual pitting, rectangular holes (40 x 40 x 40 cm) separated 1 m were dug with hoes. The holes were made just before the plantations. The mechanical subsoiling was made using a ripper with a single tine, to a depth of more than 50 cm. This work was made on September 2001. Plantations were carried out on different dates November 2001 (early), January 2002 (medium) and March 2002 (late). Treatments were fully randomized within each block separately, with four blocks on the site. Each plot (50 m²) contained 25 seedlings, resulting in a total of 2400 seedlings. Treeshelters were used to protect seedlings for damages not controlled in the experiment.

TDR (Time Domain Reflectometry, TDR100, Campbell Scientific) probes were installed to register soil moisture measurement with a data-logger (CR10X Campbell Scientific). Probes were installed at 30 cm and 60 cm depth both in mechanical subsoiling preparation, as in manual holing one. Data were recorded from late planting reforestation works until the end of the first summer of the trial (**Fig. 4.1**).

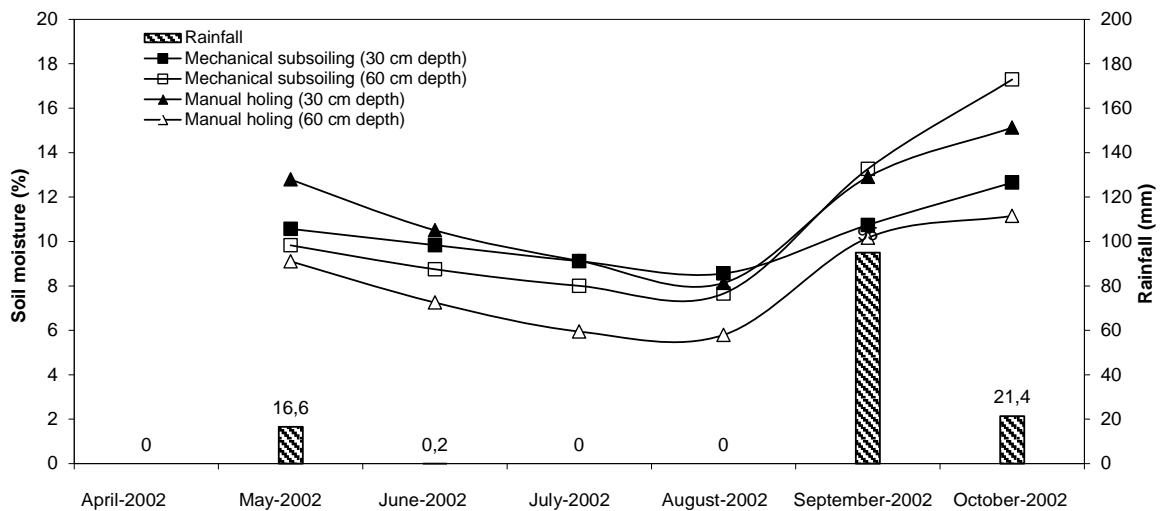


Fig. 4.1.- Soil moisture measurements registered in Mechanical Subsoiling preparation and Manual Holing preparation, measured at 30 cm and 60 cm depth.

4.2.3. Seedling and root collection and analysis

At the time of planting in November 2001, January 2002 and March 2002, all transplanted seedlings were tagged and their diameter (at ground level) and height (stretched distance from ground level to highest living bud) were measured. Seedling height, basal diameter, and survival were then measured in November 2002 and 2003. Seedlings were considered dead if their shoot was brown and shriveled. Growth rate was computed as the difference in height (H) and diameter (D) between planting date and 2 strategic assessments in the first year after planting (Nov-02 and Nov-03).

Representative samples from each studied treatment were lifted, and analyzed in laboratory, on three different dates: a) before first summer after plantation, b) after first summer, c) after second summer period after plantation. Thus five seedlings of each treatment were completely extracted from soil with whole root systems using little hoes and chisels to ensure that complete root systems were taken out. Roots were kept on cool box preserving their water content and structure until their analyses. In laboratory roots were cleaned with water eliminating any soil, and then root segments of each root sample were evenly spread apart and scanned using a high resolution scanner. Root images were analyzed to assess root morphology traits [total root length (RL, cm); surface root area (RSA, cm²); average root diameter (RAD, cm); total root volume (RV, cm³), and root tips (NT, uds)] by using WinRHIZO software (V3.0, Regent Instruments, Quebec, Canada).

4.2.4. Field xylem water potential measurements

During the period of increased water limitation (summer) and while there was live plant availability, a double daily measurement of water potential was realized, predawn (Ψ_{pd}) and midday (Ψ_m) needle water potential were measured periodically using a pressure chamber (SKPM 1400, Skye Instruments) (Scholander *et al.*, 1965). Measurements of field xylem water potential were conducted on a random sample of 4 plants per treatment in plants with adequate development or all of the aerial part of the plant if its size allowed, maintaining a similar size and a large amount of leaves about stem in each test (Pallardy *et al.*, 1991). Measures took place on August 2002.

4.2.4. Data analysis

Root morphology traits (RL, RSA, RAD, RV and NT) and field xylem water potential data were examined to ascertain that the variables were normally distributed and the variances were homogeneous, and data were transformed in cases where it was necessary to ensure compliance with the requirements of the applied analysis: normality and homoscedasticity.

All these variables were analyzed with a One-way factor ANOVA model with date plantation, site preparations and seedling quality as random effect. Where significant differences were indicated, means were separated by Tukey's Studentized range test applied at $\alpha = 0.05$ (Quinn and Keough, 2002). After proving the data, in any case we did detect a significant block effect. The significance level used in all cases was 95%.

To determine the influence of planting date, site preparation and seedling quality on plant survival, contingency table analyses and binary logistic regression were used. All categorical variables (date planting, site preparation and plant quality) were turned into *dummy* variables in order to insure the correct development and interpretation of the model. Variables were introduced into the model by the forward stepwise method based on the likelihood ratio (Hosmer & Lemeshow, 2000). Based on Wald statistics, every non-significant main effect or interaction was removed at each step. The performance of the model was evaluated by the *log likelihood ratio* (Hosmer & Lemeshow, 2000), and by the rate of false positive (i.e., seedlings predicted to be alive but observed as dead) and false negative (seedlings predicted to be dead but observed as alive) cases. *Nagelkerke R square* was also calculated for the final models. Separate logistic regression models were carried out for each specie after one growing season. Also separate multivariate ANOVA models were carried out for *P. pinea* and *Q. ilex* growth response analysis. Survival and RGR were examined to insure that the assumptions of normality and homoscedasticity were met. All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics v.19 software (SPSS Inc. IBM Co., Chicago, Illinois, USA. 2010).

4.3. Results

4.3.1. Survival analyses

After first growing season, holm oak high-quality seedlings planted on early date over subsoiling preparation showed the best survival rates, obtaining $86 \pm 4.8\%$ (n=100), followed

by the same quality plant and soil preparation treatments at a mid-season planting date ($66 \pm 10.9\%$; $n=100$) (**Fig. 4.2.a**). Worst survival rate was shown by high-quality plants in holing preparation planted at a late date, with hardly any survivors (0%), followed by low-quality plants planted on the same date and preparation with $4 \pm 1.63\%$ ($n=100$; **Fig. 4.2.a**).

In case of stone pine, high quality seedlings planted at mid-season with the subsoiling preparation showed the best survival rates ($95 \pm 1.9\%$; $n=100$), followed by high quality seedlings with subsoiling preparation planted at an early planting date ($94 \pm 2.0\%$; $n=100$) (**Fig. 4.2.b**). The lowest survival rates were obtained in low- and high-quality plants in holing preparation planted on a late date, presenting $2 \pm 2.0\%$ ($n=100$) and $6 \pm 4.7\%$ ($n=100$) respectively (**Fig. 4.2.b**).

To analyze the effect of studied variables on survival, statistically significant logistic regression models were developed for holm oak (LR=366.890; $P<0.001$) (**Table 4.3**) and stone pine (LR=677.284; $P<0.001$) (**Table 4.4**).

In the case of holm oak, the model explained almost 36% of total variance and around 72% of cases were predicted correctly. Two of the main factors, planting date and soil preparation, and two of the first order interaction factors, planting date (PD) x soil preparation (SP), soil preparation (SP) x plant quality (PQ), and second order interaction factor, planting date (PD) x soil preparation (SP) x plant quality (PQ), were considered as being statistically significant explicative variables of *Quercus ilex* L. survival (**Table 4.3**).

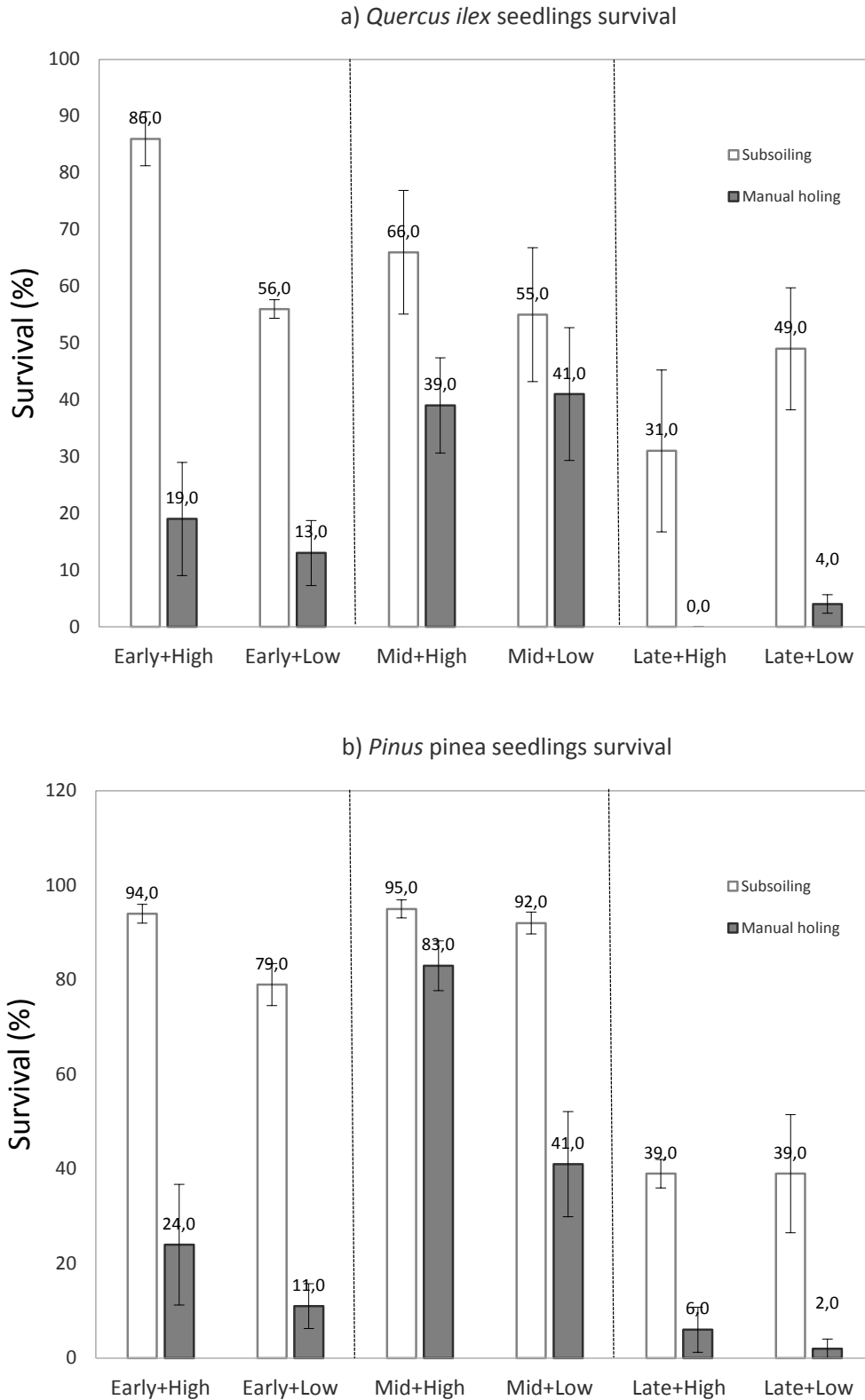


Fig. 4.2.- Mean survival rate (%) of *Quercus ilex* (a) and *Pinus pinea* (b) seedlings planted in early, mid-season and late plantings over manual holing or mechanical subsoiling, using high-quality or low-quality seedlings, after first growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

Table 4.3.- *Quercus ilex* seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the planting date, site preparation and plant quality models after one growing season.

Variable	β	S.E.	Wald	p	Exp(β)	95.0% C.I. for Exp(β)	
						Lower	Upper
PD			66.494	p<0.001			
Mid-season	1.049	0.272	14.832	p<0.001	2.854	1.674	4.866
Late	-3.649	0.637	32.791	p<0.001	0.026	0.007	0.091
SP							
Mechanical subsoiling	3.223	0.299	116.566	p<0.001	25.109	13.987	45.077
PD x SP			45.979	p<0.001			
Mid-season x Mechan. subs.	-1.776	0.326	29.606	p<0.001	0.169	0.089	0.321
Late x Mechan. subs.	1.260	0.596	4.464	0.035	3.526	1.095	11.351
SP x PQ							
Mechan. subs. x low-quality	-1.189	0.256	21.51	p<0.001	0.305	0.184	0.503
PD x SP x PQ			27.359	p<0.001			
Mid-seas. x M. subs. x low-quality	0.400	0.242	2.728	0.099	1.492	0.928	2.400
Late x subs. x low-quality	1.992	0.381	27.346	p<0.001	7.330	3.474	15.464
Constant	-1.658	0.193	73.912	p<0.001	0.190		

Likelihood ratio = 366.890

p< 0.001

Nagelkerke R² = 0.358

Correctly predicted = 72.3%

β : coefficients for the logistic regression for each variable, S.E.: standard error associated with each coefficient, Wald: Wald statistic used for significance tests, p: the probability associated with the Wald statistic, exp(β): the exponentials of β coefficients or odds ratio for each variable, and 95% C.I.: the confidence interval at 95% for the odds ratio.

Variables abbreviations – PD: planting date; SP: soil preparation; PQ: plant quality.

Based in *odds ratio* (Exp (β)) analysis, planting date was the variable that had a major influence on *Quercus ilex* L. seedling survival after first growing season (**Table 4.3**). Considering this variable alone, seedlings planted in mid-season (January) were almost 3 times more likely to survive (Exp(β)=2.854; P<0.001) than seedlings planted on an early date (reference category). Meanwhile, seedlings planted on an early planting date (November) has upper than 38 times more survival probability (Exp(β)=0.026, and 1 / 0.026= 38.461; P<0.001) than seedlings planted on late date (March). Site preparation was the next variable in importance to explain the survival after first growing season, estimating that the survival probability using mechanical subsoiling (Exp(β)= 25.109; P<0.001) increased as much as 25

times compared to manual holing. Plant quality was not considered in the model as being an important variable, as it displayed a scant influence on plant survival when considered alone. However, plant quality entered the model associated with the planting date and soil preparation, as an interaction term.

The effect on *Quercus ilex* L. seedling survival of three main variables studied, including plant quality, also resulted in being significant in the model as interaction terms, so the results shown above had to be fitted to the interaction term “odds ratios”. This indicates that survival probability related, for example, to the planting date, may be different if the seedlings correspond to high- or low-quality plants, or have been planted with mechanical subsoiling or with manual holing. So, although it was first affirmed that seedlings planted in mechanical subsoiling had 25 times more survival probability than those planted in holes, this was only strictly true for a high-quality seedling planted on an early date (reference categories), because if it is considered the same plant quality but planted on a mid-season date, this estimated odds decreased to 4.2 ($\text{Exp}(\beta) = 25.109 \cdot 0.169$), and, in the case of a late date, the estimated odds rises above 88 ($\text{Exp}(\beta) = 25.109 \cdot 3.526$). Following procedure *odds ratio* may be adjusted depending on the value of each studied variable (**Table 4.3**).

Pinus pinea L. survival model, meanwhile, explained more than 57% of total variance and nearly 82% of the cases were predicted correctly. All the main factors studied, and some of the interaction factors, were considered as being statistically significant explicative variables of stone pine seedlings survival. The planting date was the variable with a major influence on survival after first growing season (**Table 4.4**). Attending to this variable individually, seedlings planted in mid-November had nearly 10 times more survival probability ($\text{Exp}(\beta) = 9.90$; $P < 0.001$) than seedlings planted on the early date (reference category), while seedlings planted on a late date ($\text{Exp}(\beta) = 0.185$; $P < 0.001$) had an 81.5% ($1 - 0.185$) lesser survival probability than the early planting date. Site preparation was the next variable in importance to explain the survival, estimating that the survival probability using mechanical subsoiling ($\text{Exp}(\beta) = 44.34$; $P < 0.001$) increased as much as 44 times in respect of manual holing. With regard to plant quality, the third variable entered in the model, low-quality seedlings ($\text{Exp}(\beta) = 0.22$; $P < 0.001$) showed around 78% lesser survival probability than high-quality seedlings. Also in *Pinus pinea* L. survival model, two interaction terms also resulted in being significant to the model, so the results shown above must to be fitted with the interaction term *odds ratios*.

Table 4.4.- *Pinus pinea* seedlings survival analysis presenting logistic regression coefficients and the significance level for the planting date, site preparation and plant quality models after one growing season.

Variable	β	S.E.	Wald	p	Exp(β)	95.0% C.I. for Exp(β)	
						Lower	Upper
PD			135.925	p<0.001			
Mid-season	2.293	0.258	78.834	p<0.001	9.909	5.973	16.440
Late	-1.690	0.412	16.829	p<0.001	0.185	0.082	0.414
SP							
Mechanical subsoiling	3.792	0.307	152.417	p<0.001	44.348	24.289	80.970
PQ							
Low-quality	-1.510	0.221	46.566	p<0.001	0.221	0.143	0.341
PD x SP			15.685	p<0.001			
Mid-season x Mechan. subs.	-2.163	0.613	12.460	p<0.001	0.115	0.035	0.382
Late x Mechan. subs.	-1.571	0.529	8.814	0.003	0.208	0.074	0.586
PD x SP x PQ			17.675	p<0.001			
Mid-seas. x M. subs. x low-quality	1.007	0.629	2.568	0.109	2.739	0.799	9.392
Late x subs. x low-quality	1.510	0.365	17.133	p<0.001	4.525	2.214	9.248
Constant	-0.978	0.201	23.622	p<0.001	0.376		
			Likelihood ratio = 677.284	p< 0.001			
				Nagelkerke R² = 0.575			
				Correctly predicted = 81.8%			

β : coefficients for the logistic regression for each variable, S.E.: standard error associated with each coefficient, Wald: Wald statistic used for significance tests, p: the probability associated with the Wald statistic, exp(β): the exponentials of β coefficients or odds ratio for each variable, and 95% C.I.: the confidence interval at 95% for the odds ratio.
Variables abbreviations – PD: planting date; SP: soil preparation; PQ: plant quality.

4.3.2. Root growth analyses

In the case of holm oak seedlings, planting date and site preparation affected root growth response during the first growing season, as shown in the ANOVA analysis (**Table 4.5**). Seedlings planted over subsoiling preparation present best root growth response than seedlings over manual holes, and seedlings planted on a mid-season date had better root growths than plants planted on early or late planting dates (**Fig. 4.3**). Also, plant quality affected RSA (P=0.041) and RV (P=0.003), and its effect is related to the planting date effect

on RAD ($P=0.007$) and RV ($P=0.014$) (**Table 4.5**). In accordance, roots of high-quality seedlings grew more than low-quality ones to equality of other factors (**Fig. 4.3**).

