



5º CONGRESO FORESTAL
ESPAÑOL

5º Congreso Forestal Español

Montes y sociedad: Saber qué hacer.

REF.: 5CFE01-283

Editores: S.E.C.F. - Junta de Castilla y León
Ávila, 21 a 25 de septiembre de 2009
ISBN: 978-84-936854-6-1
© Sociedad Española de Ciencias Forestales

Influencia de la fertilización y del régimen térmico durante el cultivo en la aclimatación al frío de *Quercus ilex* L.

HEREDIA, N.^{1*}, TORRES SANCHEZ, J.², OLIET, J.³, VILLAR-SALVADOR, P.¹, BENITO, L.F.⁴, PEÑUELAS, J.L..

¹Departamento de Ecología, Facultad de Ciencias, Universidad Alcalá, ctra N-II 33,500 Alcalá de Henares, 28871 Madrid, España.

²E.T.S. Ingenieros Agrónomos y de Montes de la Universidad de Córdoba. Avda. Menéndez Pidal, s/n 1401 Córdoba, España.

³Dpto. Silvopascicultura, ETS de Ingenieros de Montes, Ciudad Universitaria s/n 28040 Madrid.

⁴ Centro de Recursos Genéticos Forestales "El Serranillo", Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino, Apdo. 249, 19004 Guadalajara

*. Autor de contacto: norberto.heredia@uah.es

Resumen

Con objeto de reducir la mortalidad debida a la sequía estival, las reforestaciones en zonas de clima mediterráneo se realizan durante el otoño e invierno. Sin embargo, el frío puede dificultar el establecimiento de las plantas, por lo que es importante usar plantas resistentes al frío. La disminución de la temperatura durante el otoño induce el endurecimiento al frío en plantas mediterráneas. Una fertilización elevada en vivero durante el otoño puede aumentar las reservas de nutrientes de las plantas sin alterar su morfología pero también puede limitar el endurecimiento de la planta. Los objetivos de este trabajo son: i) conocer si la fertilización durante las últimas etapas de cultivo influye en la aclimatación al frío de *Quercus ilex*; ii) analizar si el efecto de la fertilización sobre la aclimatación al frío depende de la temperatura del lugar de cultivo, y iii) establecer el tiempo que debe transcurrir desde la helada para detectar su daño por fluorescencia. Se cultivaron plantas del mismo lote de bellotas en dos viveros de temperaturas invernales contrastadas, uno en Guadalajara de inviernos severos y otro en Córdoba de inviernos suaves. En cada localidad, las plantas se cultivaron con cuatro regímenes de fertilización: fertilización constante, tanto con alta y baja concentración de N, constante baja con sobrecarga otoñal y fertilización con alta concentración de N exponencial. En tres fechas a lo largo del otoño e invierno, se sometieron las plantas a heladas de -12, -18 y -25°C, y el daño experimentado se evaluó con medidas de fluorescencia, dos y siete días después de la helada. No se observaron en el test, diferencias de resistencia al frío entre los tratamientos de fertilización en ninguna de las fechas. En cambio, en las plantas de Guadalajara que permanecieron al aire libre y sufrieron el régimen de heladas natural sí se observaron diferencias de resistencia al frío entre tratamientos de fertilización. Las plantas fertilizadas exponencialmente y las sobrecargadas en otoño mostraron más daño que las fertilizadas con régimen de fertilización constante. Ello indica que la forma en la que las plantas experimentan la helada puede condicionar las conclusiones del efecto de la fertilización sobre la aclimatación al frío. En todas las fechas, las plantas de Guadalajara mostraron mayor resistencia al frío que las de Córdoba. Finalmente, el daño por frío se detectó ya al segundo día después de realizar el test de helada, tanto en mediciones de fluorescencia al alba como al mediodía.

Palabras clave

Endurecimiento, encina, Fv/Fm, helada, localidad de cultivo, nitrógeno, nutrición, vivero.

1. Introducción

En comparación con otras especies forestales, la regeneración natural de *Quercus ilex* (encina) es muy reducida y las plantaciones de esta especie muestran una elevada mortalidad, especialmente en lugares con condiciones climáticas adversas (BAEZA, 1991; CORTINA, 1997). Esto supone una pérdida de recursos públicos, además de desmotivación. Una vía para incrementar el éxito de las repoblaciones es manipular la morfología y fisiología de los plantones durante su cultivo en vivero, para hacerlos más capaces de superar la fase de establecimiento, que es la más limitante en las repoblaciones (VILLAR-SALVADOR, 2003). Una de las herramientas más importante para modificar los atributos funcionales de las plantas en el vivero es la fertilización ya que afecta profundamente la morfología y la concentración de nutrientes de la planta (LANDIS, 1989).