Table 4.5.- Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on *Quercus ilex* seedlings root growth parameters after one growing season. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.

Parameters	RL	RSA	RAD	RV	NT
Variable	<i>P</i>				
Planting date (PD)	0.093	0.004	0.040	0.001	0.036
Site preparation (SP)	0.076	0.001	0.002	0.000	0.015
Plant quality (PQ)	0.157	0.041	0.109	0.003	0.732
PD x SP	0.572	0.974	0.172	0.509	0.961
PD x PQ	0.278	0.213	0.007	0.014	0.838
SP x PQ	0.321	0.450	0.304	0.541	0.985
DP x SP x PQ	0.665	0.498	0.619	0.287	0.732

Stone pine seedlings root growth response was mainly affected by site preparation and plant quality, considered by ANOVA analysis as statistically significant variables for most root growth response parameters studied (**Table 4.6**). Seedlings cultivated under high-fertilized condition (high-quality seedlings) presented higher root growths than low-fertilized ones (low-quality seedlings) during the first growing season (**Fig. 4.3**). Also those planted over subsoiling preparation showed better root growth response than seedlings over manual holes on most of the studied root parameters (**Fig. 4.4**). However, high-quality seedlings planted on a late planting date under manual holes showed opposite behaviour, with better root response than seedlings planted under mechanical subsoiling (**Fig. 4.4**). Planting date was considered by ANOVA analysis as statistically significant variable only for RAD ($P=0.045$), but its influence on root response increases when considering the interaction of site preparation and plant quality factors (**Table 4.6**), as the effect of each factor is related with the value or characteristic of the others studied factors (see **Table 4.4** and logistic regression interpretation).

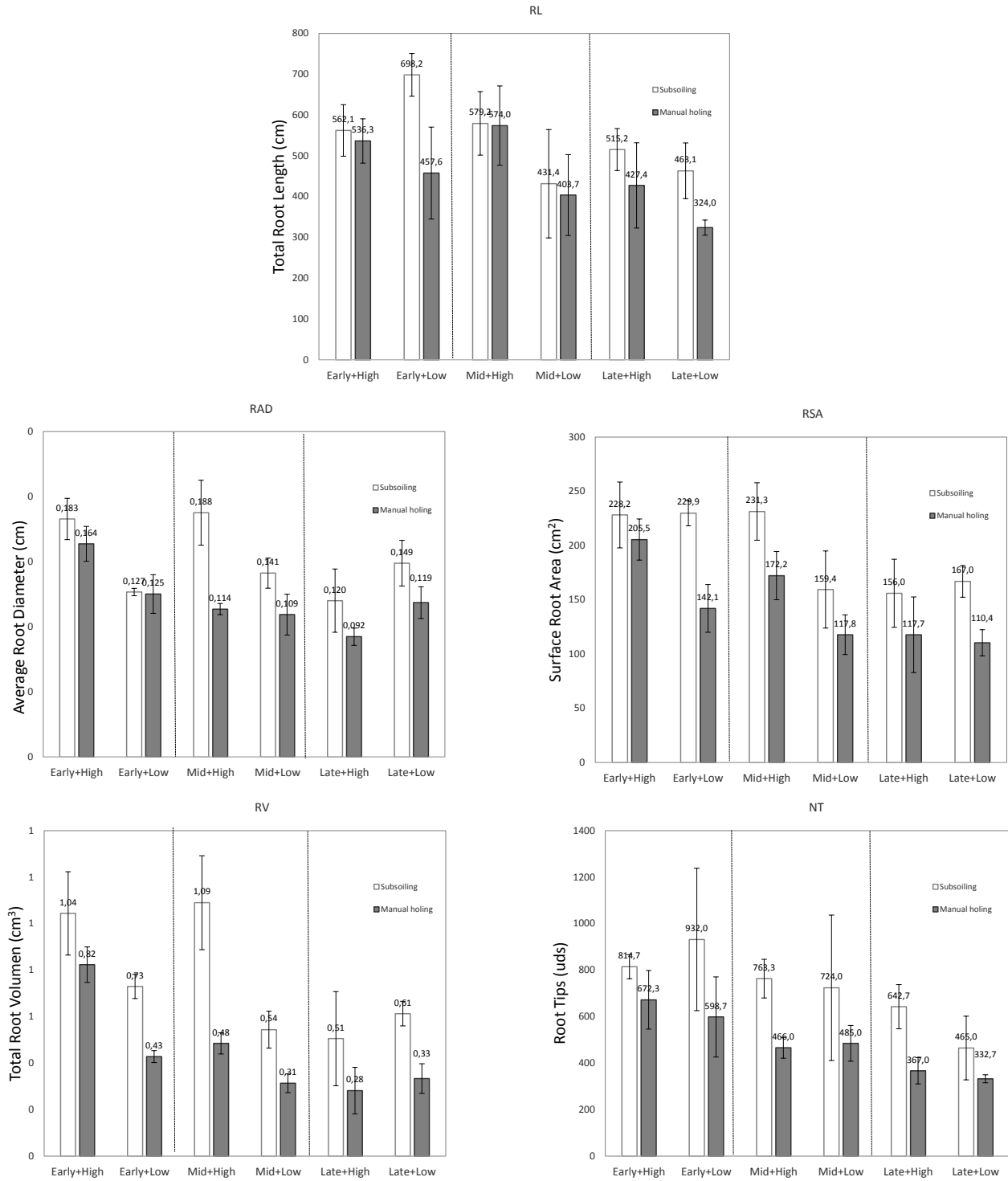


Fig. 4.3.- *Quercus ilex* root seedlings morphology traits (total root length (RL, cm); surface root area (RSA, cm²); average root diameter (RAD, cm); total root volume (RV, cm³), and root tips (NT, uds)) according to planting date, site preparation, and seedling quality after one growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

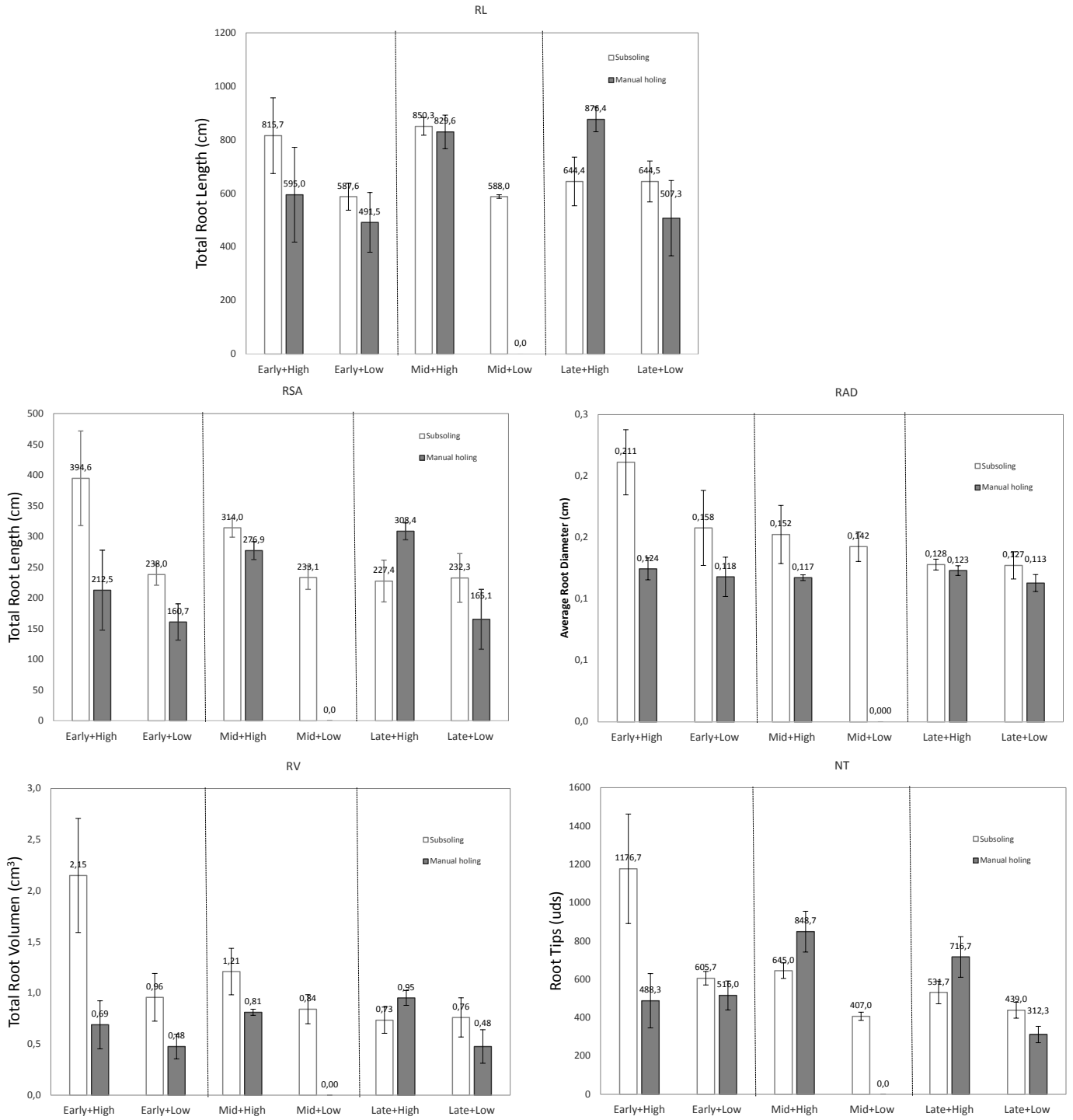


Fig. 4.4.- *Pinus pinea* root seedlings morphology traits (total root length (RL, cm); surface root area (RSA, cm²); average root diameter (RAD, cm); total root volume (RV, cm³), and root tips (NT, uds)) according to planting date, site preparation, and seedling quality after one growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

Table 4.6.- Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on *Pinus pinea* seedlings root growth parameters after one growing season. Variables in bold type are significant at the 0.05 level.

Parameters	RL	RSA	RAD	RV	NT
Variable	<i>P</i>				
Planting date (PD)	0.640	0.796	0.045	0.139	0.068
Site preparation (SP)	0.384	0.039	0.003	0.006	0.358
Plant quality (PQ)	0.004	0.003	0.195	0.011	0.003
PD x SP	0.351	0.073	0.082	0.028	0.008
PD x PQ	0.685	0.824	0.479	0.320	0.883
SP x PQ	0.391	0.703	0.423	0.476	0.379
DP x SP x PQ	0.091	0.035	0.231	0.034	0.009

4.3.3. Water potential analyses

Quercus ilex L. pre-dawn water potential (Ψ_{pd}) was affected by date planting (F=18.42; P<0.001) and plant quality (F=13.80; P=0.001). Also the effect of each variable is related to the other one (F=3.52; P=0.046). The effect of site preparation on Ψ_{pd} was considered not to be statistically significant when estimating the variable individually, but, when contemplating plant quality, the site preparation effects seemed to be important (F=20.48; P<0.001) (**Table 4.7.a**). Accordingly, seedlings planted on a late season date had lower Ψ_{pd} than plants planted on early or mid-planting dates (**Fig. 4.5.a**). Also low-quality seedlings mainly showed lower Ψ_{pd} than high-quality ones, but seedlings planted over manual holes didn't follow a clear pattern (**Fig. 4.5.a**). Meanwhile, midday water potential (Ψ_m) was clearly affected by planting date (F=11.75; P<0.001) and site preparation (F=10.51; P=0.004) (**Table 4.7.b**). The effect of plant quality on Ψ_m was considered not to be statistically significant either when estimating the variable individually or considering the effects of the other studied variables. In this way, seedlings planted on an early season date had higher Ψ_m than plants planted on mid or late planting dates, and seedlings planted over subsoiling preparation also showed less negative Ψ_m than holing seedlings (**Fig. 4.5.a'**).

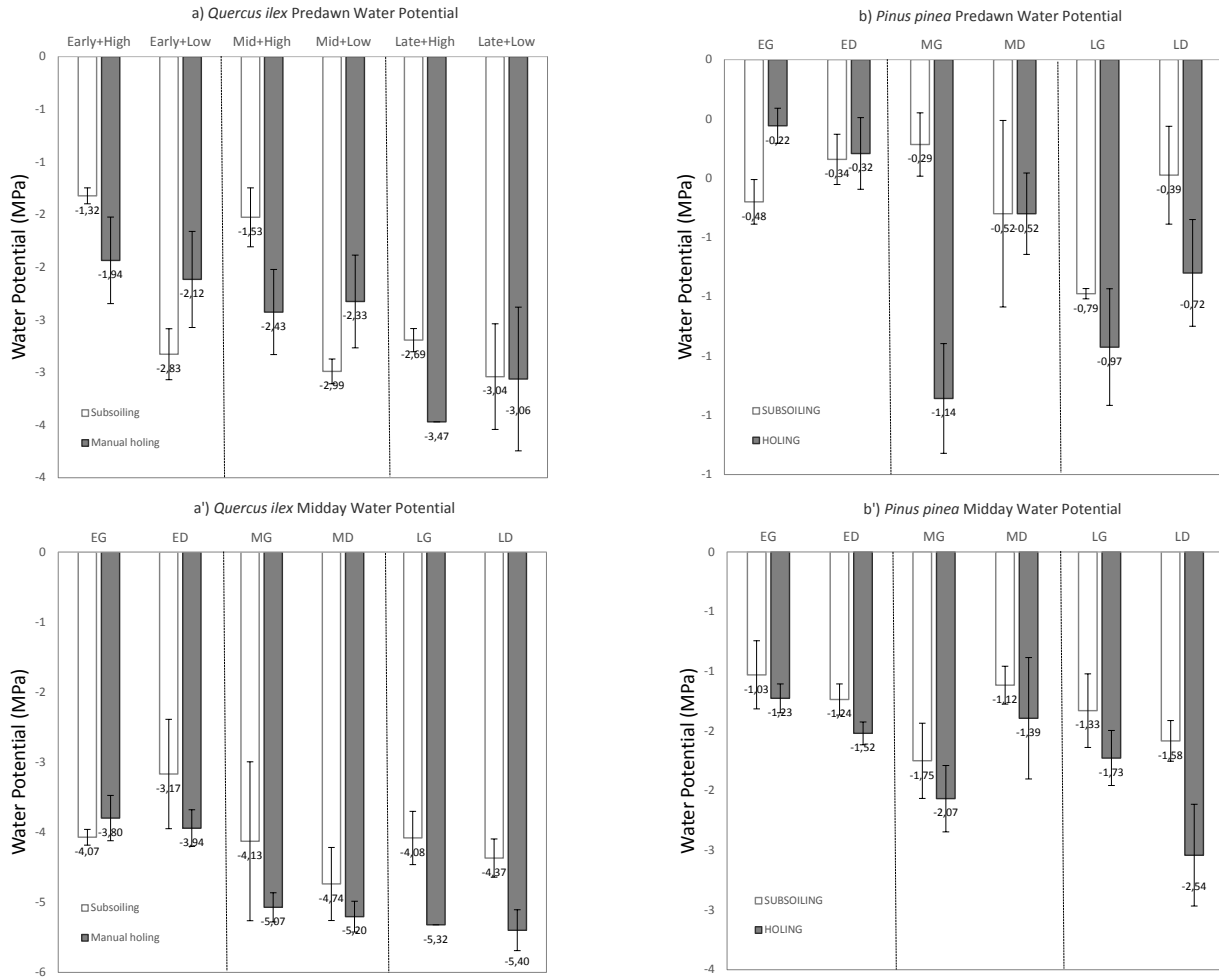


Fig. 4.5.- *Quercus ilex* (a) and *Pinus pinea* (b) seedling water potential (predawn (Ψ_{pd}) and midday (Ψ_m) needle water potential, MPa) according to planting date, site preparation, and seedling quality after one growing season. Vertical bars extend over 1 S.E. of the mean.

As for *Pinus pinea* L. seedlings, planting date ($F=8.92$; $P=0.001$) was the only individually variable considered as statistically significant that affected Ψ_{pd} , while site preparation ($F=6.76$; $P=0.005$) and planting quality ($F=3.41$; $P=0.05$) showed their influence when planting date effect is also considered (**Table 4.8.a**). Thus, seedlings planted on an early season date had less negative Ψ_{pd} than plants planted on mid or late planting dates (**Fig. 4.5.b**). In these unfavourable planting date conditions, the effect of site preparation seemed higher and seedlings planted over manual holes showed lower Ψ_{pd} those over mechanical subsoiling preparation (**Fig. 4.5.b**). In turn, Ψ_m was affected by planting date ($F=9.90$; $P=0.001$) and site preparation ($F=16.09$; $P=0.001$), and planting quality ($F=13.38$; $P<0.001$) only shown statistically significant influence when planting date effect was also considered (**Table**

4.7.b). Therefore, also for Ψ_m seedlings planted on an early season date had higher Ψ_{pd} than plants planted on mid or late planting dates, and seedlings planted over mechanical subsoiling showed higher Ψ_{pd} than those over manual holes (**Fig. 4.5.b'**).

Table 4.7. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on *Quercus ilex* Predawn (a) and Midday (b) Water potential. Variables in bold are significant at the 0.05 level.

Variable	d.f.	F	P
a) Pre-Dawn Water Potential (Ψ_{pd})			
Planting date (PD)	2	18.422	<0.001
Site preparation (SP)	1	1.365	0.255
Plant quality (PQ)	1	13.803	0.001
PD x SP	2	0.877	0.430
PD x PQ	2	3.525	0.046
SP x PQ	1	20.476	<0.001
DP x SP x PQ	2	0.709	0.502
Corrected Model	11	8.614	<0.001
Intercept	1	1366.797	<0.001
Error	23		
Total	35		
Corrected Total	34		
*R² = 0.805 (fitted R² = 0.711)			
b) Midday Water Potential (Ψ_m)			
Planting date (PD)	2	11.751	<0.001
Site preparation (SP)	1	10.507	0.004
Plant quality (PQ)	1	0.019	0.891
PD x SP	2	0.757	0.480
PD x PQ	2	1.898	0.173
SP x PQ	1	0.158	0.695
PD x SP x PQ	2	2.167	0.137
Corrected Model	11	3.808	0.003
Intercept	1	3404.608	<0.001
Error	23		
Total	35		
Corrected Total	34		
*R² = 0.646 (fitted R² = 0.476)			

Table 4.8. Three-way ANOVA for the effects of planting date, site preparation and plant quality on *Pinus pinea* Predawn (a) and Midday (b) Water potential. Variables in bold are significant at the 0.05 level.

Variable	d.f.	F	P
a) Pre-Dawn Water Potential (Ψ_{pd})			
Planting date (PD)	2	8.921	0.001
Site preparation (SP)	1	2.756	0.110
Plant quality (PQ)	1	3.819	0.062
PD x SP	2	6.755	0.005
PD x PQ	2	3.411	0.050
SP x PQ	1	0.123	0.729
DP x SP x PQ	2	2.890	0.075
Corrected Model	11	4.61	0.001
Intercept	1	119.66	<0.001
Error	24		
Total	36		
Corrected Total	35		
*R² = 0.679 (Fitted R² = 0.531)			
b) Midday Water Potential (Ψ_m)			
Planting date (PD)	2	9.901	0.001
Site preparation (SP)	1	16.094	0.001
Plant quality (PQ)	1	0.109	0.744
PD x SP	2	0.916	0.414
PD x PQ	2	13.384	<0.001
SP x PQ	1	0.329	0.572
PD x SP x PQ	2	0.231	0.796
Corrected Model	11	5.95	<0.001
Intercept	1	154.14	<0.001
Error	24		
Total	36		
Corrected Total	35		
*R² = 0.732 (Fitted R² = 0.608)			

4.4. Discussion

An important characteristic of seedlings is overall root growth and morphology response during establishment (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a; Grossnickle, 2012; Tsakalidimi *et al.*, 2013). Root response tends to be positively correlated with survival and growth (Altman & Waisel, 2012), and this relationship has been observed for several forest species (Trubat *et al.*, 2012; Cubera *et al.* 2012). In this study, we compared root seedlings morphology traits according to planting date, site preparation and seedling quality for two

Mediterranean species (*Q. ilex* and *P. pinea*). Although there are other studies including both nursery and field treatments to explain survival and growth responses to establishment (Radoglou et al., 2003; Na et al. 2013), root morphology has been traditionally dismissed, in part because the field work complexity, our results suggest that most root traits measured do distinguish both species plantation response is in accordance with our hypotheses. In addition, there was strong evidence that some root traits differed according to establishment technique, suggesting that not only species but also reforestation activities have on average responded differently to plantation stress imposed in Mediterranean environments.