El estado nutricional de las plantas puede determinar su crecimiento en campo (OLIET ET AL., 2009). La retranslocación de N desde los órganos preexistente a los nuevos crecimientos sustenta en gran medida el crecimiento de los nuevos órganos (MILLARD, 1996; CHERBUY, 2001). En especies forestales no mediterráneas, la retranslocación o removilización de N desde los órganos preexistentes a los nuevos crecimientos determina en gran medida la respuesta postransplante de los plantones usados en forestación. Este efecto es más importante cuanto mayor sean las reservas de nutrientes de la planta y menor sea la disponibilidad de éstos en el suelo (SALIFU AND TIMMER, 2003; BOIVIN, 2004). VILLAR-SALVADOR (2004), demostró que la supervivencia y crecimiento en campo de la encina se correlaciona positivamente con el N almacenado en la raíz. Igualmente, la retranslocación de N desde los órganos preexistentes al nuevo crecimiento en varias quercíneas mediterráneas es más importante cuando el suelo no puede suplir la demanda de N de la planta (SILLA Y ESCUDERO, 2003). Todos estos antecedentes indican que es importante producir planta en el vivero con elevadas reservas de nutrientes (*sobrecargadas*), especialmente de N, para conseguir un buen establecimiento de las repoblaciones de encina.

La elevada fertilización con N puede, sin embargo, reducir la aclimatación o endurecimiento al frío en otoño o acelerar la desaclimatación al frío en primavera (PELLET & CARTER, 1981; CALMÉ & MARGOLIS, 1993; FLØISTAD & KOHMANN, 2004). En contraposición a estos estudios otros no han demostrado ningún efecto (FLØISTAD 2002) o efectos positivos (RIKALA & REPO 1997) de la fertilización nitrogenada sobre la aclimatación al frío. Algunos trabajos demuestran que existen valores de concentración óptimos de nutrientes que maximizan el endurecimiento (BIGRAS, 1996; DUMROESE, 2003). La mayor parte de los estudios sobre la influencia del N sobre la resistencia a factores de estrés en plantas forestales se han hecho en especies boreales y del mundo templado húmedo. Sin embargo, en especies mediterráneas esta interacción ha recibido muy poca atención (VILLAR-SALVADOR ET AL., 2005).

La aclimatación al frío de especies perennifolias mediterráneas parece estar más gobernada por la temperatura que por el fotoperíodo (FERNÁNDEZ ET AL., 2008). Una consecuencia de ello es que las condiciones invernales en el vivero determinan la aclimatación al frío (MOLLÁ ET AL., 2006). Por tanto, es esperable que si la proporción y concentración de nutrientes son factores que modifican el endurecimiento al frío, este proceso puede diferir entre viveros de condiciones invernales contrastadas.

En este trabajo se analiza si diferentes regímenes de fertilización tendentes a conseguir la sobrecarga de N en las plantas afectan la aclimatación al frío de *Q. ilex*. Además, en caso de existir una interferencia de la fertilización con la aclimatación al frío, se analiza si dicha interferencia depende de las condiciones térmicas de la localidad de cultivo. Finalmente, se comparan los daños causados por frío en la planta medidos dos y siete días después de la helada.

2. Material y Métodos

2.1 Diseño experimental y cultivo de plantas

Se usaron bellotas de *Q. ilex* subsp. *ballota* de la procedencia E-1 Región Leonesa que se sembraron en febrero de 2008 en 24 bandejas @Forest Pot 300, rellenas con turba rubia sin fertilizar con una bellota por cavidad. Para evitar daños por heladas, las plantas se cultivaron inicialmente en los invernaderos del Centro de Recursos Genéticos Forestales “El Serranillo” (Guadalajara). A finales de mayo 2008, la mitad de las bandejas se trasladaron a un área sombreada de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos y de Montes de Córdoba, mientras que la otra mitad de las bandejas permaneció en Guadalajara, las cuales se sacaron al aire libre. En ambos viveros, desde mediados de junio hasta mediados de septiembre de 2008, las plantas se cultivaron bajo una malla de sombreado que dejaba pasar alrededor del 40 % de la luz exterior. A partir de mediados de septiembre hasta el final del cultivo (mediados de diciembre de 2008) las plantas permanecieron a pleno sol. En ambas localidades de cultivo se diferenciaron cuatro regímenes de fertilización de N:

- a) constante con alta concentración de N (Cte+): se aportó un total de 175 mg de N y la concentración de N en cada fertilización fue 208 ppm.
- b) constante con baja concentración de N (Cte-): se aportó un total de 33 mg de N y la concentración de nitrógeno en cada fertilización fue 39 ppm
- c) constante con baja concentración de N + sobrecarga otoñal del fertilizante a alta concentración (Cte-S): Durante 21 semanas fue igual que Cte- pero a mitad de octubre y durante 7 semanas la concentración de N en cada fertilización fue de 200 ppm. La cantidad total de N aportado al final fue 89 mg.
- d) exponencial (Exp): se aportó un total de 175 mg de N y la concentración de N se varió semanalmente según un modelo exponencial creciente. En las cinco últimas semanas la concentración de N fue > 300 ppm.

Las fertilizaciones se aplicaron una vez a la semana, utilizándose un fertilizante Peters de equilibrio N, P, K 20-20-20. Cada planta recibió 50 ml de la solución fertilizante con un dosificador. Todas las fertilizaciones, salvo la fertilización con sobrecarga otoñal, se aplicaron durante 21 semanas, finalizando a mitad de octubre de 2008.

2.2 Tolerancia al frío y muestreo

Para comparar el grado de aclimatación al frío de los tratamientos, las plántulas se sometieron a test de helada a -12, -18 y -25°C en septiembre, noviembre y enero (Tabla 1). Los tests de heladas consistieron en un ciclo de helada en el que la velocidad de descenso de la temperatura hasta la temperatura mínima diana fue de 3 a 5°C h⁻¹. Una vez alcanzada dicha temperatura, se mantuvo durante tres horas para posteriormente subirla al mismo ritmo con que descendió. En todas las fechas no se aplicaron todas las temperaturas. Las heladas se

llevaron a cabo en una cámara de ensayos climáticos, con controlador de temperatura. Se usaron ocho plantas seleccionadas al azar por tratamiento que fueron dispuestas en un contenedor de espuma de poliestireno para proteger el sistema radical del frío.

Tabla 1. Cronograma de los meses en los que se realizaron los test de heladas y las temperaturas mínimas ensayadas con los distintos tratamientos de fertilización: constante baja (Cte-), constante baja con sobrecarga otoñal (Cte-S) y constante alta (Cte+), exponencial (Exp.) X indica que no se realizó para ese mes el test de heladas para una temperatura mínima concreta.

Temperatura mínima del test de helada	Final Septiembre 2008	Final Noviembre 2008	Final enero 2009
-12 °C	Cte- y Exp	Cte-, Cte-S y Exp	Cte-, Cte-S, Exp, Cte+
-18 °C	X	Cte-, Cte-S y Exp	Cte-, Cte-S, Exp, Cte+
-25 °C	X	X	Cte-, Cte-S, Exp, Cte+

Para cuantificar el daño causado por la helada, se midió la eficiencia fotoquímica del fotosistema II (F_v/F_m) utilizando un fluorímetro FMS (Hansathech, R.U.) después de aclimatar las hojas a la oscuridad durante al menos 30 minutos. F_v/F_m se midió al alba y al medio día en tres momentos: antes de la helada y a los dos y siete días posteriores a la helada. Encontrándose las plantas después de la helada a condiciones óptimas de luz y agua. Se calculó la Tasa de daño como:

$$\text{Tasa de daño} = \frac{(F_v/F_m)_0 - (F_v/F_m)_i}{(F_v/F_m)_i}, \text{ donde}$$

$(F_v/F_m)_0$ = el F_v/F_m antes de la helada y $(F_v/F_m)_i$ = el F_v/F_m en el momento “i” después de la helada

Debido al régimen natural de heladas ocurridas en Guadalajara durante principios de diciembre de 2008 y enero de 2009, con temperaturas mínimas de -1°C y una ocurrencia que diaria, se observaron diferencias visuales de daño entre los tratamientos de fertilización. Por ello a final de febrero de 2009 se realizó un inventario de plantas muertas en 40 plantas por tratamiento. Se consideró que una planta estaba muerta cuando tenía más del 50% de su follaje necrosado. Entre las plantas cultivadas en Córdoba no se observaron plantas dañadas.

2.3 Análisis de los datos

Las diferencias de Tasa de daño medida a cada temperatura de helada entre tratamientos se analizaron mediante un análisis de varianza anidado (ANOVA). Los factores considerados fueron la fertilización (2-4 niveles según la fecha), la fecha (1-3 niveles según la temperatura) y la localidad (2 niveles). El test de Tukey se usó para la comparación múltiple de medias. La mayoría de las variables se transformaron por medio de logaritmos en base 10 para lograr la homocedasticidad de los datos. El análisis de supervivencia se realizó mediante un modelo lineal generalizado para distribuciones binomiales y una función de enlace logit. El factor considerado fue la fertilización (4 niveles). Se consideraron significativos los resultados cuando los valores de $P \leq 0.05$.

3. Resultados

No se observaron diferencias significativas entre la Tasa de daño medida al segundo día de la helada como al séptimo, tanto en las mediciones efectuadas al alba como al mediodía (Figura 1). Por tanto todos los resultados de Tasa de daño mostrados de aquí en adelante son medidos al alba dos días después de la helada.