Planting date and site preparation were variables with greatest influence on both species seedlings survival after the first growing season. Regarding date planting, best survival results on both species were recorded for the mid-season and early dates, while the late date showed high mortality rates (**Fig. 4.2**). Previous studies made with conifers in Mediterranean environments, no significant differences were found between the different planting dates (South *et al.*, 2001), or it was concluded that the most suitable planting dates corresponded to the period between November and March (Jenkinson *et al.*, 1993). However, in this study, it was observed that in that planting period (November to March), the differences in survival and growth terms for different planting dates may be significant.

About site preparation, best results were obtained on seedlings planted under mechanical subsoiling, instead of manual holing ones. These results agree with those obtained by other authors in similar conditions (Querejeta *et al.*, 2000; 2001; Karlsson, 2002; Ezell *et al.*, 2004). This seems to be directly related to water availability for the seedlings, which is one of the main factors determining the survival in Mediterranean environments (Ceballos *et al.*, 2004; Baquedano & Castillo, 2006), since the mechanical ripping increases effective water penetration in the soil (Querejeta *et al.*, 2001). This fact was confirmed with humidity values recorded through the TDR probes installed in the studio (**Fig. 4.2**).

Plant quality, meanwhile, showed less apparent influence on survival, entering into the model as third variable in importance for *P. pinea*, and only being considered in interaction terms for *Q. ilex*. This indicates less association of this variable with the seedlings establishment response, compares to other two variables. Previous studies differs on plant quality capacity to predict establishment response os seedlings. Thus, some studies concludes the important role of plant quality in terms of survival and growth after the establishment (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006b;. REFFs), although many others have found no clear

relationship between the quality of the plant and post-transplant response (Royo et al., 2001; Cortina et al., 2006; Palacios et al., 2009). This different results may be because it is not possible to assess the effect of the quality of the plant on the seedlings establishment as an isolated variable, as has been presented in this paper based on the results. However, this variable can provide valuable information when studied in conjunction with environmental factors and reforestation techniques employed. In logistic regression models, the quality of plant was the variable that showed the least power of association with survival, not being considered a statistically significant as main variable for *Q. ilex*, and considered as third variable in importance after the date of planting and land preparation in the case of *P. pinea*. In view of the results obtained after the logistic regression analysis and the statistical significance achieved by the interaction terms, it would seem to be necessary to carry out a joint analysis of the variables studied, taking note for each independent variable, of the state of the rest of the variables analyzed. Results observed in our study show a generally better response of plantations in which high quality plants were used. However, when the rest of the factors studied were very favorable (the case of mid-season date planting in subsoiling) or very unfavorable (late planting in holing and in subsoiling), the plant quality effect seems to weaken, which demonstrated the lesser power of association with seedling establishment assessment. Meanwhile, in *P. pinea* seedlings response, it can be observed that when the planting date is less limiting (mid-season dates) and the second factor in importance acts unfavorably (manual holing), plant quality acquires a greater importance, the high-quality plant survival being around 40% greater than those of a low-quality (**Fig. 4.2.b**). This indicates the important influence of the planting date and site preparation on the effect of plant quality in survival probability.

We tested the hypothesis that *Pinus* species develop more efficiency root systems than *Quercus* species as response to establishment (**Hypothesis d; Chapter 1**). This hypothesis has been confirmed, as we observed that *P. pinea* root growth (**Fig. 4.4**) was significantly higher than *Q. ilex* (**Fig. 4.3**) on most treatments, but height growth of *Q. ilex* (**Fig. 2.4; Chapter 2**) was higher than *P. pinea* (**Fig. 3.4; Chapter 3**). Thus, *Q. ilex* invest more resources to aerial part than roots, opposite strategy than that followed by *P. pinea*. These patterns can be explained as species adaptations under different seedling biology (Poorter *et al.*, 2012), as coniferous species are better adapted to plantation stress (del Campo *et al.*, 2007a). Mediterranean pines have a high probability of root initial growth, which allow them to colonize a larger soil volume (Vilagrosa *et al.*, 2005). Low investment in stems but high

investment in roots allows the seedling to build structures cheaply but sufficiently to carry leaf canopies that provide photosynthates for storage in roots (Kobe et al. 2010), maximizing their retention of resources as response to plantation stress. In this way, pine species can increase the rate at which they build sufficient reserves and size to overcome establishment (Dominguez-Lerena *et al.*, 2006; del campo *et al.*, 2007b). Larger growth and more efficient root morphology is a successful species' functional trait to survive and overcome plantation stress (Varone et al., 2012). On the other hand, *Quercus ilex* produced shorter roots as seedlings (<RL), which is common among *Quercus* species in Mediterranean climate and which appears to occur for storing carbohydrates and other nutrient reserves against stress events (Altman and Waisel, 2012). These responses were related to higher overall biomass for *Quercus* nursery seedlings. Assessing biomass partitioning into shoot and root growth is an important consideration for seedlings quality, because luxurious shoot growth at the expense of root growth is not desirable in reforestation activities (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a). Similarly, we observed an increase in root dry mass in response to soil preparation for both species (**Fig. 4.3 and Fig. 4.4**). However, we observed that when *Q. ilex* (**Fig. 4.3**) root morphology was taken together, the root trials were more sensible to establishment techniques than *P. pinea* (**Fig. 4.4**). Therefore, it appears that root response to increasing resources availability (water and soil volume) during plantation was more favorable to *Q. ilex*. This may indicate a differential allometric response between species (Lloret *et al.*, 1999; Villar-Salvador *et al.*, 2004), allowing a preferential root development over the shoot for *Q. ilex* seedlings which may be better able to adapt to harsh conditions.

Of particular interest to reforestation success for both species is the impact of plantation date on root growth. For a seedling to be considered ready for reforestation (seedling quality), it must have a large enough root mass (so that the plug may be easily removed from the propagation tray, termed a “pullable plug” (del Campo *et al.*, 2007a). Our results clearly indicate that late plantations dates reduce root growth, can decrease survival, and potentially increase mortality for both species. As its explained in material and methods and late plantations differ in four months which is clearly reflected in the root morphology. The seedlings planted on the late date experienced a much less favorable period, which limited their capacity to uptake the scant water reserves available in the soil during the summer. Normally, most of the water and nutrient absorption of seedling after plantation is accomplished by the roots in the 30–40 cm surface of the profile (Nambiar 1990), especially during the first months after planting. For that reason, and although the soil preparation made

was very intensive, permitting the plant roots to grow deep down, the lack of a sufficient water supply during those first months, as well as the poor initial root growth, did not permit the plant to reach the deeper water reserves in the soil, greatly limiting their survival. Although all forest seedling producers could realize energy and labor savings as a result of reduced production time (or updating plantation), increasing root morphology during nursery cultivation (e.g. with nutrient control and other cultivation practices) would be particularly beneficial for planters at Mediterranean species.

P. pinea had more efficient root morphology for searching for deep water than *Q. ilex* (**Hypothesis d; Chapter 1**) as they had faster larger and more fascicular roots than *Q. ilex* (**Fig. 4.3 and Fig. 4.4**). This is consistent with the idea that plant survival under Mediterranean conditions depends on root placement and rapid adjustment when water is available rather than on greater biomass partitioning to stems (Ceacero *et al.*, 2012; Na *et al.*, 2013). We found evidences that *P. pinea* have faster growth rates than *Q. ilex* to increase access to soil water resources, so rapid and efficient (RAD and NT) do appear to aid seedling in accessing water. There appear to be two different strategies for early growth after plantations, which are also partly associated with water use efficiency.

Therefore, these results suggest that *P. pinea* uses a strategy of creating an extensive root structure of fine roots that favors their access to water, while *Q. ilex* uses the roots volume growth (ratio RV / RL) to secure and accumulate reserves of carbohydrates (Kobe *et al.*, 2010). The fact that root response of *Q. ilex* not be associated with a rapid initial root growth, suggests that *Q. ilex* strategy to overcome post-planting stress may depend on a low growth during the initial period to reach a sufficient size to enable its aerial growth reactivation (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005; Ceacero *et al.*, 2012.). The evergreen species can use this strategy on storing large amounts of reserves on roots, as their capacity to growth by regrowth of the aerial part (Sloan and Jacobs, 2012).

However, our results suggest that establishment techniques are a stronger (and more direct) selector on seedling survival than the total amount of water resources available over the period. Querejeta *et al.* (2001), in a study carried out in Mediterranean environments with different soil preparations, verified that mechanical preparations with subsoiling controlled runoff, favored infiltration and increased the soil water reserve more effectively than manual preparation, which, to a great extent, determined repopulation success. Root placement prior to drought events is probably a more crucial response to conditions to overcome plantation

stress. One of the major ecological factors acting on afforestation performance under Mediterranean climate is water availability (Seifert *et al.*, 2006; Grossnickle, 2012), and mechanical subsoiling effectively increased water penetration into the soil (Ezel *et al.*, 2004). Site preparation modifies soil properties such as surface layer structure, bulk density, aeration, temperature, and, consequently, the availability of nutrients and water (Orlander *et al.*, 1990; Prévost *et al.*; 1992; de Chantal *et al.*, 2004). A more intensive soil preparation permits greater root development so that the seedling can explore larger volumes of soil. Thus, during the summer period, deep rooting becomes increasingly important for the water uptake of seedlings as the surface soil dries out (Talsma & Gardner, 1986). It is precisely during the early stages of seedling development when deep rooting becomes more necessary in the case of exhaustion of the topsoil moisture (Mitchel *et al.*, 1983).

The weather conditions found previous to, and immediately after, planting are fundamental with respect to the initial survival of plants (Margolis & Brand, 1990), but once the first growing season is over, their hydric state greatly depends on the soil's water retention capacity, as well as the seedlings' ability to develop roots, these factors being related to site preparation (Querejeta *et al.*, 2001), and plant quality (Burdet 1987; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a). Under strong water stress conditions like those recorded in this assay, the water accumulated in the deep areas of the soil may be the only reserve available to seedlings during drought periods. This further suggests that nursery and reforestation practices may substantially modified seedling response beside species selection, although their initial growth strategies differ.

Considering the xylem water potential tested in the present study, it seems that under our plantation conditions, *P. pinea* performed better than *Q. ilex*. Previous measurements of water potential both species have indicated a gradual fall during the rainless season, to a minimum predawn value of range between -1.8 MPa to -2.5 MPa (Baquedano & Castillo, 2006) for *Pinus* species, and with lowest midday values in summer such as -4 MPa for *Q. ilex* (Vilagrosa *et al.*, 2005). Both the low values and the small differences in midday xylem water potential indicate a different water stress among treatments, which are probably coupled with the root development and an access to deep soil water resources (Ceacero *et al.*, 2012), thus allowing seedlings to perform the specific strategy of the species to resist plantation stress (low stomata conductance and closure at relatively high water potentials together with low cuticular transpiration and root extension into the deeper soil layers when possible) (Villar-Salvador, 1998). Previous observations pointed out that increased integrated water-use

efficiency does not necessarily result in increased drought survival (Zhang *et al.*, 1997). Based in our results, it seems that improved survivability on the plantations treatments is likely related to increase of water uptake via changes in root morphology and growth (Querejeta *et al.*, 2001; Ceacero *et al.*, 2012). The water potential response suggests that the overcome of plantation stress is probably modulated by the accessibility to soil water storage (Cregg and Zhang, 2001).

Seedling quality is also an important factor in term of root response, but only for early and middle plantation dates. As commented on survival influence, it not recommended assessing the effect of plant quality on the establishment of plantations as an isolated variable but jointly with the environmental factors and the plantation techniques employed.

4.5. Conclusions

Our study shows that species drives root response to plantation stress in Mediterranean conditions. Root trait differences between species seem to indicate differences in efficiency at searching for deep water, achieved through producing thinner roots and through rapid root extension. However, we suggest that this response is modulated for reforestation techniques which are a more probable selective factor for root response, because of its severe consequences for plant resource retention and hence for long-term growth. Planting date, site preparation and stock quality have shown to be factors determining the root response of *Pinus pinea* and *Quercus ilex* in Mediterranean area. However, as showed in previous chapters, to understand how morphological and physiological variables affect survival and growth plantations, all factors (e.g. species and establishment techniques) have to be studied and analyzed jointly. In Mediterranean areas, all factor controlling water availability after planting seems to be vital to the survival of seedlings. An intensive soil preparation, a middle plantation data, and high seedling quality improve root response increasing the soil volume for the seedlings' roots to spread, so that they are able to uptake water from deeper horizons.

4.6. Acknowledgements

This work was supported by the Agricultural, Fisheries and Food Department of Junta de Andalusia through the project “*Seguimiento del Programa de Forestación de Tierras Agrarias de Andalucía*”. We would like to thank the staff of Consejería de Medio Ambiente and Red de Viveros for technical support to the experiment, especially Antonio Sánchez-

Lancha and Manuel Arroyo who provided very helpful comments on appropriate experimental design and seedling quality statistical analyses. We gratefully acknowledge the valuable suggestions put forward by researcher PhD. David Ariza Mateos, which have substantially improved the quality of this chapter.

Capítulo 5

Discusión General

5.1. Introducción

Los procesos de reforestación suponen una de las principales estrategias para la recuperación de espacios naturales degradados, bien sean antiguas tierras de cultivo abandonadas, bien zonas forestales que han sufrido procesos de degradación de mayor o menor intensidad debido a sobrepastoreo, incendios forestales u otras causas bióticas o abióticas. Desde la década de 1950, tanto en importantes zonas de España como de otros países del Mediterráneo, se han desarrollado numerosos programas de reforestación orientados a evitar y prevenir la degradación de los suelos, así como el avance de la desertización (Oria *et al.*, 2010).

Dentro de estas prácticas de restauración, el uso de especies de los géneros *Pinus* y *Quercus* ha sido muy extendido. Las especies del género *Pinus* aparecen de forma natural en muchos ecosistemas forestales españoles bien como especie principal (en particular en áreas de montaña o sobre suelos poco desarrollados con litologías muy restrictivas) o como especies acompañantes en ecosistemas caracterizados por una mayor presencia de especies del género *Quercus* (Blanco *et al.*, 1997). Sin embargo, su uso en repoblaciones en los países mediterráneos juega un papel esencial como fase intermedia hacia los bosques climáticos (Gómez *et al.*, 2001). Esta concepción sucesional, ha sido una estrategia o modelo de reforestación tradicional en zonas mediterráneas, vinculada tanto a objetivos de producción, como de conservación del suelo y control hidrológico-forestal (Esteve *et al.*, 1990). De este modo, es asumido que el uso de especies pioneras de rápido crecimiento, generalmente del género *Pinus*, facilita la regeneración (Gil y Prada, 1993), bien sea artificial o natural, de especies de frondosas de niveles superiores de madurez (Barbéro *et al.*, 1998), como aquellas del género *Quercus* (Lookingbill y Zavala, 2000; Pons y Pausas, 2006). Sin embargo, son pocos los casos en los que esta estrategia de restauración ha llegado a culminarse debido, principalmente, al elevado coste de la silvicultura post-plantación para favorecer el proceso, así como a la baja capacidad de dispersión de las frondosas mediterráneas, especialmente aquellas del género *Quercus* (Vázquez, 1998; Bonner, 2008). Por ello, el uso de especies de frondosas mediterráneas en las repoblaciones supone una de las estrategias actuales que procuran aumentar la eficiencia de las acciones de restauración, buscando alcanzar grados más avanzados en la sucesión vegetal, con un cierto control de los costes necesarios para ello (Ceacero *et al.*, 2012).

En la actualidad, junto a los tradicionales objetivos productores y protectores de las acciones de repoblación forestal en ambientes mediterráneos, nuevas utilidades y beneficios con un carácter más global son perseguidas por las acciones de restauración. En este sentido, la fijación de carbono como acción mitigadora del cambio climático, la conservación e incremento de la biodiversidad, la reducción de riesgos bióticos y abióticos, o el impulso del desarrollo rural, cobran especial importancia dentro de los objetivos restauradores (Pausas *et al.*, 2004). Estas nuevas concepciones requieren la consideración de las particulares características estructurales y funcionales de los ecosistemas, así como un cambio de escala en la magnitud de las intervenciones de restauración junto a la adaptación de las técnicas empleadas (Cortina *et al.*, 2004).

Los ecosistemas mediterráneos, al igual que otros ecosistemas semiáridos, se caracterizan por una dinámica lenta y compleja. Estas características, unidas a la diversidad de usos que los caracterizan, suponen importantes condicionantes que deben ser considerados a la hora de planificar y ejecutar labores de repoblación forestal. En este sentido, las acciones de restauración deben estar dirigidas a la gestión de las características físicas, bióticas y socio-económicas actuales de la zona, para el logro de los objetivos de restauración definidos (Cortina *et al.*, 2004).

Las repoblaciones forestales son planificadas, en numerosas ocasiones, en zonas en las que el establecimiento natural de especies arbóreas resulta muy complicado, debido a las adversas condiciones edáficas y microambientales que la regeneración puede encontrar. Es frecuente la ausencia de cobertura vegetal, la presencia de elevadas pendientes, la aparición de procesos erosivos, así como las degradaciones edáficas ocasionadas por incendios forestales u otras perturbaciones, lo que determina unas condiciones muy desfavorables para el establecimiento vegetal (Johnstone y Chapin III, 2006). En estos casos, la prioridad del proceso restaurador es lograr la mayor cobertura vegetal posible del terreno mediante el establecimiento de plántulas y su posterior desarrollo radicular. Para ello, se requiere que las técnicas de restauración creen las condiciones más favorables para el establecimiento de los brinzales de la nueva repoblación, pues serán estas condiciones microambientales las que determinen en gran medida el grado de éxito o fracaso del proceso restaurador.

La respuesta al establecimiento de las plántulas en una repoblación forestal se ve afectada por multitud de factores que, en conjunto, son los que deben condicionar la calidad de planta y la técnica repobladora seleccionadas. Las condiciones ambientales, el manejo de la

planta, así como su morfología y fisiología, son considerados como los factores más determinantes para el establecimiento de una repoblación forestal (South, 2000), junto con el propio genotipo de la planta (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2008). La influencia de estos factores en el establecimiento ha recibido considerable atención de cara a una mejor predicción e interpretación de la supervivencia (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a), siendo numerosos los casos que mencionan la predominancia de los factores ambientales y de estación sobre los propios de la calidad de planta (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2014). Sin embargo, el efecto de cada factor parece tener influencia en el resto de factores estudiados, por lo que cada vez es más extendida la postura de que el estudio de la respuesta al establecimiento debe considerar un contexto de posibles interacciones entre ellos (Ketchum y Rose, 2000; Ceaceros *et al.* 2012).

La investigación desarrollada en esta tesis ha estado orientada al análisis del efecto combinado de algunas de las variables que determinan el comportamiento de las plantas en las repoblaciones forestales tras su establecimiento, replicando en condiciones reales las técnicas de restauración comúnmente utilizadas en zonas mediterráneas. En estas condiciones, es conocido que el uso eficiente del agua por parte de las plantas resulta determinante para su supervivencia y crecimiento, pudiendo ser aquél condicionado por el uso de diferentes técnicas de restauración, como la fertilización y el preacondicionamiento de la planta de vivero o las técnicas de preparación del suelo (Vallejo *et al.*, 2006). Este estudio se ha desarrollado usando dos de las especies de mayor potencial en los procesos de repoblación en ámbito mediterráneo, la encina (*Quercus ilex* L.) y el pino piñonero (*Pinus pinea* L.).

De entre las variables que condicionan el comportamiento de la planta en términos de supervivencia y crecimiento en el proceso de establecimiento tras la plantación, esta tesis se ha centrado en el análisis de la fecha de plantación, la preparación del terreno realizada y la calidad de la planta utilizada como variables determinantes y fácilmente controlables a la hora de diseñar la actuación restauradora. El uso eficiente del agua por parte de las plantas y, relacionado con éste, el desarrollo radicular de las plantas tras el proceso de establecimiento, son variables relacionadas igualmente con los factores estudiados y que determinan el comportamiento de los brinzales tras el establecimiento (Villar-Salvador *et al.*, 2015).

La fecha de plantación es considerada como un factor fundamental dentro de las repoblaciones forestales, y existe un amplio campo de investigación en este sentido. Sin embargo, los estudios sobre la influencia de esta variable en la respuesta al establecimiento en trabajos de investigación no es tan amplia (Serrada *et al.*, 2005; Cortina *et al.*, 2006;

Grossnickle, 2012), a pesar de ser uno de los factores que más determina las condiciones ambientales que afectan a la planta en sus primeros momentos en campo y, por tanto, su supervivencia inicial (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a,c).

En relación a las técnicas de repoblación utilizadas, los tratamientos de preparación del terreno ejercen una importante influencia sobre la supervivencia y desarrollo de las plantas en tanto que determinan el volumen de suelo disponible para su exploración por las raíces, incidiendo de este modo, en la disponibilidad hídrica para los brinzales durante las primeras etapas del establecimiento y desarrollo (Querejeta *et al.*, 2001; Fuentes *et al.*, 2004; Ceacero *et al.*, 2012)

Del mismo modo, el uso de una planta forestal de calidad, considerada ésta como la que presenta capacidad de alcanzar unas expectativas de supervivencia y crecimiento en una estación particular (adecuación al uso), podría determinar el éxito o fracaso de la repoblación forestal, desde el punto de vista de la adaptabilidad de la planta al medio (Vilagrosa *et al.*, 2007; del Campo *et al.*, 2007a; Oliet *et al.*, 2007). De este modo, la calidad de planta habrá de manifestarse en el brinzal a través de su capacidad para superar el estrés de plantación y crecer aprovechando todo el potencial que ofrece una estación particular (Folk y Grossnickle, 1997). No obstante, la calidad de la planta al salir del vivero solo está parcialmente correlacionada con la respuesta en campo ya que esta respuesta está muy condicionada por otros aspectos tales como el transporte, la manipulación, las técnicas de plantación y las condiciones del lugar (South, 2000).

En ambientes mediterráneos, las condiciones ambientales y fisiológicas que las plantas enfrentan en los primeros años tras la plantación resultan especialmente claves de cara a su respuesta en términos de supervivencia y crecimiento. En concreto, el primer año tras la plantación y especialmente el periodo de sequía estival resultan claves en el proceso de establecimiento de la planta en estas condiciones (Maestre *et al.*, 2003; Rey y Camacho, 2004; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005, Sánchez-Gómez *et al.*, 2006; Palacios *et al.*, 2009; Ceacero *et al.* 2012). Los resultados obtenidos en este trabajo confirman la importancia de esta etapa inicial, mostrando cómo la disponibilidad de agua para la planta, condicionada por las aportaciones provenientes de la precipitación y el comportamiento hídrico del suelo, son los factores clave que modelan este comportamiento.

Son varios los estudios que incluyen de manera simultánea tratamientos de campo y de vivero en el mismo diseño experimental para analizar la respuesta al establecimiento de las

plantas en términos de supervivencia y crecimiento (South et al., 2001; Radoglou *et al.*, 2003 del Campo 2007a), si bien en pocas ocasiones son analizadas las interacciones que se producen entre estas variables (Ceacero *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos en este estudio muestran que la fecha de plantación, la preparación del terreno y la calidad de planta pueden afectar significativamente a la supervivencia y el crecimiento de plántulas de encina y pino piñonero tras su establecimiento en terreno, pero la intensidad con la que cada una de estas variables actúa depende del efecto combinado del resto de variables, por lo que las interacciones existentes entre ellas deben ser consideradas. Muestra de ello es la inclusión de los factores de interacción entre variables en los modelos de regresión logística desarrollados, tanto interacciones de primer grado (interacción de dos variables), como de segundo grado (interacción de las tres variables conjuntamente). El efecto de las interacciones también ha sido evidente en los análisis de la varianza multivariantes realizados para las variables de crecimiento, tanto de la parte aérea como radicular. Los resultados obtenidos en este sentido arrojan las respuestas buscadas con el planteamiento de las hipótesis a) y b) (**Capítulo 1**) de esta tesis.

5.2. Respuesta post-trasplante en términos de supervivencia y crecimientos

En este estudio, y para ambas especies estudiadas, la fecha de plantación fue la variable que mostró mayor influencia en la supervivencia inicial de las plantas, seguida de la preparación del terreno, como indica el orden de entrada en los modelos de regresión logística realizados (Hosmer y Lemeshow, 2000; Pardo y Ruíz, 2002). Las fechas tempranas y medias ofrecieron los mejores resultados en supervivencia, mientras que la plantación en fecha tardía mostró altas tasas de mortalidad. Estos resultados difieren de los reportados en estudios previos en ambientes mediterráneos que no encontraron diferencias significativas entre diferentes fechas de plantación (Royo *et al.*, 2000; Radoglou *et al.*, 2003).

La segunda variable que mostró mayor influencia sobre la supervivencia fue la preparación del terreno realizada, registrando mejores resultados en el caso del subsolado mecánico que en el ahoyado manual. Estos resultados se alinean con los obtenidos por otros autores en condiciones similares (Querejeta *et al.*, 2000; 2001; Karlsson, 2002; Ezell *et al.*, 2004). Este resultado está directamente relacionado con la disponibilidad de agua para la planta, que es uno de los principales factores que determina la supervivencia en ambientes mediterráneos (Ceballos *et al.*, 2004; Baquedano y Castillo, 2006), ya que el subsolado

mecánico aumenta de manera efectiva la penetración de agua en el suelo (Querejeta *et al.*, 2001), como fue comprobado por el diferente comportamiento del agua en el suelo como consecuencia de la intensidad de la preparación (**Fig. 4.1; Capítulo 4**).

No obstante, el efecto global que las variables analizadas mostraron sobre la supervivencia fue diferente entre las dos especies estudiadas, así como su evolución a lo largo de los 2 años del estudio. En el caso de *Q. ilex*, la calidad de planta no ejerció un efecto principal en la supervivencia, mostrando su influencia únicamente al considerar su efecto combinado con las otras variables estudiadas (interacciones). En el caso de *P. pinea*, también la fecha de plantación fue la variable con mayor influencia en la supervivencia de las plantas después de la primera temporada de crecimiento, seguido de la preparación del sitio y la calidad de la planta. De este modo, parece que la influencia de la calidad de planta en la supervivencia de *P. Pinea* fue algo mayor que el en caso de *Q. ilex*, sobre todo el primer año tras la plantación, perdiendo después su influencia sobre la supervivencia de cara al segundo año. Sin embargo, en esta ocasión, el efecto principal de la fecha de plantación se atenuó en la segunda temporada de crecimiento, en el que la variable más importante pasó a ser la preparación del terreno. En vista de los resultados obtenidos tras el análisis de regresión logística y la significación estadística alcanzada por los términos de interacción, quedó confirmada la necesidad de llevar a cabo un análisis conjunto de las variables estudiadas considerando, para cada variable independiente, el nivel que presenta el resto de las variables analizadas.

En relación a la calidad de planta, se puede observar cómo, para dos calidades estudiadas (buena y deficiente), y a igualdad del resto de variables, las diferencias de supervivencia encontradas fueron considerablemente menores que las registradas para plántulas de la misma calidad pero plantadas en fechas diferentes o sobre tratamientos de preparación del terreno diferentes. Muchos estudios confieren un papel principal a la calidad de la planta en cuanto a la supervivencia y el crecimiento tras el establecimiento (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006b; Oliet *et al.*, 2007), aunque otros muchos no han encontrado ninguna relación clara entre la calidad de la planta y la respuesta post-trasplante (Royo *et al.*, 2001; Cortina *et al.*, 2006; **Capítulos 2, 3 y 4**). Esta disparidad de opiniones posiblemente se deba a que no es posible evaluar el efecto de la calidad de la planta sobre el establecimiento de plantaciones como una variable aislada, como ha sido presentado en este trabajo en base a los resultados obtenidos. Sin embargo, esta variable puede ofrecer una información valiosa cuando se estudia conjuntamente con los factores ambientales y las técnicas de repoblación

empleados. En los modelos de regresión logística, la calidad de planta fue la variable que mostró el menor poder de asociación con la supervivencia, no siendo considerado como una variable principal estadísticamente significativa en el caso de la encina y, en el caso del pino piñonero, tan sólo durante el primer año del ensayo, siendo considerada la tercera variable en importancia tras la fecha de plantación y la preparación del terreno.

Los resultados observados en nuestro estudio muestran una mejor respuesta general de las plantaciones en las que se utilizaron plantas de alta calidad, sobre todo cuando el resto de los factores estudiados fueron favorables (fechas de plantación temprana y media y preparación subsolado mecánico). Por tanto, se puede observar cómo en la plantación de fecha temprana en subsolado mecánico, la calidad de la planta se vuelve un factor muy importante, siendo la supervivencia de las plantas de buena calidad alrededor de un 50% mayor que la de las plantas de baja calidad. Sin embargo, cuando las condiciones testadas fueron muy desfavorables, como la plantación tardía y, principalmente, al usar preparaciones de baja intensidad como el ahoyado manual, el efecto de calidad de la planta pareció debilitarse, lo que demuestra el menor poder de la asociación de esta variable con la supervivencia de las plántulas cuando se le considera como un factor aislado. Esto también viene a confirmar la importante influencia que la fecha de plantación y preparación del terreno tienen sobre la calidad de la planta en relación a la probabilidad de supervivencia.

En cuanto a los parámetros del modelo de regresión logística de la supervivencia, y a pesar del alto valor de datos predichos correctamente (72,3% y 78,9% para la encina, 81,8% y 80,3% para el pino, en el 1º y 2º año de estudio), se observó la presencia de una variabilidad no controlada por el modelo muy elevada (64-78% en encina y 42-47% en pino) (**Tabla 2.2, Capítulo 2; Tabla 3.2, Capítulo 3**). El estudio se desarrolló en condiciones reales, y las labores de repoblación y tratamientos de preparación del terreno fueron ejecutadas por trabajadores forestales. En este tipo de condiciones se debe considerar un alto grado de heterogeneidad espacial (Maestre *et al.*, 2003), lo que introduce una alta variabilidad no controlada en los modelos de regresión. La microtopografía del terreno forestal donde fue realizado el estudio y la variabilidad climática interanual característica de la cuenca mediterránea contribuyeron a aumentar dicha variabilidad no controlada por el modelo. Sin embargo, la simulación de las condiciones reales de reforestación es considerada de alto interés desde el punto de vista de la aplicabilidad de los resultados (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2014). También las especies testadas, aun siendo dos de las especies más utilizadas en las repoblaciones realizadas en zonas mediterráneas, se caracterizan por su alta variabilidad

intraespecífica (Costa *et al.*, 1999; Jorge *et al.*, 2005; Valledor *et al.*, 2008), lo que induce a una respuesta diferencial en el establecimiento tras la plantación.

En cuanto al papel de la calidad de planta, estudios anteriores consideraron que el diámetro del cuello de la raíz era la medición no destructiva de la calidad de la planta más estrechamente correlacionada con la respuesta en campo (South *et al.*, 2005; Dumroese *et al.*, 2009; Tsakalidimi *et al.*, 2013; Sigala *et al.*, 2015), mientras que la altura y los índices “robustez” no se correlacionan significativamente con ella (Mexal y Landis, 1990; Aphalo y Rikala, 2003; Tsakalidini *et al.*, 2005). Además, otros estudios concluyeron que parámetros de la calidad de planta como la biomasa radicular (Villar-Salvador *et al.*, 2004) o el potencial de regeneración de raíz (Radoglou *et al.*, 2003; Mollá *et al.*, 2006) no afectaban significativamente al comportamiento de las plántulas en su establecimiento en campo. Los resultados de esta investigación confirman que la calidad de planta no debe utilizarse como una variable aislada para la predicción del comportamiento de plántulas de encina o pino piñonero en términos de supervivencia o crecimiento tras su establecimiento en campo.

La respuesta de crecimiento de las plántulas fue diferente dependiendo del parámetro estudiado y de la especie analizada. Para el caso de *Q. ilex*, y en relación al crecimiento en altura, de nuevo la fecha de plantación y la preparación del terreno fueron las únicas variables consideradas estadísticamente significativas, mientras que la calidad de planta y todos los términos de interacción del modelo (combinación de las diferentes variables estudiadas) no fueron considerados por la prueba de ANOVA como estadísticamente significativos. Este resultado fue similar en el 1º y 2º año del estudio. Así, en la segunda temporada de crecimiento, las plántulas plantadas en fecha temprana sobre preparación subsolado mecánico registraron los mejores resultados de crecimiento en altura, no existiendo diferencias entre las plantas de buena y deficiente calidad, confirmando que la calidad de la planta no influyó en este parámetro (**Fig. 2.4, Capítulo 2**). Sin embargo, en el caso de crecimiento en diámetro, la respuesta fue diferente en el primer y segundo período vegetativo. De esta manera, si bien la preparación del terreno fue la única variable considerada con influencia estadísticamente significativa durante el 1º año, ésta fue sustituida por la fecha de plantación como variable de influencia para el análisis realizado tras el 2º período de crecimiento (**Tabla 2.3, Capítulo 2**).

En relación a la respuesta del *P. pinea*, el crecimiento en altura tuvo un comportamiento similar que en el caso de *Q. ilex*, siendo la fecha de plantación y la preparación del terreno las únicas variables considerados estadísticamente significativas por el

modelo multivariante desarrollado. No obstante, la calidad de planta también estuvo representada en la prueba de ANOVA en los términos de interacción de primer y segundo grado considerados estadísticamente significativos. Además, en relación al crecimiento del diámetro, la calidad de la planta sí se mostró como estadísticamente significativa tras la segunda estación de crecimiento. Estas variables ejercen sobre el crecimiento una influencia similar a la observada para la supervivencia, registrando mayores crecimientos en los individuos plantados en las fecha más temprana y media sobre preparación de subsolado mecánico, y los menores en aquellos individuos plantados en fecha tardía sobre ahoyado manual. Esta respuesta es la esperada en función de las condiciones de establecimiento, pues el crecimiento en altura y diámetro es uno de los primeros procesos fisiológicos afectados por el estrés hídrico, mientras que otros, como la reducción de hojas, pueden hacerse visibles sólo meses después (Larcher, 1995; Dobbertin, 2005).

Debido a la larga duración de la estación seca y a la gran variabilidad de las precipitaciones dentro del mismo año y entre años sucesivos, condiciones características de las zonas mediterráneas (Infante *et al.*, 2003), se observa que el efecto beneficioso que la preparación del terreno puede tener sobre la disponibilidad de agua para la planta, y por tanto para su supervivencia, puede verse reducido debido a una incorrecta elección de la fecha de plantación. En esta investigación, se registraron apenas 88,8 mm de lluvia entre los meses de abril y agosto del primer año tras la plantación (2002) en la zona de estudio. Las plántulas sembradas en una fecha tardía (marzo de 2002) recibieron aporte de lluvia en los meses de abril y mayo (84,0 mm), pero los siguientes eventos significativos de lluvia en la zona no se registraron hasta el mes de septiembre (**Fig. 2.2, Capítulo 2**). De acuerdo con las tres fechas de plantación testadas, separadas entre sí 2 meses, la diferencia en la duración total de la primera estación de crecimiento para los brinzales plantados en la siembra temprana y tardía fue de cuatro meses. Por lo tanto, las plántulas plantadas en las fechas tempranas y medias tuvieron un período favorable de crecimiento vegetativo, con presencia de precipitaciones, de 6 meses (>300 mm) y 4 meses (197,8 mm) respectivamente, para su crecimiento. Sin embargo, los brinzales plantados en la fecha de plantación tardía experimentaron un período mucho menos favorable, con apenas 88,8 mm de lluvia en los 5 meses siguientes a la plantación, lo que limitó su capacidad de acceso a las escasas reservas de agua disponibles en el suelo durante este período de sequía estival. Además, este efecto se encuentra directamente relacionado con la capacidad de crecimiento y morfología de la raíces, que fue menor en el caso de las plantas de la plantación tardía en ambas especies. Siguiendo esta premisa, se

observó cómo, en la plantación sobre ahoyado manual realizada en la fecha media, las tasas de supervivencia fueron más altas que las registradas en la plantación sobre subsolado llevada a cabo en la fecha tardía (**Fig. 2.3, Capítulo 2; Fig. 3.3 Capítulo 3**).

5.3. Desarrollo radicular tras el proceso de plantación

Uno de los principales factores ecológicos que actúan sobre el comportamiento de las reforestaciones bajo clima mediterráneo es la disponibilidad de agua (Seifert *et al.*, 2006; Grossnickle, 2012), y el subsolado mecánico aumenta de manera efectiva la penetración del agua en el suelo (Ezell *et al.*, 2004). La preparación del terreno modifica las propiedades del suelo, tales como la estructura de la capa superficial, densidad aparente, aireación, temperatura, y, en consecuencia, la disponibilidad de nutrientes y agua (Örlander *et al.*, 1990; Prévost *et al.*, 1992; De Chantal *et al.*, 2004). Querejeta *et al.* (2001), en un estudio llevado a cabo en ambientes mediterráneos con diferentes preparaciones del suelo, verificaron que las preparaciones con subsolado mecánico controlan la escorrentía, favorecen la infiltración y aumentan las reservas de agua del suelo con mayor eficacia que la preparación manual, lo que determina, en gran medida, el éxito de la repoblación. Una preparación más intensiva del suelo permite un mayor desarrollo de las raíces para que la plántula pueda explorar un mayor volumen de suelo. Así, durante el período de verano, el enraizamiento profundo se vuelve cada vez más importante para la absorción de agua de las plántulas mientras la superficie del suelo se va secando (Talsma y Gardner, 1986). Es precisamente durante las primeras etapas del desarrollo de las plántulas cuando, en el caso de agotamiento de la humedad de la capa superior del suelo, el enraizamiento profundo se hace más necesario (Mitchell y Correl, 1983). La respuesta en términos de crecimiento y estructura de la raíz antes de la llegada de eventos de sequía es probablemente la respuesta más crucial para superar las condiciones de estrés de la plantación.