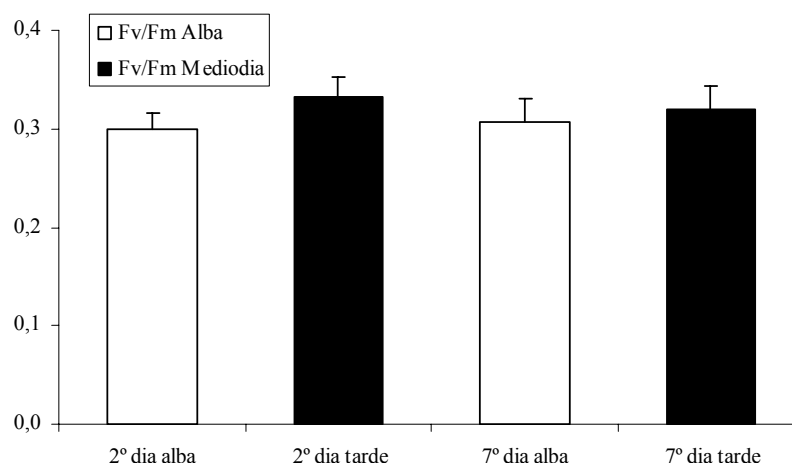


Figura 1. Variación en el tiempo de los valores de Fv/Fm a los dos y a los siete días alba y a los dos y siete días al mediodía, en relación con la Tasa de daño producida en plantas de *Quercus ilex*. Los datos son medias ± 1 error estándar.

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los regímenes de fertilización para heladas a -12 y -25 °C (Tabla 2). Las localidades mostraron grandes diferencias, siendo el nivel de endurecimiento mayor en Guadalajara que en Córdoba (Figura 2).

En septiembre y con una helada de -12 °C se pudo observar diferencias significativas entre localidades. Este efecto de la localidad se mantuvo a lo largo del resto del otoño y el invierno. No obstante, se observó que las plantas de ambas localidades presentaron una reducción de la tasa de daño ya en el mes de noviembre de forma que una helada de -12 °C ya no producirá el mismo daño que en septiembre (Figura 2). La Tasa de daño en el mes de enero a -12 °C no resultó significativamente distinta a la de noviembre.

Tabla 2. Resultados del análisis de la varianza de la influencia de la fecha, régimen de fertilización y la localidad de cultivo sobre la Tasa de daño a heladas de -12 , -18 y -25 °C de plántulas de *Quercus ilex*. la fertilización está anidada a la fecha.

	-12 °C	-18 °C	-25 °C
Fecha	$F_{(2,128)} = 51.4^{***}$	$F_{(1,162)} = 2.06$	-----
Fertilización ¹	$F_{(6,128)} = 0.83$	$F_{(5,162)} = 2.43^*$	$F_{(3,71)} = 1.60$
Localidad	$F_{(1,128)} = 17.1^{***}$	$F_{(1,162)} = 9.7^{**}$	$F_{(1,71)} = 5.9^*$
Fecha \times Localidad	$F_{(2,128)} = 3.04$	$F_{(1,162)} = 3.67$	-----
Fertilización \times Localidad	$F_{(6,128)} = 1.35$	$F_{(5,162)} = 1.17$	$F_{(3,71)} = 2.08$

Las diferencias en la Tasa de daño entre la localidades de cultivo fueron máximas a -18 °C, observándose que las plantas de Guadalajara sufren la mitad del daños que las de Córdoba (Figura 2), y existiendo un efecto significativo de la fertilización. En la helada más intensa (-25 °C), ambas poblaciones presentaron una Tasa de daño superiores a 0.84, indicando que

una helada de tal magnitud es muy letal para las plantas de *Quercus ilex*. A pesar de esto, las plantas de Córdoba también mostraron mayor daños que las de Guadalajara (Figura 2).

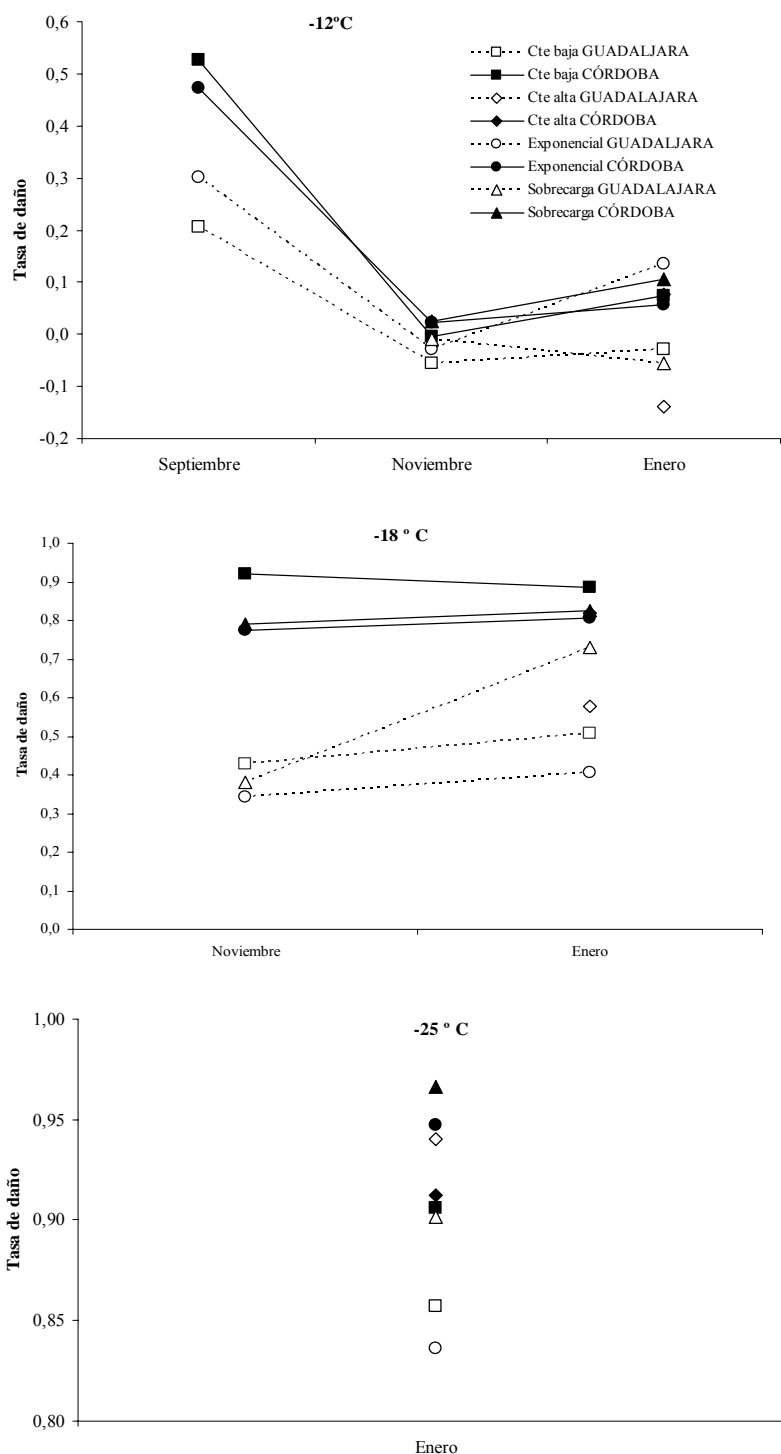


Figura 2. Variación en el tiempo de la aclimatación al frío de plántulas de una savia de *Quercus ilex* cultivados bajo distintos regímenes de fertilización en una localidad de inviernos suaves (Córdoba) y otra de inviernos fríos (Guadalajara). Se representa la que presentan las plántulas al ser sometidas a heladas de -12, -18 y -25 grados (figuras superiores y central izquierda).

Las plantas de los regímenes de fertilización exponencial presentaron la menor supervivencia (inferior al 20%) tras la helada natural en vivero, seguida de las plantas sobrecargadas en

otoño. En contraste las fertilizaciones constante alta y constante baja presentaron supervivencias elevadas superiores al 75% (Figura 3).

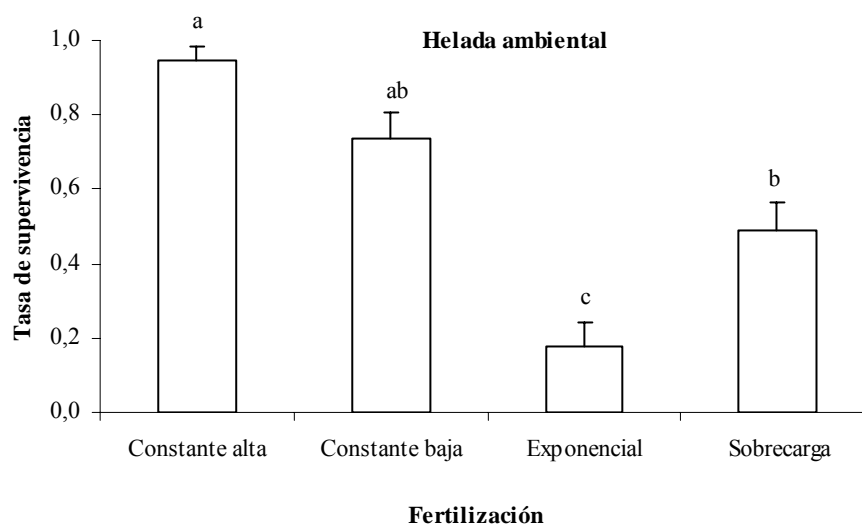


Figura 3. Tasa de supervivencia de plántulas de una savia de *Q. ilex* cultivados bajo distintos regímenes de fertilización en el vivero Guadalajara después de experimentar el régimen de heladas naturales de diciembre de 2008 y enero de 2009.