No obstante, los resultados de este trabajo sugieren que las diferencias en el aporte hídrico derivadas de la fecha de plantación (debidas a episodios de lluvia) presentan una influencia mayor en la supervivencia que las diferencias de recursos hídricos disponibles para la planta derivadas del tratamiento de preparación del terreno realizado (debido al mayor o menor volumen de suelo removido). En estudios previos realizados con coníferas, no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes fechas de plantación (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2014), o bien se concluyó que las fechas de plantación más adecuadas

correspondían al período comprendido entre los meses de noviembre y marzo (Jenkinson *et al.*, 1993; Royo *et al.*, 2000). Sin embargo, en este estudio, se observó que la elección de diferentes fechas de plantación a lo largo de ese período (noviembre a marzo), puede suponer significativas diferencias de respuesta de las plántulas en términos de supervivencia y crecimiento, evidenciando la importancia de una adecuada planificación de las actividades de restauración.

Para profundizar en el análisis de la respuesta de las plántulas en términos de supervivencia y crecimiento presentado en el epígrafe anterior, fue estudiada la capacidad de respuesta en términos de biomasa radicular total y morfología de la raíz, considerada una de las características más importantes de cara al establecimiento de las plántulas tras su plantación (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a; Grossnickle, 2012; Tsakalidimi *et al.*, 2013). En este sentido, la respuesta de la raíz tiende a estar correlacionada positivamente con la supervivencia y el crecimiento de la parte aérea (Altman y Waisel, 2012), habiéndose observado esta relación en varias especies forestales (Cubera *et al.*, 2012; Trubat *et al.*, 2012). Para ello, fueron comparados los rasgos morfológicos radiculares en función de su respuesta a la fecha de plantación, la preparación del terreno y la calidad de planta que las plántulas de las dos especies estudiadas (*Q. ilex* y *P. pinea*) mostraban tras el primer verano después de la plantación.

Aunque se han realizado otros estudios incluyendo tanto tratamientos de vivero como de campo para explicar las respuestas de supervivencia y crecimiento tras el establecimiento (Radoglou *et al.*, 2003; Palacios *et al.*, 2009; Na *et al.*, 2013), el estudio de la respuesta en relación a la morfología de la raíz ha sido tradicionalmente obviado, en parte debido a la complejidad del trabajo de campo para la evaluación de estos parámetros. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la mayoría de las características radiculares evaluadas (**Fig. 4.3, Fig. 4.4, Tabla 4.5 y Tabla 4.6, Capítulo 4**) permiten distinguir una respuesta diferencial entre las dos especies evaluadas, de acuerdo con las hipótesis planteadas en esta tesis (**Hipótesis c, Capítulo 1**). Además, se encontró una fuerte evidencia de que algunos atributos morfológicos de raíz muestran respuestas diferenciadas en función de las técnicas de establecimiento empleadas, lo que sugiere que, no sólo las diferentes especies, sino también las labores de reforestación utilizadas, provocan una respuesta diferencial a las condiciones de estrés tras la plantación, impuestas por las condiciones mediterráneas.

Otra de las hipótesis propuestas en este trabajo fue que las especies de *Pinus* desarrollan sistemas radiculares más eficientes como respuesta al establecimiento que las especies de *Quercus* (**Hipótesis d, Capítulo 1**). Esta hipótesis fue confirmada, pues se observó que el crecimiento radicular del *P. pinea* (**Fig. 4.4, capítulo 4**) fue significativamente mayor que el de *Q. ilex* (**Fig. 4.3, capítulo 4**) para la mayoría de los tratamientos. Sin embargo, el crecimiento en altura experimentado por las plántulas de *Q. ilex* (**Fig. 2.4, capítulo 2**) fue muy superior al registrado por las plántulas de *P. pinea*, mientras que *P. pinea* (**Fig. 3.4, Capítulo 3**) mostró un crecimiento del cuello de la raíz muy superior a *Q. ilex*. De esta manera, se observó que *Q. ilex* invirtió una mayor cantidad de recursos en el crecimiento de su parte aérea, mostrando una relación parte aérea/radicular muy superior a la de *P. pinea*. Por su parte, la estrategia de *P. pinea* fue una mayor inversión de recursos dirigidos hacia la parte radicular que hacia la parte aérea, creando un sistema radicular más extenso y estructurado que en el caso de *Q. ilex*. Estos patrones diferenciados pueden ser explicados como diferentes adaptaciones de las especies en función de las características biológicas de las plántulas (Poorter *et al.*, 2012). Así, es considerado que los pinos mediterráneos presentan una alta capacidad de crecimiento inicial de la raíz, lo que les permite colonizar un volumen de suelo más grande (Vilagrosa *et al.*, 2005), por lo que las especies de coníferas se adaptan mejor al estrés plantación en estos ambientes (del Campo *et al.*, 2007a). Una baja inversión de recursos dirigida al crecimiento de las estructuras aéreas, pero alta hacia el crecimiento de raíces, permite a la plántula de pino construir las estructuras mínimas, pero suficientes, para generar estructuras foliares suficientes que proporcionen fotosintatos para su almacenamiento en la planta (Kobe *et al.* 2010), maximizando su acumulación de recursos en las raíces como respuesta al estrés plantación. De esta manera, las especies de pino pueden aumentar la velocidad a la que se acumulan reservas, y alcanzar un tamaño suficiente para superar el establecimiento (Domínguez Lerena *et al.*, 2006. del Campo *et al.*, 2007b.). Mayores crecimientos y una morfología radicular más eficiente son los rasgos funcionales de una especie de éxito para sobrevivir y superar el estrés de la plantación (Varone *et al.*, 2012).

Por su parte, las plántulas de *Q. ilex* producen raíces más cortas (<RL; **Fig. 4.3 y Fig. 4.4, Capítulo 4**), lo que es común entre las especies de *Quercus* en clima mediterráneo, y que parece estar relacionado con el almacenamiento de carbohidratos y otros nutrientes de reserva para hacer frente a los eventos de estrés (Altman y Waisel, 2012). La evaluación de la relación entre el crecimiento de la biomasa aérea y de raíz supone un importante parámetro de calidad de planta, pues un crecimiento aéreo por encima del estrictamente necesario, y a costa

del crecimiento de la raíz, no es un comportamiento deseable en plántulas dirigidas a actividades de reforestación en medios mediterráneos (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a), lo que contribuiría a explicar los peores resultados en términos de supervivencia de *Q. ilex* en este trabajo.

Del mismo modo, se observó un aumento de la biomasa seca radicular en respuesta a la preparación del suelo para ambas especies. Sin embargo, al realizar un análisis comparativo de la morfología radicular entre las especies estudiadas, se observó que la respuesta de *Q. ilex* (**Fig. 4.3, Capítulo 4**) fue más sensible a las técnicas de establecimiento (preparación del terreno) que las de *P. pinea* (**Fig. 4.4, Capítulo 4**). Esto parece indicar que la respuesta de la raíz a una mayor disponibilidad de recursos (agua y volumen de suelo) durante la plantación, promovida por preparaciones del terreno más intensas, fue más efectiva en el caso de *Q. ilex*.

Por tanto, se ha encontrado una respuesta alométrica diferencial entre ambas especies (Lloret *et al.*, 1999; Villar-Salvador *et al.*, 2004), mostrando que las plántulas de *P. Pinea* priorizan el desarrollo de raíces frente a la parte aérea, logrando una mejor adaptación a las condiciones adversas del establecimiento, ante diferentes tratamientos de preparación del terreno. Por su parte, *Q. ilex* muestra una respuesta más efectiva ante los diferentes tratamientos de preparación del terreno, aumentando su crecimiento radicular cuando dispone de un mayor volumen de suelo para explorar, pero limitando dicho crecimiento ante preparaciones del terreno poco intensas como el ahoyado manual. Esto sugiere que las plántulas de *Q. ilex* utilizan una morfología de raíz más eficiente para la captura de agua de acuerdo con técnicas de establecimiento que las plántulas de *P. pinea*.

Es considerado que para que una plántula de vivero esté “preparada” para la reforestación (calidad de planta), al salir del vivero debe tener una biomasa radicular lo suficientemente grande como para que el cepellón pueda ser retirado fácilmente del alveolo de la bandeja, lo que se conoce como plántula “*plug pullable*” (del Campo *et al.*, 2007a). A partir de este momento, será la capacidad de crecimiento radicular de la plántula la que determine su respuesta al establecimiento. En este sentido, resulta también de particular interés analizar la influencia de la fecha de plantación en el crecimiento de la raíz y, por tanto, de cara al éxito en el establecimiento de ambas especies. Los resultados de este trabajo indican claramente que fechas de plantación tardías reducen el crecimiento de la raíz y, en consecuencia, aumentan la mortalidad en ambas especies (**Fig. 2.3, Capítulo 2; Fig. 3.3, Capítulo 3; Fig. 4.2, Fig. 4.3 y Fig. 4.4, Capítulo 4**). Como ha sido indicado, las plantaciones tempranas y

tardías difieren en cuatro meses, lo que supone que las plántulas plantadas en la fecha tardía experimentaron un período de crecimiento menos prolongado, que además resultó mucho menos favorable según la pluviometría registrada, que aquellas de la plantación temprana y media. Este hecho tuvo un claro reflejo en la morfología de la raíz, de manera que las plántulas de plantaciones tardía vieron limitada su capacidad de crecimiento radicular y, por tanto, de absorción de las escasas reservas de agua disponibles en el suelo durante el período estival. Normalmente, la mayor parte de la absorción de agua y nutrientes de las plántulas es realizada por las raíces situadas a 30-40 cm de profundidad (Nambiar, 1990), especialmente durante los primeros meses después de la plantación. Por esa razón, y aunque la preparación del suelo realizada fuera muy intensa (caso del subsolado mecánico), permitiendo potencialmente a las raíces de las plantas crecer en profundidad, la falta de un suficiente suministro de agua durante los primeros meses, así como el escaso crecimiento inicial de la raíz derivado del corto período favorable, no permitieron que los individuos de la plantación tardía alcanzaran las reservas de agua más profundas en el suelo, reduciendo en gran medida su supervivencia.

P. pinea ha mostrado crecimientos radiculares más rápidos, más extensos y más fasciculados que *Q. ilex* (**Fig. 4.3 y Fig. 4.4, Capítulo 4**) ante condiciones favorables y desfavorables, mientras que *Q. ilex* reacciona de una manera más eficiente a las condiciones favorables de preparación del terreno en relación a su morfología radicular (**Fig. 4.3 y Fig. 4.4, Capítulo 4**). Estos resultados vienen a confirmar la hipótesis planteada de que *P. pinea* desarrolla una morfología de raíz más eficiente que *Quercus ilex* para la búsqueda del agua disponible en profundidad (**Hipótesis d, Capítulo 1**). Esto es consistente con la idea de que la supervivencia de las plantas en condiciones mediterráneas depende de la disposición, desarrollo y rápida adaptación de la raíz cuando hay disponibilidad de agua, más que de una mayor distribución de biomasa hacia la parte aérea (Ceacero *et al.*, 2012; Na *et al.*, 2013). En este trabajo se han encontrado evidencias de que *P. pinea* tiene tasas de crecimiento radicular mayores y más rápidas (RL, RSA, RAD, RV, NT) que *Q. ilex*, lo que le permite aumentar su capacidad de acceso a los recursos hídricos del suelo de un modo más rápido y eficaz.

Por lo tanto, estos resultados sugieren que *P. pinea* utiliza una estrategia de creación de una estructura radicular extensa de raíces finas que favorezca su acceso al agua, mientras que *Q. ilex* utiliza el crecimiento en volumen de las raíces (relación RV/RL) para asegurar y acumular reservas de azúcares (Kobe *et al.*, 2010). El hecho de que la respuesta de *Q. ilex* no se asociara con un rápido crecimiento inicial de las raíces sugiere que su estrategia para

superar el estrés post-plantación puede depender de un bajo crecimiento durante el período inicial hasta alcanzar un tamaño suficiente que le permita reactivar el crecimiento aéreo (Navarro-Cerrillo *et al.*, 2005; Ceacero *et al.*, 2012). Las especies de hoja perenne pueden utilizar esta estrategia almacenando amplias cantidades de recursos bajo del suelo, ya que su capacidad de crecimiento por rebrote de la parte aérea les permite hacerlo (Sloan y Jacobs, 2012).

5.4. Comportamiento hídrico de las plántulas en su establecimiento

Las condiciones climáticas previas a la plantación, así como aquellas inmediatamente posteriores a la misma, son fundamentales de cara a la supervivencia inicial de las plantas (Margolis y Brand, 1990), pero una vez que el primer período de crecimiento vegetativo finaliza, su estado hídrico depende en gran medida de la capacidad de retención de agua del suelo, así como de la capacidad de las plántulas para desarrollar raíces, factores que están relacionados con la preparación del terreno (Querejeta *et al.*, 2001), y la calidad de la planta (Burdett, 1987; Navarro-Cerrillo *et al.*, 2006a). Bajo fuertes condiciones de estrés hídrico, como las registradas en este ensayo, el agua acumulada en las zonas profundas del suelo puede ser la única reserva a disposición de las plántulas durante los períodos de sequía.

Los potenciales hídricos a mediodía registrados para *Q. ilex* tras el primer período estival (2002) mostraron importantes diferencias entre tratamientos, con valores más altos para los brinzales introducidos en las plantaciones tempranas, así como para aquellos que fueron plantados sobre subsolado mecánico. De nuevo la fecha de plantación y la preparación del terreno fueron las variables explicativas del potencial hídrico del xilema consideradas como estadísticamente significativas en el modelo ANOVA multivariante desarrollado. Los menores niveles de potencial hídrico a mediodía fueron los registrados para las plántulas de la plantación tardía sobre ahoyado manual, sin encontrar diferencias significativas entre plantas de diferentes calidades. Estos resultados son consistentes con el desarrollo radicular registrado por las plántulas en los diferentes tratamientos, lo que determinó la respuesta fisiológica de las plántulas a las condiciones de estrés encontradas.

En el caso de *P. pinea*, se mantuvo este patrón de respuesta en función de la fecha de plantación y la preparación del terreno, pero las diferencias existentes entre plantas de diferentes calidades se hicieron más evidentes que para *Q. ilex*. De hecho, y al igual que ya ocurriera para la supervivencia del primer año, la calidad de planta pasó a formar parte del

modelo ANOVA multivariante desarrollado para explicar esta variable fisiológica, siendo considerado como estadísticamente significativo el término de interacción de la fecha de plantación con la calidad de planta. Este resultado viene a confirmar que la calidad de planta en el *P. pinea* adquiere un papel relevante cuando el resto de variables estudiadas son más limitantes, como es el caso del ahoyado para la preparación del terreno y las plantaciones tardías para la fecha de plantación. Los resultados obtenidos parecen estar claramente relacionados con la respuesta obtenida en términos de crecimiento y morfología del sistema radicular (**Fig. 4.3 y Fig. 4.4, Capítulo 4**), así como con los ratios de supervivencia registrados en el ensayo (**Fig. 2.3, Capítulo 2; Fig. 3.3, Capítulo 3; Fig. 4.2, Capítulo 4**), ya presentados en esta discusión.

El verano de 2003 (15,8 mm de precipitación acumulada entre mayo y septiembre) fue aún más seco que el de 2002 (79,8 mm para el mismo período), por lo que el desarrollo de un sistema profundo de enraizamiento fue esencial para la supervivencia y el crecimiento de las plántulas en estas condiciones extremas (Querejeta *et al.*, 2001). Estas condiciones de estrés extremo fueron constatadas al final del ensayo, en septiembre de 2003, cuando todos los tratamientos de *Q. ilex* presentaban un potencial hídrico al amanecer menor de -3 Mpa, e inferiores a -5 Mpa a mediodía (datos no incluidos en esta tesis).

Los valores de potencial hídrico del xilema registrados en este estudio parecen indicar que, en las condiciones de plantación testadas, *P. pinea* reaccionó mejor al estrés hídrico que *Q. ilex*. Mediciones de potencial hídrico realizadas por otros autores para especies mediterráneas mostraron una caída gradual del potencial hídrico durante la estación seca, registrando valores mínimos de potencial antes del amanecer de entre -1,8 MPa a -2.5 MPa (Baquedano y Castillo, 2006) para las especies de *Pinus*, y con valores mínimos de potencial al mediodía de hasta -4 MPa para *Q. ilex* (Vilagrosa *et al.*, 2005). Tanto los bajos valores como las diferencias encontradas en este estudio para el potencial hídrico del xilema a mediodía en ambas especies indican una respuesta diferencial al estrés hídrico entre los tratamientos, relacionado tanto con la fecha de plantación como con la preparación del terreno, y probablemente dependiente del desarrollo de las raíces y el acceso a los recursos de agua del suelo más profundos (Ceacero *et al.*, 2012). Esta respuesta del potencial hídrico sugiere que la superación del estrés de plantación es, probablemente, modulada por la accesibilidad al almacenamiento de agua del suelo (Cregg y Zhang, 2001).

A nivel de especie, *P. pinea* reacciona a través de una estrategia específica de la especie para resistir el estrés de plantación, reduciendo su conductancia estomática y acudiendo al cierre de estomas ante potenciales hídricos relativamente altos, manteniendo de este modo niveles de potencial moderadamente bajos (Adams *et al.*, 2012). Se trata pues de una estrategia “evitadora” del estrés mediante el ahorro de agua del suelo y la reducción de las tasas de evapotranspiración y el transporte hídrico por la raíz moderado, etc. (Schiller y Cohen, 1998), regulando la pérdida de agua relativamente pronto mediante ajuste osmótico, y perdiendo turgencia en sus células a potenciales relativamente altos (-2.2 MPa), que se corresponden con contenidos hídricos celulares también altos, cercanos al 83% (Vilagrosa *et al.*, 2005). Por su parte, *Q. ilex* mantiene su actividad estomática aun en condiciones de estrés hídrico extremo, alcanzados valores de potencial hídrico del xilema muy negativos, pudiendo llegar incluso a la cavitación de su sistema vascular (Nogués *et al.*, 2014). Estas estrategias diferenciales han tenido un reflejo evidente en el comportamiento de las plántulas en términos fisiológicos, y están directamente relacionadas con la respuesta obtenida en términos de supervivencia. Estos resultados vienen a confirmar la hipótesis planteada de la existencia de una estrategia fisiológica diferencial entre *P. pinea* y *Q. ilex* para afrontar el estrés de plantación tras su establecimiento en repoblaciones forestales mediterráneas (**Hipótesis c, Capítulo 1**).

El tratamiento de preparación del terreno modifica las propiedades del suelo tales como la estructura superficial, densidad aparente, aireación, temperatura y, en consecuencia, la disponibilidad de nutrientes y agua (De Chantal *et al.*, 2004). Una preparación más intensiva del suelo permite un mayor desarrollo de las raíces y, por tanto, que la plántula explore un mayor volumen de suelo. Así, durante el período de verano, las raíces más profundas tienen una especial importancia para la absorción de agua de las plántulas, pues, mientras el suelo se va secando, es en los horizontes más profundos donde ésta se encuentra disponible. Es por este motivo que, en términos absolutos, se ha registrado una amplia diferencia en relación a la supervivencia entre las plantas situadas sobre subsolado mecánico y aquellas sobre ahoyado manual, que sólo fueron atenuadas para los tratamientos plantados en fechas medias, debido a las mejores condiciones meteorológicas que encontraron las plántulas al disponer de importantes episodios de lluvia tras la plantación (215,2 mm de enero a abril).

Estudios anteriores señalaron que el aumento de la eficiencia en el uso del agua no se traduce necesariamente en un aumento de la supervivencia de las plántulas a la sequía (Zhang *et al.*, 1997). Con base en nuestros resultados, parece que la mejora de la supervivencia en los

tratamientos de las plantaciones está relacionada con el aumento de la absorción de agua a través de cambios en la morfología de la raíz y su capacidad de crecimiento (Querejeta *et al.*, 2001; Ceacero *et al.*, 2012).