4. Discusión

En nuestro estudio, la resistencia al frío se midió sometiendo las plantas a un ciclo de helada simple, en el que la temperatura mínima varió entre fechas. Este método se ha empleado de manera generalizada en trabajos sobre aclimatación al frío (MOLLÁ ET AL., 2006; FERNÁNDEZ ET AL., 2007; FERNÁNDEZ ET AL., 2008). Con este método, los regímenes de fertilización ensayados no presentaron diferencias de aclimatación al frío en ninguno de los viveros. Trabajos previos han mostrado que la alta fertilización nitrogenada puede reducir la aclimatación al frío (ARONSSON, 1980; VAN DEN DRIESSCHE, 1991; BIGRAS, 1996). En otras especies, incluidas las mediterráneas, los resultados de la fertilización nitrogenada sobre la aclimatación al frío son variables (DEHAYES *et al.*, 1989; L'HIRONDELLE *et al.*, 1992; RIKALA & REPO 1997; FLØISTAD 2002; VILLAR-SALVADOR *et al.*, 2005). Esta variabilidad de resultados sugiere que la respuesta puede depender de la especie y de la concentración del N en la planta. Así parece que existe una concentración óptima de N que promueve el endurecimiento, pero si la concentración de N es subóptima o excesiva, el endurecimiento se reduce. Así, una posible interpretación de la falta de diferencias de endurecimientos entre los regímenes de fertilización en la encina es que la concentración de N en nuestros tratamientos sea la misma. En este momento carecemos de resultados de concentración de N que nos permitan apoyar dicha idea. La mayor tasa de daño observada en enero a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ para las plantas fertilizadas exponencialmente en Guadalajara puede ser debido a que las plantas sobrecargadas de Guadalajara estaban dañadas antes de someterlas al ciclo de helada.

Una conclusión muy interesante de nuestro estudio es que el método utilizado para medir la resistencia a la helada de las plantas puede condicionar la interpretación del efecto de la fertilización sobre la tolerancia al frío. Esta idea se apoya en las diferencias de supervivencia observadas en las plantas de Guadalajara sometidas al régimen natural de heladas. Así los regímenes de fertilización con concentraciones de N más altas (exponencial)

o altas concentraciones de N aplicadas muy tardíamente (constante baja+sobrecarga otoñal) mostraron mayor daño que las plantas sometidas a fertilización constante, tanto alta como baja. Caben dos explicaciones. La primera, durante diciembre de 2008 y enero de 2009 la temperatura media diaria durante muchos días fue inferior a -1°C , este resultado sugiere que puede ser más efectivo hacer tests de heladas con temperaturas mínimas más altas pero de mayor duración para detectar diferencias de aclimatación entre lotes distintos de plantas. Y por otro lado en los test de heladas las raíces, que son las partes más vulnerables de la planta, son aisladas cuidadosamente lo que puede hacer que no se muestren las diferencias. Mientras que en las heladas naturales donde el sistema radical suele sufrir graves daños, se ha encontrado diferencias entre tratamientos. Esto puede sugerir que existan diferencias en la aclimatación al frío a nivel de raíz, ya que todas las plantas estaban con el mismo contenedor y bajo las mismas condiciones en la zona sombreada del invernadero.

A la luz de los resultados es más importante para el para el endurecimiento de la planta frente a una helada la localización del vivero que el régimen de fertilización. Aunque la procedencia de las semillas y el modo de cultivo sean iguales, los viveros emplazados en las zonas con inviernos suaves, como Córdoba, producen plantas menos resistentes a las heladas que los viveros situados en zonas de inviernos más fríos como Guadalajara (Figura 2). Este hecho también se ha descrito en otros trabajos con encina y otras especies forestales boreales (SCHUCH *ET AL.*, 1989; MOLLÁ *et al.*, 2006) y puede condicionar que las plantas adquiridas en las zonas de inviernos suaves se instalen peor si son plantadas en localidades de inviernos muy fríos (MOLLÁ *et al.*, 2006).

La fluorescencia se ha usado para investigar y detectar los daños a las plantas causados por factores ambientales extremos (LARCHER, 1990; PASTENES & HORTON, 1996). En el ámbito de la calidad de la planta, la medida de fluorescencia de los fotosistemas de plantas es una herramienta muy interesante para detectar lotes de plantas dañados por heladas ya que es un método rápido y no destructivo y, por tanto, se puede medir en gran número de individuos. Para que sea útil como una medida de calidad fisiológica, los daños causados por heladas deben poder ser detectados al poco de suceder la helada. En nuestro estudio los daños en encina se pueden detectar 48 horas después de la helada y el resultado es independiente de si la fluorescencia se mide al alba o al mediodía. En *Pinus halepensis* y *Eucalyptus globulus* los daños por frío se detectan con fluorescencia al día siguiente de realizar el test de frío, aún sin apreciarse con claridad daños visuales (FERNÁNDEZ *ET AL.*, 2003; FERNÁNDEZ *ET AL.*, 2007).

5. Conclusiones

La localidad de cultivo tiene un mayor efectos que el régimen de fertilización sobre la aclimatación al frío en *Q. ilex*. No obstante la forma en que las plantas experimentan la helada parece condicionar la interpretación del efecto de la fertilización sobre la aclimatación al frío. No se producen diferencias significativas entre los regímenes de fertilización cuando se realiza un ciclo único de helada, pero sí se manifiestan cuando las heladas se dan de una forma repetida a lo largo del invierno como suele ocurrir bajo condiciones ambientales naturales. Finalmente, los daños causados en los fotosistemas por la helada se manifiestan claramente ya al segundo día después de la aplicación de la helada.

6. Agradecimientos

Este estudio ha sido respaldado por un contrato del Gobierno de la Comunidad de Madrid y a los proyectos AGL2006-12609-C02-01/FOR, CGL2007-60533/BOS (Ministerio de Educación y Ciencia), y S-0505/AMB/0355-REMEDINAL (Gobierno de Madrid).

7. Bibliografía

ARONSSON A. (1980). Frost hardiness in Scots pine (*Pinus silvestris* L.). II. Hardiness during winter and spring in young trees of different mineral nutrient status. *Studia Forestalia Suecica* 155:1-27.

BAEZA, M.J.; PASTOR, A.; MARTÍN, J. Y IBÁÑEZ, M. (1991). Mortalidad post-implantación en repoblaciones de *Pinus halepensis*, *Quercus ilex*, *Ceratonia siliqua* y *Tetraclinis articulata* en la provincia de Alicante. *Stuida Oecol.* 8:139-146.

BIGRAS, F. J.; GONZALEZ, A.L.; D'AOUST & HÉBERT (1996). Frost hardiness, bud phenology and growth of containerized *Picea mariana* seedlings grown at three nitrogen levels and three temperature regimes. *New Forest* 12:243-259

BOIVIN, J.R.; SALIFU, F. & TIMMER, V.R. (2004). Late-season fertilization of *Picea mariana* seedlings: intensive loading and outplanting response on greenhouse bioassays. *Ann. For. Sci.* 61: 737-745

CALMÉ, S. & MARGOLIS H.A. (1993). Influence of cultural practices on the relationship between frost tolerance and water content of containerized black spruce, white spruce, and jack pine seedlings. *Can. J. For. Res.* 23, 503-511.

CHERBUY, B.; JOFFRE, R.; GILLON, D. & RAMBAL, S. (2001). Internal remobilization of carbohydrates, lipids, nitrogen and phosphorus in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex*. *Tree Physiol.* 21: 9-17

CORTINA, J.; VALDECANTES, A.; SEVA, J.P.; VILAGROSA, A.; BELLOT, J. Y VALLEJO, R. (1997). Relación tamaño-supervivencia en plantones de especies arbustivas y arbóreas mediterráneas producidas en vivero. En: Actas del II Congreso Forestal Español, Vol. 3, SECF y Gobierno de Navarra. Pamplona, pp.: 159-164.

DEHAYES, D.H.; INGLE, M.A. & WAITE, C.E. (1989). Nitrogen fertilization enhances cold tolerance of red spruce seedlings. *Can. J. For. Res.* 19: 1037-1043.

DUMROESE, R.K. (2003). Hardening fertilization and nutrient loading of conifer seedlings, in: Riley L.e., Dumroese R.K., Landis T.D., USDA Forest Service, Proceedings RMRS-P-28, pp. 31-36.

FERNANDEZ, M.; ROYO, A.; GIL, L. Y PARDOS, J.A. (2003). Effects of temperature on growth and stress hardening development of phytotron-grown seedlings of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.). *Ann. For. Sci.* 60: 277-284.

FERNANDEZ, M.; MARCOS, C.; TAPIAS, R.; RUIZ, F. Y LÓPEZ, G. (2007). Nursery fertilisation affects the frost-tolerance and plant quality of *Eucalyptus globulus* Labill. cuttings. *Ann. For. Sci.* 64: 865-873.