Para concluir, en esta tesis se ha comprobado que la fecha de plantación, los tratamientos de preparación del terreno y la calidad de planta han demostrado ser factores que determinan la respuesta al establecimiento de plántulas de *Pinus pinea* y *Quercus ilex* en repoblaciones forestales en condiciones mediterráneas. No obstante, para entender cómo estos factores afectan a la supervivencia, el desarrollo morfológico y el estado fisiológicos de las plántulas introducidas, todos ellos (calidad de planta y técnicas de establecimiento) deben ser estudiados y analizados en forma conjunta e integrada, con el objeto de analizar las posibles interacciones ocurridas entre ellos.

Por ello, antes de ser acometida una determinada acción de repoblación forestal, debería realizarse un adecuado análisis de los factores que presentan influencia en el establecimiento de la futura plantación, así como las interacciones existentes entre ellos. En caso contrario, determinados factores de carácter logístico, como la fecha de plantación, podrían no ser priorizados, en favor de otros factores relacionados con las técnicas de repoblación elegidas, como la preparación del terreno o la calidad de planta. Sin embargo, en este trabajo se ha demostrado que si para la realización de preparaciones más intensas (como el subsolado mecánico), fuera necesario comprometer la fecha de plantación más adecuada, el uso de tratamientos de preparación del terreno menos intensos, como el ahoyado manual, pero realizados en fechas más favorables para el crecimiento inicial de las plántulas en el campo, podría ser más eficiente. Este hecho es debido en gran medida a la extraordinaria variabilidad de las precipitaciones en el medio Mediterráneo, lo que puede provocar que una mala elección de la fecha de plantación comprometa en gran medida la supervivencia de la repoblación. Será en esos casos, en los que se deba priorizar aquellos factores de mayor influencia en el desarrollo (ej. fecha de plantación), frente a aquellos que presentan menor asociación con la respuesta post-trasplante (ej. calidad de planta, preparación del terreno).

Para profundizar en el conocimiento de la respuesta que las especies forestales presentan tras su establecimiento en repoblaciones realizadas en medio mediterráneo es necesario ampliar y complementar esta línea de investigación, con nuevos trabajos de investigación que permitan entender, de una manera más precisa, cómo los diferentes factores que afectan a la respuesta post-trasplante, interaccionan entre sí. Esto permitiría definir de

manera más adecuada las prioridades relacionadas con las técnicas de repoblación a emplear en cada caso, con el objetivo de garantizar un adecuado establecimiento y desarrollo de las repoblaciones forestales mediterráneas.

Capítulo 6

Conclusiones

De los resultados obtenidos en este trabajo, y la discusión de los mismos, se han extraídos las siguientes conclusiones:

- La fecha de plantación, los tratamientos de preparación del terreno y la calidad de planta han demostrado ser factores que determinan la respuesta de *Quercus ilex* L. y *Pinus pinea* L. en repoblaciones realizadas bajo condiciones mediterráneas.
- Un adecuado análisis de cómo estos factores afectan a la supervivencia y al crecimiento de las repoblaciones, debe considerar las posibles interacciones que ocurren entre ellas, ya que se ha demostrado que existen efectos combinados entre ellos en la respuesta de la planta al estrés de plantación.
- La regresión logística se ha mostrado como una herramienta estadística más adecuada que los métodos basados en la comparación de los valores medios para el análisis de la supervivencia en plantaciones forestales, permitiendo el estudio de las interacciones ocurridas entre los diferentes factores estudiados.
- La fecha de plantación es la variable que más influye en la supervivencia y el crecimiento de plantaciones de *Quercus ilex* L. y *Pinus pinea* L. en medios mediterráneos. Las fechas de plantación tempranas (noviembre) y medias (enero) han resultado ser las más adecuadas para el establecimiento de plantaciones en ambientes mediterráneos, en tanto que el suministro hídrico tras la plantación resulta más probable.
- Las fechas de plantación tardías (marzo) limitan la capacidad de crecimiento radicular tras la plantación debido a que las plantas disponen de un período vegetativo más corto para el proceso de arraigo, lo que compromete su supervivencia y crecimiento.
- La preparación mecanizada mediante subsolado, frente al ahoyado manual, ha mostrado una mayor supervivencia y un mejor crecimiento de los brinzales después del establecimiento, en tanto que ofrecen un mayor volumen de suelo a ser explorado por las raíces de la planta, incrementando la disponibilidad de agua tras el establecimiento.

-
- Los brinzales de *Quercus ilex* L. y *Pinea pinea* L. desarrollan morfologías radiculares más extensas y estructuradas con preparaciones mecanizadas del terreno, lo que permite una mayor eficiencia en la búsqueda de recursos hídricos y un mejor estado fisiológico.
 - *Pinea pinea* presenta una estrategia de desarrollo radicular y control de sus funciones fisiológicas más eficientes que *Quercus ilex* L., permitiéndole una mayor adaptación a las limitaciones hídricas características de las repoblaciones forestales en medios mediterráneos.
 - La calidad de planta presenta un efecto limitado sobre la supervivencia y el crecimiento de plántulas de *Quercus ilex* L. y *Pinus pinea* L. tras su establecimiento. Sin embargo, aumenta su influencia al considerar el efecto combinado con la fecha de plantación y el tratamiento de preparación del terreno utilizado.
 - El diseño de los trabajos de repoblación forestal debe tener en cuenta la interacción de los factores de mayor influencia en el éxito de la plantación, dado que una inadecuada elección de uno de ellos, por ejemplo una fecha de plantación tardía (marzo), puede comprometer el efecto beneficioso del resto de factores (ej. preparación mecanizada del terreno).
 - Es necesario profundizar en el estudio del efecto individual de los factores que más influyen en el éxito de las repoblaciones en medio mediterráneo, que permita entender, de manera más precisa, cómo los diferentes factores que afectan a la respuesta post-trasplante interaccionan entre sí. Esto permitiría definir de manera adecuada las prioridades relacionadas con las técnicas de repoblación a emplear en cada caso, orientado a garantizar un adecuado establecimiento y desarrollo de las plántulas.

Referencias bibliográficas

- Abbott, R.D.; Carroll, R.J. 1984. *Interpreting multiple logistic regression coefficients in prospective observational studies*. American Journal of Epidemiology 119: 830-836.
- Abraia, V. 2000. *Medidas del efecto de un tratamiento (I): reducción absoluta del riesgo, reducción relativa del riesgo y riesgo relativo*. Semergen 26: 535-536.
- Abraia, V. 2001. *Medidas del efecto de un tratamiento (II): odds ratio y número necesario para tratar*. Semergen 27: 418-420.
- Adams, H.D.; Barron-Gafford, G.A.; Marasco, L.M.; Wiede, A.L.; Heard, M.M.; Minor, R.L.; Gardea, A.A.; Bentley, L.P.; Law, D.J.; Breshears, D.D.; Huxman, T.E. Travis E. Huxman. 2012. *Drought-induced Pinus seedling mortality hastens progressively with temperature as reflected in respiration during stomatal closure*. En: Adams, H.D. (Ed.), *Temperature sensitivity, physiological mechanism, and implications of drought-induced tree mortality (Appendix E)*, Department of Ecology and Evolutionary Biology, University of Arizona, pp.: 116-146.
- Agresti, A.; Kateri, M. 2011. *Categorical data analysis*. Springer Heidelberg, Berlin.
- Alloza, J.A. 2003. *Análisis de repoblaciones forestales en la Comunidad Valenciana. Desarrollo de criterios y procedimientos de evaluación*. Tesis Doctoral. 301 pp. Univ. Politécnica de Valencia. Valencia.
- Altman, A.; Waisel, Y. 2012. *Biology of root formation and development (Vol. 65)*. Springer Science & Business Media.
- Altman, D.G.; Deeks, J.J.; Sackett, D.L. 1998. *Odds ratios should be avoided when events are common*. British Medical Journal 317: 1318.
- Álvarez, R. 1995. *Estadística multivariante y no paramétrica con SPSS*. Aplicación a las ciencias de la salud. Ed. Díaz Santos, Madrid. 389 pp.
- Aphalo P.; Rikala, R. 2003. *Field performance of silver-birch planting-stock grown at different spacing and in containers of different volume*. New Forests 25: 93-108.
- Archibold, O.W. 1995. *Mediterranean Ecosystems: Ecology of World Vegetation*. Chapman Hall, London, 131-164.
- Baquedano, F.J.; Castillo, F.J. 2006. *Comparative ecophysiological effects of drought on seedlings of the Mediterranean water-saver Pinus halepensis and water-spenders Quercus coccifera and Quercus ilex*. Trees: 20, 689-700.
- Barberá, G.; Martínez-Fernández, F.; Alvarez-Rogel, J.; Albaladejo, J.; Castillo, V. 2005. *Short- and intermediate-term effects of site and plant preparation techniques on reforestation of a semiarid ecosystem with Pinus halepensis Mill*. New Forests 29: 177-198.

- Barbéro M.; Loisel R.; Quézel P.; Richardson D.M.; Romane F. 1998. *Pines of the Mediterranean Basin*. En: Richardson D.M. (Ed.), *Ecology and Biogeography of Pinus*. Cambridge University Press. Cambridge, pp: 153–170.
- Barranco, J.; Ortuño, S.F. 2004. *Aproximación al sector del piñón en España*. Revista Española de Estudios Agrosociales y Pesqueros 201: 165-189.
- Berger, T.W.; Glatzel, G. 2001. *Response of Quercus petraea seedlings to nitrogen fertilization*. Forest Ecology and Management: 149: 1–14.
- Bernier, P.Y.; Stewart, J.D.; González, A. 1995. *Shoot:Root ratio is of limited use in evaluating the quality of container conifer stock*. Tree planters' notes 46(3): 102-106.
- Blanco, E.; Casado, M.A.; Costa, M. 1997. *Los bosques ibéricos*. Editorial Planeta. Barcelona. España.
- Bocio, I.; Navarro, F.B.; Ripoll, M.A.; Jiménez M.N.; de Simón, E. 2004. *Holm oak (Quercus rotundifolia Lam.) and Aleppo pine (Pinus halepensis Mill.) response to different soil preparation techniques applied to forestation in abandoned farmland*. Annals of Forest Science 61: 171-178.
- Bocio, I.; De Simón, E.; Navarro-Cerrillo, F.B.; Ripoll, M.A. 2001. *Efectos de diferentes procedimientos de preparación del suelo en la forestación de tierras agrarias*. En: Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía (Ed.), *Actas del III Congreso Forestal Español*, Granada, España, pp.: 317-322.
- Bonner, F.T. 2008. *Seed biology*. En: Bonner, F.T.; Karrfalt, R.P. (Eds.). *The woody plant seed manual*. USDA, Forest Service, Northern Research Station, Hamden, Connecticut, pp.: 3-38.
- Breshears, D.D.; Myers, O.B.; Meyer, C.W.; Barnes, F.J.; Zou, C.B.; Allen, C.D.; McDowell, N.G.; Pockman, W.T. 2009. *Tree die-off in response to global change-type drought: mortality insights from a decade of plant water potential measurements*. Frontiers in Ecology and the Environment 7: 185–189.
- Brichler, T.; Royo, A.; Rose, R.W.; Minguez, M.P. 1998. *La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica*. Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales, 7(1): 109-122.
- Broncano, M.J.; Riba, M.; Retana, J. 1998. *Seed germination and seedling performance of two Mediterranean tree species, holm oak (Quercus ilex L.) and Aleppo pine (Pinus halepensis Mill.): a multifactor experimental approach*. Plant Ecology 138: 17-26.
- Burdett, A.N. 1987. *Understanding root growth capacity: theoretical considerations in assessing planting stock quality by means of root growth test*. Canadian Journal of Forest Research 20, 415-427.

- 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.
- Caldwell, M.M.; Pearce, R.P. 1994. *Exploitation of environmental heterogeneity by plants: ecophysiological processes above-and belowground*. Academic Press, San Diego, California, 429 pp.
- Canham, C.D.; Berkowitz, A.R.; Kelly, V.R.; Lovett, G.M.; Ollinger, S.V.; Schnurr, J. 1996. *Biomass allocation and multiple resource limitation in tree seedlings*. Canadian Journal of Forest Research 26: 1521–1530.
- Cañellas, I.; Bachiller, A. B.; González, G. M.; Finat, L. 1999. *Comportamiento de planta de "Pinus pinea" en vivero y campo: ensayos de técnicas de cultivo de planta, fertilización y aplicación de herbicidas*. Investigación agraria. Sistemas y recursos forestales, 8(2): 335-360.
- Castillo, V.; Querejeta, J.; Albadalejo, J. 2001. *Disponibilidad hídrica en repoblaciones de Pinus halepensis Mill. en medios semiáridos: efectos de los métodos de preparación del suelo*. Consejería de Medio Ambiente, Junta de Andalucía (Ed.), *Actas del III Congreso Forestal Español*, Granada, España, pp.: 94-99.
- Ceacero, C.J.; Díaz-Hernández, J.L.; del Campo, A.; Navarro-Cerrillo, R.M. 2012. *Interactions between soil gravel content and neighboring vegetation control management in oak seedling establishment success in Mediterranean environments*. Forest Ecology and Management 271: 10-18.
- Ceballos A.; Martínez-Fernández, J.; Luengo-Ugidos, M. A. 2004. *Analysis of rainfall trends and dry periods on a pluviometric gradient representative of Mediterranean climate in the Duero Basin, Spain*. Journal of Arid Environments 58: 215-233.
- Ceballos, L.; Ruiz de la Torre J. 1979. *Árboles y arbustos de la España peninsular*. ETSIM, Madrid.
- Cortina, J.; Vallejo, V.R. 1999. *Restoration of Mediterranean Ecosystems*. En: Farina A. (Ed.), *Perspectives in Ecology*, Backhuys Pub., Leiden. pp.: 479-490.
- Cortina, J.; Bellot, J.; Vilagrosa, A.; Caturla, R.; Maestre, F.; Rubio, E. 2004. *Restauración en semiárido*. En: Vallejo, V.R.; Alloza, J.A. (Eds.), *Avances en el Estudio de la Gestión del Monte Mediterráneo*. Valencia: Fundación CEAM, pp: 345-406.
- Cortina, J.; Peñuelas, J.L.; Puertolás, J.; Savé R.; Vilagrosa A. 2006. *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Estado actual de los conocimientos*. Organismo Autónomo Parques Nacionales, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid. 192 pp.

- Cortina, J.; Vilagrosa, A.; Trubat, R. 2013. *The role of nutrients for improving seedling quality in drylands*. *New Forests* 44(5): 719-732.
- Costa, P.; Bahrman, N.; Frigerio, J.M.; Kremer, A.; Plomion, C. 1998. *Water-deficit-responsive proteins in maritime pine*. *Plant Molecular Biology* 38: 587-596
- Court-Picon, M.; Gadbin-Henry, C.; Guibal, F.; Roux, M. 2004. *Dendrometry and morphometry of Pinus pinea L. in Lower Provence (France): adaptability and variability of provenances*. *Forest Ecology and Management* 194: 319-333.
- Cregg, B. M.; Zhang, J.W. 2001. *Physiology and morphology of Pinus sylvestris seedlings from diverse sources under cyclic drought stress*. *Forest Ecology and Management* 154: 131-139.
- Cubera, E.; Moreno, G.; Solla, A.; Madeira, M. 2012. *Root system of Quercus suber L. seedlings in response to herbaceous competition and different watering and fertilisation regimes*. *Agroforestry systems* 85(2): 205-214.
- Currey, C.J.; Hutchinson, V.A.; Lopez, R.G. 2012. *Growth, morphology, and quality of rooted cuttings of several herbaceous annual bedding plants are influenced by photosynthetic daily light integral during root development*. *HortScience* 47(1), 25-30.
- Davies, H.T.O.; Crombie, I.K.; Tavakoli, M. 1998. *When can odds ratios mislead?* *British Medical Journal*, 316: 989-991.
- Davis, A.S., Jacobs, D.F., 2005. *Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance*. *New Forests* 30, 295–311.
- De Chantal M., K. Leinonen, H. Ilvesniemi and C.J. Westman, 2003. *Combined effects of site preparation, soil properties, and sowing date on the establishment of Pinus sylvestris and Picea abies from seeds*. *Canadian Journal of Forest Research* 33: 931-945.
- De Chantal M.; Leinonen, K.; Ilvesniemi, H.; Westman, C.J. 2004. *Effects of site preparation on soil properties and on morphology of Pinus sylvestris and Picea abies seedlings at different dates*. *New Forests* 27: 159-173.
- de Luis, M.; Novak, K.; Čufar, K.; Raventós, J. 2009. *Size mediated climate–growth relationships in Pinus halepensis and Pinus pinea*. *Trees* 23(5): 1065-1073.
- de Simón, E. 1996. *Restauración de encinares. Modelos y técnicas de restauración. Masas mixtas*. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 3: 93-107.
- del Campo, A.D. 2002. *Régimen de cultivo, desarrollo en vivero, calidad de planta y respuesta al establecimiento en cuatro especies de frondosas mediterráneas*. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. Córdoba. 310 pp.

- del Campo, A.D.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Hermoso, J.; Ibáñez, A.J. 2007a. *Relationship between site and stock quality in Pinus halepensis Mill. reforestation on semiarid landscapes in eastern Spain*. Annals of Forest Science 64: 719-731.
- del Campo, A.D.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Hermoso, J.; Ibáñez, A.J. 2007b. *Relationship between root growth potential and field performance in Aleppo pine*. Annals of Forest Science 64: 541-548.
- del Campo, A.D.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Ceacero, C. J. 2010. *Seedling quality and field performance of commercial stocklots of containerized holm oak (Quercus ilex) in Mediterranean Spain: an approach for establishing a quality standard*. New Forests 39(1): 19-37.
- del Campo, A.D.; Hermoso, J.; Ceacero, C.J.; Navarro-Cerrillo, R.M. 2011. *Nursery location and potassium enrichment in Aleppo pine stock 1. Effect on nursery culture, growth, allometry and seedling quality*. Forestry 84(3): 221-234.
- Dey, D.C., Parker, W.C., 1997. *Morphological indicators of stock quality and field performance of red oak (Quercus rubra L.) seedlings underplanted in a central Ontario shelterwood*. New Forests 14: 145-156.
- DGGMN-CMA. 2004. *El pino piñonero (Pinus pinea) en Andalucía. Ecología, distribución y selvicultura*. Dirección General de Gestión del Medio Natural. Consejería de Medioambiente. Junta de Andalucía, 260 pp.
- Dobbertin, M. 2005. *Tree growth as indicator of tree vitality and of tree reaction to environmental stress: a review*. European Journal of Forest Research 124(4): 319-333.
- Domínguez, E.; Aldana, D. 2001. *La regresión logística. Un ejemplo de su uso en endocrinología*. Revista Cubana Endocrinología, 12(1): 58-64.
- Dominguez-Lerena, N., Herrero, I., Carrasco, L. Ocaña, J.L., Peñuelas, J.G. 2006. *Container characteristics influence Pinus pinea seedling development in the nursery and field*. Forest Ecology and Management 221: 63-71.
- Domisch, T.; Finér, L.; Lehto, T. 2001. *Effects of soil temperature on biomass and carbohydrate allocation in Scots pine (Pinus sylvestris) seedlings at the beginning of the growing season*. Tree Physiology 21: 465-472.
- Dumroese, R.K.; Barnett, J.P.; Jackson D.P.; Hains, M.J. 2009. *Interim guidelines for growing longleaf pine seedlings in container nurseries*. En: Dumroese, R. K.; Riley, L.E. (Eds.), *National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations*, Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Fort Collins, CO, USA. pp. 101-107.