FERNÁNDEZ, M., R. ALEJANO, DOMÍNGUEZ, L., TAPIAS, R. (2008). Temperature controls cold hardening more effectively than photoperiod in four Mediterranean broadleaf evergreen species. *Tree and Forestry Science and Biotechnology* 2: 43-49.

FLØISTAD, I.S. (2002). Effects of excessive nutrient supply and short day treatment on autumn frost hardiness and time of bud break in *Picea abies* seedlings. *Scan. J. For. Res.* 17, 295-303.

FLØISTAD, I.S. & KOHMANN, K. (2004). Influence of nutrient supply on spring frost hardiness and time of bud break in Norway spruce (*Picea abies*(L.) Karst.) seedlings. *New Forest* 27: 1-11

LANDIS, T.D.; TINUS, R.W.; MC DONALD, S.E. & BARNETT, J.P. (1989). Seedling nutrition and irrigation. The container tree nursery manual. Vol. 4, Agric. Handbook 674, USDA, Washington DC.

LARCHER, W.; WAGNER, J.W. & THAMMATHAWORN, A. (1990). Effects of superimposed temperature stress on in vivo chlorophyll fluorescence of *Vigna unguiculata* under saline stress. *J. Plant Physiol.* 136: 92-102.

L'HIRONDELLE, S.J.; JACOBSON, J.S. & LASSOIE, J.P. (1992). Acidic mist and nitrogen fertilization effects on growth, nitrate reductase activity, gas exchange, and frost hardiness of red spruce seedlings. *New Phytologist* 121: 611-622.

MILLARD, P. 1996. Ecophysiology of the internal cycling of nitrogen for tree growth. *Zeitschrift für Pflanzenernahrung und Bodenkunde.* 159:1-10

MISHRA, S.K.; SUBRAHMENYAM, D. & SINGHAL, G.S. (1991). Interrelation between salt and light stress on primary processes of photosynthesis. *J. Plant Physiol.* 138: 92-96.

MOLLÁ, S., VILLAR-SALVADOR, P., GARCÍA-FAYOS, P., PEÑUELAS, J.L. (2006). Physiological and transplanting performance of *Quercus ilex* L. (holm oak) seedlings grown in nurseries with different winter conditions. *For Ecol Manage* 237: 218-226.

OLIET, J.; PLANELLES, R.; ARTERO, F.; VALVERDE, R.; JACOBS D. Y SEGURA, M. (2009). Field performance of *Pinus halepensis* planted in Mediterranean arid conditions: relative influence of seedling morphology and mineral nutrition. *New Forests* (in press)

PASTENES, C. & HORTON, P. (1996). Effect of high-temperature on photosynthesis in beans. 1. Oxygen evolution and chlorophyll fluorescence. *Plant Physiol.* 112: 1245-1251.

PELLET, H.M. & CARTER J.V. (1981). Effect of nutritional factors on cold hardiness of plants. *Hortic. Rev.* 3:144-171.



- SMILLIE, R.M. & NOTT, R. (1982). Salt tolerance in crop plants monitored by chlorophyll fluorescence in vivo. *Plant Physiol.* 70: 1049-1054.
- RIKALA R. & REPO T. (1997). The effect of late summer fertilization on the frost hardening of second-year Scots pine seedlings. *New For.* 14: 33-44.
- SALIFU, K.F. & V.R. TIMMER (2003). Nitrogen retranslocation response of young *Picea mariana* to nitrogen-15 supply. *Soil Sci Soc Am J* 67: 309-317.
- SILLA, F. Y ESCUDERO, A. (2003). Uptake, demand and internal cycling of nitrogen in saplings of Mediterranean *Quercus* species. *Oecologia.* 136: 28-36
- VAN DEN DRIESSCHE, R. 1991. Effects of nutrients on stock performance in the forest. *In* Mineral nutrition in conifer seedlings Ed. R. Van den Driessche. CRC Press, pp. 229-260.
- VILLAR-SALVADOR, P. (2003). Importancia de la calidad de la planta en los proyectos de revegetación. *In* Restauración de Ecosistemas en Ambientes Mediterráneos Eds. J.M. Rey-Benayas, T. Espigares Pinilla and J.M. Nicolau Ibarra. Universidad de Alcalá /Asociación Española de Ecología Terrestre, Alcalá de Henares, p. 65.86.
- VILLAR-SALVADOR, P.; PLANELLES, R.; ENRÍQUEZ, E. Y PEÑUELAS RUBIRA, J. (2004). Nursery cultivation regimes plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. *For Ecol Manage* 196:257-266.
- VILLAR-SALVADOR, P.; PUÉRTOLAS, J.; PLANELLES, R. Y PEÑUELAS RUBIRA, J. (2005). Effect of nitrogen fertilization in the nursery on the drought and frost resistance of Mediterranean forest species. *Investigaciones Agrarias: Sistemas y Recursos Forestales.* 14:408-418.