- Dunsworth, G.B. 1997. *Plant quality assessment: an industrial perspective*. New Forests, 13: 439-448.
- Dupré, C.; Diekmann, M. 1998. *Prediction of occurrence of vascular plants in deciduous forests of South Sweden by means of Ellenberg indicator values*. Applied Vegetation Science, 1(1): 139-150.
- English N.B.; Weltzin J.F.; Fravolini A.; Thomas L.; Williams D.G. 2005. *The influence of soil texture and vegetation on soil moisture under rainout shelters in a semi-desert grassland*. Journal of Arid Environments 63: 324-343.
- Espelta, J.M.; Riba, M.; Retana, J. 1995. *Patterns of seedling recruitment in west Mediterranean coppiced Holm-oak (*Quercus ilex* L.) forests as influenced by canopy development*. Journal of Vegetation Science 6: 465-472.
- Esteve, M.A.; Ferrer, D.; Ramírez-Díaz, L.; Calvo, J. F.; Suárez, M.L. ;Vidal-AbarcaI, M.R. 1990. *Restauración de la vegetación en ecosistemas áridos y semiáridos: algunas reflexiones ecológicas*. Ecología, Fuera de Serie 1: 497-510.
- Everitt, B.S. 1992. *The analysis of contingency tables*. CRC Press, Boca Raton, FL.
- Ezell, A.W.; Shankle, M.W.; Mark W. 2004. *Effects of Subsoiling and Competition Control on First Year Survival and Growth of Four Hardwood Species*. En: Connor, K.F. (Ed.), *Proceedings of the 12th biennial southern silvicultural research conference*. SRS-71. Asheville, NC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Research Station, Gen. Tech. Rep. pp. 571-573.
- FAO – ISRIC - ISSS, 1998. *World Reference Base for Soil Resources*. World Soil Resources Reports 84.FAO. Rome, 88 p.
- FAO. 2010. *Global Forest Resources Assessment 2010*. Roma. Disponible en: www.fao.org/forestry/fra/fra2010/en/
- FAO. 2014. *State of the World's Forests 2014*. Roma. Disponible: www.fao.org/forestry/sofo/en/
- FAO. 2015. *Global Forest resources assessment 2015. How are the world's forests changing?* Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/forest-resources-assessment/en/>
- Folk, R.S.; Grossnickle, S.C., 1996. *Determining field performance potential with the use of limited environmental conditions*. New Forests 13, 121-138.
- Folk, R.S.; Grossnickle, S.C. 1997. *Stock quality assessment: still an important component of operational reforestation programs*. En: Landis, T.D.; Thompson, J.R. (Eds.), *National proceedings*, Forest and Conservation Nursery Associations, Portland, OR. pp.: 109-119.

- Fuentes, D.; Valdecanos, A.; Vallejo, V.R. 2004. *Plantación de Pinus halepensis Mill. y Quercus ilex subsp. Ballota (Desf) Samp. en condiciones mediterráneas secas utilizando microcuencas*. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 17: 157-161.
- García, J., 1985. *El almacenaje en frío de la planta a utilizar en las repoblaciones forestales*. Montes 7: 15-27.
- Gil, L.; Prada, M.A. 1993. *Los pinos como especies básicas en la restauración forestal en el medio mediterráneo*. Ecología 7: 113-125.
- Gómez, A.; Alía, R.; Bueno, A.M. 2001. *Genetic diversity of Pinus halepensis Mill. Populations detected by RAPD loci*. Ann. Forum Sci. 58: 869-875.
- Gómez, J.M. 2003. *Spatial patterns in long-distance dispersal of Quercus ilex acorns by jays in a heterogeneous landscape*. Ecography 26: 573-584.
- Gómez, J.M.; Márquez, R.; Puerta Piñero, C. 2003. *Interacciones entre la encina Quercus ilex y el ratón de campo Apodemus sylvaticus mutualismo o antagonismo?* En: Asociación Española de Ecología Terrestre (Ed.), *Actas de la VII Conferencia de la AEET*. Barcelona, España, pp.: 14-24.
- Gómez, J.M. 2004. *Importance of microhabitat and acorn burial on Quercus ilex early recruitment: non-additive effects on multiple demographic processes*. Plant Ecology 192: 287-297.
- Gómez-Aparicio, L.; Valladares, F.; Zamora, R.; Quero, J.L. 2005. *Response of tree seedlings to the abiotic heterogeneity generated by nurse shrubs: an experimental approach at different scales*. Ecography 28: 757-768.
- Gordo, J.; Mutke, S.; Prada, A. 1999. *El pino piñonero (Pinus pinea L.)*. En: Alía, R., Galera, R., Martín, S. (Eds.), *Mejora genética y masas productoras de semilla de los pinares españoles*, CIFOR INIA-DGCONA, Madrid.
- Graff, J.E.; Hermann, R.K.; Zaerr, J.B. 1999. *Dry matter and nitrogen allocation in western redcedar, western hemlock, and Douglas fir seedlings grown in low- and high-N soils*. Annals of Forest Science 56: 529-538.
- Grossnickle, S.C. 2012. *Why seedlings survive: influence of plant attributes*. New Forests 43: 711-738.
- Heiskanen, J.; Rikala, R. 2000. *Effects of peat-based container media on establishment of scots pine, norway spruce and silver birch seedlings after transplanting in contrasting water conditions*. Scandinavian Journal of Forest Research, 15: 49-57.
- Helenius, P.; Luoranen, J.; Rikala, R.; Leinonen K. 2002. *Effect of drought on growth and mortality of actively growing Norway spruce container seedlings planted in summer*. Scandinavian Journal of Forest Research 17: 218-224.

- Heredia, N.; Torres Sanchez, J.; Oliet, J.; Villar-Salvador, P.; Benito, L.F.; Peñuelas, J.L. 2009. *Influencia de la fertilización y del régimen térmico durante el cultivo en la aclimatación al frío de Quercus ilex L.* En: SECF-Junta de Castilla y León (Eds.), *Actas del 5º Congreso Forestal Español*. Ávila.
- Hosmer, D.W.; Hosmer, T.; Le Cessie, S.; Lemeshow, S. 1997. *A comparison of goodness-of-fit tests for the logistic regression model*. *Statistics in Medicine*, 16: 965-980.
- Hosmer D.W.; Lemeshow S. 2000. *Applied Logistic Regression*. John Wiley & Sons Ltd., New York. 375 pp.
- Iivonen, S.; Rikala, R.; Ryyppö, A.; Vapaavuori E. 1999. *Responses of Scots pine (Pinus sylvestris) seedlings grown in different nutrient regimes to changing root zone temperature in spring*. *Tree Physiology* 19: 951–958.
- Infante, J.M.; Domingo F.; Fernández Alés, R.; Joffre R.; Rambal, S. 2003. *Quercus ilex transpiration as affected by a prolonged drought period*. *Biologia Plantarum* 46: 49-55.
- IPCC. 2014. *Cambio climático 2014. Mitigación del cambio climático. Contribución del Grupo de trabajo III al Quinto Informe de Evaluación del Grupo Intergubernamental de Expertos sobre el Cambio Climático*. Disponible en: https://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar5/wg3/WG3AR5_SPM_brochure_es.pdf
- Jaccard, J. 2001. *Interaction effects in logistic regression*. Sage Publications, New York. 70pp.
- Jackson, D. P.; Dumroese, R. K.; Barnett, J. P. 2012. *Nursery response of container Pinus palustris seedlings to nitrogen supply and subsequent effects on outplanting performance*. *Forest Ecology and Management*, 265: 1-12.
- Jacobs, D.F.; Salifu, K.F.; Seifert, J.R. 2005. *Relative contribution of initial root and shoot morphology in predicting field performance of hardwood seedlings*. *New Forests* 30: 235–251.
- Jenkinson, J.L.; Nelson, J.A.; Huddleston, M.E. 1993. *Improving planting stock quality. The Humboldt experience*. USDA. Forest Service. General Technical Report, 219 pp.
- Jiménez, M.N.; Fernández-Ondoño, E.; Ripoll, M.A.; Castro-Rodríguez, J.; Huntsinger, L.; Navarro, F.B. 2013. *Stones and organic mulches improve the Quercus ilex L. afforestation success under Mediterranean climatic conditions*. *Land Degradation and Development*. DOI: 10.1002/ldr.2250
- Johansson, M.B. 1994. *The influence of soil scarification on the turn-over rate of slash needles and nutrient release*. *Scandinavian Journal of Forest Research* 9: 170–179.

- Johnson, J.D.; Cline, M.L. 1991. *Seedling quality of southern pines*. En: M.L. Duryea; P.M. Dougherty (Eds.), *Forest Regeneration Manual*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands. pp.: 143-149.
- Johnstone, J.F.; Chapin III, F.S. 2006. *Effects of soil burn severity on post-fire tree recruitment in boreal forest*. *Ecosystems* 9(1): 14-31.
- Jorge, I.; Navarro-Cerrillo, R. M.; Lenz, C.; Ariza, D.; Porras, C.; Jorrín, J. 2005. *The Holm Oak leaf proteome: Analytical and biological variability in the protein expression level assessed by 2-DE and protein identification tandem mass spectrometry de novo sequencing and sequence similarity searching*. *Proteomics* 5(1): 222-234.
- Karlsson A., 2002. *Site preparation of abandoned fields and early establishment of planted small-sized seedlings of silver birch*. *New Forests* 23: 159-175.
- Ketchum, J.S.; Rose, R. 2000. *Interaction of initial seedling size, fertilization and vegetation control*. *21st Forest Vegetation Management Conference*. January 18-20. Redding (CA), pp.: 63-69.
- Kleinbaum, D.G.; Klein, M. 2010. *Analysis of Matched Data Using Logistic Regression*. Springer New York, pp.: 389-428.
- Kobe, R.K.; Iyer, M.; Walters, M.B. 2010. *Optimal partitioning theory revisited: Nonstructural carbohydrates dominate root mass responses to nitrogen*. *Ecology* 91: 166-179.
- Kooistra, C.; Brazier, D. 1999. *Seedling standards and the need for them*. En: Landis, T.D.; Barnett, J.P. (Eds.), *National proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations*. USDA Forest Service Southern Research Station, Ashville (NC). pp.: 111-115.
- La Scala, N.; Lopes, A.; Spokas, K.; Bolonhezi, D.; Archer, D.W.; Reicosky, D.C. 2008. *Short-term temporal changes of soil carbon losses after tillage described by a first-order decay model*. *Soil and Tillage Research* 99: 108–118.
- Landis, T.D. 1985. *Mineral nutrition as an index of seedling quality*. En: Duryea, M.L. (Ed.), *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, Heidelberg, Berlin.
- Leiva, M.J.; Fernández-Alés, R. 1998. *Variability in seedling water status during drought within a Quercus ilex subsp. ballota population, and its relation to seedling morphology*. *Forest Ecology and Management* 111: 147–156.
- Leoburgeois, F., Mérian, P., Courdier, F. Ladier, J., Dreyfus. 2011. *Instability of climate signal in tree-ring width in Mediterranean mountains: a multi-species analysis*. *Trees* 26(3): 715-729.

- 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.
- Llovet, J. 2006. *Degradación del suelo posterior al fuego en condiciones mediterráneas. Identificación de factores de riesgo*. Ecosistemas 15 (3): 199-202.
- Löf, M.; Dey, D.C.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Jacobs, D.F. 2012. *Mechanical site preparation for forest restoration*. New Forests 43(5-6): 825-848.
- Lookingbill, T.R.; Zavala, M.A. 2000. *Spatial pattern of Quercus ilex and Quercus pubescens recruitment in Pinus halepensis dominated woodlands*. Journal of Vegetation Science, 11: 607-612.
- Lopushinsky, W.; Max, T.A. 1990. *Effect of soil temperature on root and shoot growth and on bud burst timing in conifer seedling transplants*. New Forests 4: 107–124.
- Luoranen, J.; Rikala, R.; Konttinen, K.; Smolander, H. 2006. *Summer planting of Picea abies container-grown seedlings: effects of planting date on survival, height growth and root egress*. Forest Ecology and Management 237: 534-544.
- Luoranen, J.; Rikala, R.; Smolander, H. 2003. *Root egress and field performance of actively growing Betula pendula container seedlings*. Scandinavian Journal of Forest Research 18: 133-144.
- Madala, G.S. 1983. *Limited dependent and qualitative variables in econometrics*. Cambridge University Press, London. pp.
- 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.
- Maestre, F.T.; Cortina, J. 2004. *Are Pinus halepensis plantations useful as a restoration tool in semiarid Mediterranean areas?* Forest Ecology and Management, 198(1): 303-317.
- MAGRAMA. 2011. *Pinos (Pinus pinaster, Pinus pinea, P. halepensis)*. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medioambiente. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/es/costas/temas/proteccion-costa/19_Pinos_tcm7-338459.pdf
- MAPA. 2006. *Forestación de Tierras Agrícolas. Análisis de su evolución y contribución a la fijación de carbono y al uso racional de la tierra*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Dirección General de Desarrollo Rural. Madrid, 373 pp.
- Margolis H.A.; Brand, D.G. 1990. *An ecophysiological basis for understanding plantation establishment*. Canadian Journal of Forest Research 20: 375-390.

- Martínez, M.A.; De Irala, J.; Guillén, F. 1999. *¿Qué es una odds ratio?* Medicina Clínica 112: 416-422.
- Mattsson, A. 1997. *Predicting field performance using seedling quality assessment*. New Forests, 13: 227-252.
- McLaughlin, J.B.; Gale, M.R.; Jurgensen, M.F.; Trettin, C.C. 2000. *Soil organic matter and nitrogen cycling in response to harvesting, mechanical site preparation, and fertilization in a wetland with a mineral substrate*. Forest Ecology and Management 129: 7-23.
- Mentes, J.; Culp, K.; Maas, M.; Rantz, M. 1999. *Acute confusion indicators: risk factors and prevalence using MDS data*. Research in nursing and health 22(2): 95-105.
- Menzies, M.I.; Holden, D.G.; Klomp, B.K. 2001. *Recent trends in nursery practice in New Zealand*. New Forests, 22(1-2): 3-17.
- Mexal J.G.; Landis T.D. 1990. *Target Seedling Concepts: Height and Diameter*. En Rose, R.; Campbell, S.J.; Landis, T.D. (Eds.), *Target seedling symposium: Proceedings, combined meeting of the western forest nursery associations*. Roseburg, Oregon, pp.: 17-34.
- Millennium Assessment. 2007. *Millennium Ecosystem Assessment. A toolkit for understanding and action. Protecting Nature's services. Protecting ourselves*. Island Press. Washington. Disponible en: www.islandpress.com/matoolkit/MAToolkit.pdf
- Mitchell B.A.; Correl R.L. 1987. *The soil water regime in a young radiata pine plantation in southeastern Australia*. New Forests 4: 273-289.
- Moles, A.T.; Westoby, M. 2004. *Seedling survival and seed size: a synthesis of the literature*. Journal of Ecology 92(3): 372-383.
- Mollá, S.; Villar-Salvador, P.; García-Fayos, P.; Rubira, J.L.P. 2006. *Physiological and transplanting performance of Quercus ilex L. (holm oak) seedlings grown in nurseries with different winter conditions*. Forest Ecology and Management 237(1): 218-226.
- Montero, G., Cañellas, I., 2000. *Selvicultura de Pinus pinea L. Estado actual de los conocimientos en España*. En: Junta de Castilla y León (Ed.), *I Simposio del Pino Piñonero (Pinus pinea L.)*, Tomo I, Valladolid, España, pp.: 21-38.
- Montero, G.; Serrada, R. 2013. *La situación de los bosques y el sector forestal en España - ISFE 2013*. Sociedad Española de Ciencias Forestales (Ed.). Lourizán (Pontevedra).
- Na, S.J.; Kim, I.S.; Lee, D.H.; Lee, W.Y. 2013. *Effect of Initial Seedling Size and Root Pruning Intensity on Above-ground and Root Development in Quercus serrata Seedlings after Transplanting*. Korean Journal of Plant Resources 26(4): 503-510.
- Nambiar E.K.S. 1990. *Interplay between nutrients, water, root growth and productivity in young plantations*. Forest Ecology and Management 30: 213-232.

- Navarro, M. 1977. *Técnicas de forestación*. ICONA. Ministerio de Agricultura, Madrid. 211 pp.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; Palacios, G. 2004. *Efecto de la calidad de planta, el procedimiento de preparación y la fecha de plantación en la supervivencia de una repoblación de Pinus pinea L.* En: Sociedad Española de Ciencias Forestales (Ed.), *Actas de la III Reunión sobre Repoblaciones Forestales*. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales, 17. CEMACAM, Murcia. pp.: 199-204.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; Fragueiro, B.; Ceaceros, C.; del Campo, A.; de Prado, R. 2005. *Establishment of Quercus ilex L. subsp. ballota [Desf.] Samp. using different weed control strategies in southern Spain*. Ecological Engineering 25(4): 332-342.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; del Campo, A.; Cortina, J., 2006a. *Factores que afectan al éxito de una repoblación y su relación con la calidad de la planta*. En: Cortina, J.; Peñuelas, J.L.; Savé, R.; Puértolas, J.; Vilagrosa A. (Eds). *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos*. Serie forestal. DGB. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; Retamosa, M.J.; López, J.; del Campo, A.; Salmoral, L., 2006b. *Nursery practices and field performance for the endanger Mediterranean species Abies pinsapo Boiss: 5-year results*. Ecological Engineering 27: 93-99.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; Villar-Salvador, P.; del Campo, A. 2006c. *Morfología y establecimiento de plántulas*. En: Cortina, J.; Peñuelas, J.L.; Savé, R.; Puértolas, J.; Vilagrosa A. (Eds). *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos*. Pp. 67-88. Serie forestal. DGB. Ministerio de Medio Ambiente, Madrid.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; Ariza, D.; Jorrín, J.; Jorge, I.; Echevarría, S. 2008. *Variabilidad intrapoblacional e interpoblacional de la encina (Quercus ilex L.)*. En: Fernandez, P.; Carbonero, M.D.; Blázquez, A. (Eds.), *La dehesa en el norte de Córdoba*. Universidad de Córdoba, pp: 163-168.
- Navarro-Cerrillo, R.M.; del Campo, A.D.; Ceacero, C.J.; Quero, J.L.; de Mena, J.H. 2014. *On the importance of topography, site quality, stock quality and planting date in a semiarid plantation: Feasibility of using low-density LiDAR*. Ecological Engineering 67: 25-38.
- Niinemets, U.; Valladares, F. 2006. *Tolerance to shade, drought and water-logging of temperate, Northern hemisphere trees and shrubs*. Ecological Monographs 76: 521-547.
- Nogués, I.; Llusà, J.; Ogaya, R.; Munné-Bosch, S.; Sardans, J.; Peñuelas, J.; Loreto, F. 2014. *Physiological and antioxidant responses of Quercus ilex to drought in two different seasons*. Plant Biosystems 148(2): 268-278.

- Olarieta, J.R.; Usón, A.; Rodríguez, R.; Rosa, M.; Blanco, R.; Antúnez, M. 2000. *Land requirements for Pinus halepensis Mill. growth in a plantation in Huesca, Spain*. Soil Use and Management 16(2): 88-92.
- Oliet, J.A.; Navarro-Cerrillo, R.M.; Contreras, O. 2003. *Evaluación de la aplicación de mejoradores y tubos en repoblaciones forestales*. Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, Sevilla, España, 234 pp.
- Oliet, J. A.; 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 and Management, 215(1): 339-351.
- Oliet J.A.; Jacobs D.F. 2007. *Microclimatic conditions and plant morpho-physiological development within a tree shelter environment during establishment of Quercus ilex seedlings*. Agricultural and Forest Meteorology 144: 58–72.
- Oliet, J.; Valdecantos, A.; Puértolas, J.; Trubat, R. 2007. *Influencia del estado nutricional y el contenido en carbohidratos en el establecimiento de las plantaciones*. En: Cortina, J.; Peñuelas, J.L.; Puértolas, J.; Savé, R.; Vilagrosa, A. (Eds.), *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos*. Pp: 89-119.
- Oliet, J.A.; Planelles, R.; Artero, F.; Valverde, R.; Jacobs, D.F.; Segura, M. 2009. *Field performance of Pinus halepensis planted in Mediterranean arid conditions: relative influence of seedling morphology and mineral nutrition*. New Forests 37, 313–331.
- Oliet, J.A.; de Castro, A.V.; Puértolas, J. 2015. *Establishing Quercus ilex under Mediterranean dry conditions: sowing recalcitrant acorns versus planting seedlings at different depths and tube shelter light transmissions*. New Forests 46(5-6): 869-883.
- Olivo, V.B.; Buduba, C.G. 2006. *Influencia de seis sustratos en el crecimiento de Pinus ponderosa producido en contenedores bajo condiciones de invernáculo*. Bosque (Valdivia) 27(3): 267-271.
- Oria, J.A.; Hernández, M.; Martín, P.; Pando V.; Olaizola, J. 2010. *Could artificial reforestation provide as much production and diversity of fungal species as natural forest stands in marginal Mediterranean areas?* Forest Ecology and Management 260: 171–180.
- Örlander G.; Gemmel P.; Hunt J. 1990. *Site preparation: a Swedish overview*. FRDA Report No. 105, Victoria, BC.
- Ortega, M.; Cayuela, A. 2002. *Unconditioned logistic regression and sample size: a reference source review*. Revista Española de Salud Pública 76(2): 85-93.
- Ovando, P.; Campos, P.; Calama, R.; Montero, G. 2008. *Rentabilidad de la forestación de tierras agrícolas marginales con pino piñonero (Pinus pinea L.) en la provincia de Valladolid*. En: Asociación Hispano-Portuguesa de Economía de los Recursos Naturales y

- el Medio Ambiente (Ed.), *III Conferencia de la Asociación Hispano Portuguesa de Economía de los Recursos Naturales y Ambientales*, AERNA, Vol. 4, Palma de Mallorca.
- Packer, A.; Clay, K. 2000. *Soil pathogens and spatial patterns of seedling mortality in a temperate tree*. *Nature* 404(6775): 278-281.
- Page-Dumroese, D. S.; Dumroese, R. K.; Jurgensen, M. F.; Abbott, A.; Hensiek, J. J. 2008. *Effect of nursery storage and site preparation techniques on field performance of high-elevation Pinus contorta seedlings*. *Forest Ecology and Management* 256(12): 2065-2072.
- Palacios, G.; Navarro-Cerrillo, R.M.; del Campo, A.; Toral, M. 2009. *Site preparation, stock quality and planning date effect on early establishment of Holm oak (Quercus ilex L.) seedlings*. *Ecological Engineering* 35: 38-46.
- Pallardy, S.G., J.S. Pereira and W.C. Parker. 1991. *Measuring the status of water in forest trees*. En: Hinckley, T.M.; Lassoie, J.P. (Eds.), *Techniques and Approaches in Forest Tree Ecophysiology*, CRC Press, Boca Raton, FL, pp 27-76.
- Pardo, A.; Ruíz, M.A. 2002. SPSS 11. *Guía para el análisis de datos*. Ed. McGraw Hill, Madrid. 715 pp.
- Pardos, M.; Royo, A.; Gil, L.; Pardos, J.A. 2003. *Effect of nursery location and outplanting date on field performance of Pinus halepensis and Quercus ilex seedlings*. *Forestry* 76: 67-81.
- Pascual, S.; Olarieta, J.R.; Rodríguez-Ochoa, R. 2012. *Development of Quercus ilex plantations is related to soil phosphorus availability on shallow calcareous soils*. *New Forests* 43(5-6): 805-814.
- Pausas, J.G.; Bladé, C.; Valdecantos, A.; Seva, J.P.; Fuentes, D.; Alloza, J.A.; Vilagrosa, A.; Bautista, S.; Cortina, J.; Vallejo, R. 2004. *Pines and oak in the restoration of Mediterranean landscape of Spain: New perspectives for an old practice - a review*. *Plant Ecology* 171: 209-220.
- Pearson, K. 1911. *On the probability that two independent distributions of frequency are really samples from the same population*. *Biometrika*, 8: 250-254.
- Pearson, K. 1913. *On the probable error of correlation coefficient as found from a fourfold table*. *Biometrika*, 9: 22-27.
- Pérez-Ramos, I.; Rodríguez-Calcerrada, J.; Ourcival, J.M.; Rambal, S. 2013. *Quercus ilex recruitment in a drier world: A multi-stage demographic approach*. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15, 106-117.
- Pigott C.D; Pigott, S. 1993. *Water as a determinant of distribution of trees at the boundary of the Mediterranean zone*, *Journal of Ecology* 81: 557-566.

- Pitt, D.G.; Krishka, C.S.; Bell, F.W.; Lehela, A. 1999. *Five-year performance of three conifer stock types on fine sandy loam soils treated with hexazinone*. North.J.of Applied Forestry, 16: 72-81.
- Plaisance, G. 1977. *Le pin parasol*. Forêt Privée 115: 47-54.
- Pons, J.; Pausas, J.G. 2006. *Oak regeneration in heterogeneous landscapes: the case of fragmented Quercus suber forests in the eastern Iberian Peninsula*. Forest ecology and management 231: 196-204.
- Poorter, H.; Niklas, K. J.; Reich, P. B.; Oleksyn, J.; Poot, P.; Mommer, L. 2012. *Biomass allocation to leaves, stems and roots: meta-analyses of interspecific variation and environmental control*. New Phytologist 193(1): 30-50.
- Prévost M. 1992. *Effets du scarifiage sur les propriétés du sol, la croissance des semis et la compétition: revue des connaissances actuelles et perspectives de chercheurs au Québec*. Annals of Forest Science 49: 277-296.
- Puerta-Piñero, C.; Gómez J.M.; Valladares, F. 2007. *Irradiance and oak seedling survival and growth in a heterogeneous environment*. Forest Ecology and Management 242: 462-469.
- 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.
- Puigdefábregas, J.; Mendizabal, T. 1998. *Perspectives on desertification: western Mediterranean*. Journal of Arid Environments 39: 209-224.
- Querejeta, J.; Roldán, A.; Albadalejo, J.; Castillo, V. 2000. *Soil physical properties and moisture content affected by site preparation in the afforestation of a semiarid rangeland*. Soil Science Society of America Journal 64: 2087-2096.
- Querejeta, J.; Roldán, A.; Albadalejo, J.; Castillo, V. 2001. *Soil water availability improved by site preparation in a Pinus halepensis afforestation under semiarid climate*. Forest Ecology and Management 149: 115-128.
- Quero, J.L.; Sterck, F.J.; Martínez-Vilalta, J.; Villar, R. 2011. *Water-use strategies of six co-existing Mediterranean woody species during a summer drought*. Oecologia 166: 45-57.
- Quinn, G.P.; Keough, M.J. 2002. *Experimental design and data analysis for biologists*. Cambridge University Press. 537 pp.
- Radoglou, K.; Raftoyannis Y.; Halivopoulos, G. 2003. *The effects of planting date and seedling quality on field performance of Castanea Sativa Mill. and Quercus frainetto Ten. seedlings*. Forestry 76: 569-578.

- Retana, J.; Espelta, J.M.; Gracia, M.; Riba, M. 1999. *Seedling recruitment*. En: Rodá, F.; Retana, J.; Gracia, C.A.; Bellot, J. (Eds.), *Ecology of Mediterranean Evergreen Oak Forests*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 89–103.
- Rey, J.M. 1998. *Growth and mortality in Quercus ilex L. seedlings after irrigation and artificial shading in Mediterranean set-aside agricultural lands*. *Annals of Forest Science* 55: 801–807.
- Rey, J.M.; Camacho, A. 2004. *Performance of Quercus ilex saplings planted in abandoned Mediterranean cropland after long-term interruption of their management*. *Forest Ecology and Management* 194: 223–233.
- Ritchie, G.A. 1984. *Assessing seedling quality*. En: Duryea, M.L.; Landis, T.D. (Eds.), *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings*. The Hague: Martinus Nijhoff/Dr. W. Junk Publishers, Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis (OR), pp.: 243-259.
- Rodo, X.; Comín, F. 2001. *Fluctuaciones del clima mediterráneo: conexiones globales y consecuencias regionales*. En: Zamora, R.; Pugnaire, F.I. (Eds.). *Ecosistemas mediterráneos. Análisis funcional*. CSIC – AEET, Granada. pp. 1-35.
- Royo, A.; Gil, L.; Pardos, J.A. 2000. *Efecto de la fecha de plantación sobre la supervivencia y el crecimiento del pino carrasco*. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 10: 57-62.
- Royo, A., Gil, L., Pardos, J.A. 2001. *Effect of water stress conditioning on morphology, physiology and field performance of Pinus halepensis Mill. Seedlings*. *New Forests* 21: 127-140.
- Sánchez-Gómez, D.; Valladares, F.; Zavala, M.A. 2006. *Performance of seedlings of Mediterranean woody species under experimental gradients of irradiance and water availability: trade-offs and evidence for niche differentiation*. *New Phytology* 170: 795–806.
- Schiaffino, A.; Rodríguez, M.; Pasarín, M.I.; Regidor, E.; Borrell, C.; Fernández, E. 2003. *¿Odds ratio o razón de proporciones? Su utilización en estudios transversales*. *Gaceta Sanitaria* 17(1): 70-74.
- Schiller, G., Cohen, Y. 1998. *Performance of Aleppo pine (Pinus halepensis) provenances grown at the edge of the Negev desert: A review*. *Forest Ecology and Management* 105: 121-128.
- Schoenfeld, D.A. 1982. *Analysis of categorical data: logistic model*. En: Mike, V.; Staley, K.E. (Eds.), *Statistics in Medical Research*, New York. pp.: 433-454.

- Scholander, P.F.; Hammel, H.T.; Bradstreet, E.D.; Hemmingen, E.A. 1965. *Sap pressure in vascular plants*. Science 148: 339-346.
- SECF. 2009. *Avance del informe sobre la "Situación de los bosques y del Sector forestal en España"*. Sociedad Española de Ciencias Forestales. En: SECF-Junta de Castilla y León (Eds.), *Actas del 5º Congreso Forestal Español*. Ávila.
- Seifert, J.; Jacobs, D.J.; Selig, M.F.; 2006. *Influence of seasonal planting date on field performance of six temperate deciduous forest tree species*. Forest Ecology and Management 223: 371–378.
- Serrada, R. 1993. *Apuntes de repoblaciones forestales*. Fundación Conde del Valle de Salazar. Madrid, 379pp.
- Serrada, R.; Navarro-Cerrillo R.M.; Pemán, J. 2005. *La calidad de las repoblaciones forestales: una aproximación desde la silvicultura y la ecofisiología*. Investigaciones agrarias. Sistemas y Recursos Forestales 14(3): 462-481.
- Sidari, M.; Mallamaci, C.; Muscolo, A. 2008. *Drought, salinity and heat differently affect seed germination of Pinus pinea*. Journal of Forest Research 13: 326-330.
- Sigala, J.A.; González, M.A.; Prieto, J.A. 2015. *Supervivencia en plantaciones de Pinus pseudostrobus Lindl. en función del sistema de producción y preacondicionamiento en vivero*. Revista Mexicana de Ciencias Forestales 6(30): 20-31.
- Simpson, E.H. 1951. *The Interpretation of Interaction in Contingency Tables*. Journal of the Royal Statistical Society, Ser. B(13): 238-241.
- Sloan, J.L.; Jacobs, D.F. 2012. *Leaf physiology and sugar concentrations of transplanted Quercus rubra seedlings in relation to nutrient and water availability*. New Forests 43: 779-790.
- Snyder, K.A., Tartowski, S.L. 2006. *Multi-scale temporal variation in water availability: Implications for vegetation dynamics in arid and semi-arid ecosystems*. Journal of Arid Environments 65: 219–234
- South, D.B. 2000. *Planting morphologically improved pine seedlings to increase survival and growth*. En: Alabama Agricultural Experiment Station (Ed.), *Forestry and Wildlife Research Series N° 1*. Auburn University, Alabama. 12 pp.
- South D.B.; Rose R.W.; McNabb K.L. 2001. *Nursery and site preparation interaction research in the United States*. New Forests 22: 43-58.
- South, D.B.; Harris, S.W.; Barnett, J.P.; Hains M.J.; Gjerstad, D.H. 2005. *Effect of container type and seedling size on survival and early height growth of Pinus palustris seedlings in Alabama*. U.S.A. Forest Ecology and Management 204(2): 385-398.

- Stape, J.L.; Moraes Gonçalves, J.L.; Gonçalves, A.N. 2001. *Relationships between nursery practices and field performance for Eucalyptus plantations in Brazil*. New Forests, 22(1-2): 19-41.
- Sutton, R.F., 1993. *Mounding site preparation: a review of European and North American experience*. New Forests 7: 151-192.
- Talsma T.; Gardner E.A. 1986. *Soil water extraction in a mixed eucalyptus forest during a drought period*. Australian Journal of Soil Research 24: 25-32.
- Tan, W.; Hogan, G.D. 1995. *Effects of nitrogen limitation on water relations of jack pine (Pinus banksiana Lamb.) seedlings*. Plant Cell and Environment 18: 757-764.
- Terradas, J. 1991. *Mediterranean woody plant growth-forms, biomass and production in the eastern part of the Iberian Peninsula*. Oecologia aquatica 10: 337-349.
- Thiffault N., Roy V. 2011. *Living without herbicides in Québec (Canada): historical context, current strategy, research and challenges in forest vegetation management*. European Journal of Forest Research 130: 117-133.
- Thompson, B.E. 1985. *Seedling morphological evaluation. What you can tell by looking*. En: Duryea, M.L. (Ed.), *Evaluating seedling quality: principles, procedures and predictive abilities of major test*. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis (OR). pp.: 59-70.
- Timmer, V.R.; Armstrong, G.; Miller, B.D.; 1991. *Steady-state nutrient preconditioning and early outplanting performance of containerized black spruce seedlings*. Canadian Journal of Forest Research 21: 585-594.
- Trubat, R.; Cortina, J.; Vilagrosa, A. 2010. *Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in Quercus suber L*. Journal of arid environments 74(4): 491-497.
- Trubat, R.; Cortina, J.; Vilagrosa, A. 2012. *Root architecture and hydraulic conductance in nutrient deprived Pistacia lentiscus L. seedlings*. Oecologia 170(4): 899-908.
- Tsakalimi, M.; Zagas, T.; Tsitsoni T.; Ganatsas P. 2005. *Root morphology, stem growth and field performance of seedlings of two Mediterranean evergreen oak species raised in different container types*. Plant and Soil 278: 85-93.
- Tsakalimi, M.; Ganatsas P.; Jacobs, D.F. 2013. *Prediction of planted seedling survival of five Mediterranean species based on initial seedling morphology*. New Forests 44(3): 327-339.
- Valladares, F.; Peñuelas, J.; Ogaya, R.; Camarero, J.J.; Corcuera, L.; Sisó, S.; Gil, E. 2004. *Estrés hídrico: Ecofisiología y escalas de la sequía*. En: Valladares, F. (Ed.). *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Organismo Autónomo de Parques Naturales, Madrid, Spain: Ministerio de Medio Ambiente, pp: 163-190.

- Valledor, L.; Castillejo, M.A.; Lenz, C.; Rodríguez, R.; Cañal, M.J.; Jorrín, J. 2008. *Proteomic analysis of Pinus radiata needles: 2-DE map and protein identification by LC/MS/MS and substitution-tolerant database searching*. Journal of Proteome Research 7: 2616–2631.
- Vallejo, R.; Alloza, J.A. 1999. *The restoration of burned lands: the case of eastern Spain*. En: Vallejo, R. (Ed.), *Large Forest Fires*. Backhuys, Leiden, pp. 91–108.
- Vallejo, V.R.; Aronson, J.; Pausas, J.; Cortina, J. 2006. *Restoration of Mediterranean Woodlands. Chapter 14*. En: J. Van Andel; J. Aronson (Eds.) *Restoration Ecology. The New Frontier*. Blackwell Publ., Oxford.
- van den Driessche, R. 1992. *Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium*. Canadian Journal of Forest Research 22: 740–749.
- Vapaavuori, E.; Rikala, R.; Ryyppö, A. 1992. *Effects of root temperature on growth and photosynthesis in conifer seedlings during shoot elongation*. Tree Physiology 10: 217-230.
- Varone, L.; Ribas-Carbo, M.; Cardona, C.; Gallé, A.; Medrano, H.; Gratani, L.; Flexas, J. 2012. *Stomatal and non-stomatal limitations to photosynthesis in seedlings and saplings of Mediterranean species pre-conditioned and aged in nurseries: Different response to water stress*. Environmental and Experimental Botany 75: 235-247.
- Vázquez, F.M. 1998. *Semillas de Quercus: Biología, Ecología y Manejo*. Junta de Extremadura, Badajoz.
- Vilagrosa, A. 2002. *Estrategias de resistencia al déficit hídrico en Pistacia lentiscus L. y Quercus coccifera L. Implicaciones en la Repoblación forestal*. Tesis doctoral Univ. de Alicante. 223pp.
- Vilagrosa, A.; Cortina, J.; Rubio, E.; Trubat, R.; Chirino, E; Gil, E.; Vallejo, V.R. 2005. *El papel de la ecofisiología en la restauración forestal de ecosistemas mediterráneos*. Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales, 14 (3): 446-461.
- Vilagrosa, A.; Villar-Salvador, P.; Puértolas, J. 2007. *El endurecimiento en vivero de especies forestales mediterráneas*. En: Cortina, J.; Peñuelas, J.L.; Puértolas, J.; Savé, R.; Vilagrosa, A. (Eds.), *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos*. Organismo Autónomo Parques Nacionales. Ministerio De Medio Ambiente. Madrid. pp: 119-140.
- Villar-Salvador, P., R. Planelles, E. Enriquez and J. Peñuelas, 2004. *Nursery cultivation regimes, plant functional attributes and field performance relationships in the Mediterranean oak Quercus ilex L*. Forest Ecology and Management 196: 257-266.

- Villar-Salvador, P.; Puértolas, J.; Cuesta, B.; Peñuelas, J.L.; Uscola, M.; Heredia-Guerrero, N.; Rey-Benayas, J.M. 2012. *Increase in size and nitrogen concentration enhances seedling survival in Mediterranean plantations. Insights from an ecophysiological conceptual model of plant survival*. *New Forests* 43: 755-770.
- Villar-Salvador, P.; Uscola, M.; Jacobs, D.F. 2015. *The role of stored carbohydrates and nitrogen in the growth and stress tolerance of planted forest trees*. *New Forests* 46: 813-839.
- Wang, J.; Wang, H.; Fu, X.; Xu, M.; Wang, Y. 2016. *Effects of site preparation treatments before afforestation on soil carbon release*. *Forest Ecology and Management* 361: 277–285.
- Wickens, T.D. 2014. *Multivariate contingency tables analysis for the social sciences*. Psychology Press. New York.
- Wilson, W.L.; Day, K.R.; Hart, E.A. 1996. *Predicting the extent of damage to conifer seedlings by the pine weevil (Hylobius abietis L.): a preliminary risk model by multiple logistic regression*. *New Forests* 12(3): 203-222.
- Zhang, Y.; Zhou, Z.; Yang, Q. 2013. *Genetic variations in root morphology and phosphorus efficiency of Pinus massoniana under heterogeneous and homogeneous low phosphorus conditions*. *Plant and soil* 364(1-2): 93-104.