



UNIVERSITAT<sup>DE</sup>  
BARCELONA

**Restauración de bosques de *Pinus halepensis*  
mediante la introducción de especies rebrotadoras  
para aumentar su resiliencia ante incendios forestales**

Maria Elena Granados García



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 4.0. Spain License.**



UNIVERSITAT<sub>DE</sub>  
BARCELONA

**Doctorado en Ecología, Ciencias Ambientales  
y Fisiología Vegetal**

María Elena Granados García

Barcelona 2019



UNIVERSITAT DE  
BARCELONA

Restauración de bosques de *Pinus halepensis* mediante la  
introducción de especies rebrotadoras para aumentar su resiliencia  
ante incendios forestales

Memoria presentada por María Elena Granados García para optar al grado de Doctora. Este trabajo se enmarca en el Programa de Doctorado en Ecología i Ciències Ambientals y Fisiología Vegetal, del departamento de Biología Evolutiva, Ecología i Ciències Ambientals, de la Universidad de Barcelona.

El trabajo se realizó en el Departamento de Biología Evolutiva, Ecología y Ciencias Ambientales de la Universidad de Barcelona, bajo la dirección del Dr. Victoriano Ramón Vallejo Calzada y en el Departamento de Ecología de la Universidad de Alicante bajo la dirección del Dr. Alberto Vilagrosa Carmona.

María Elena Granados García

Directores de Tesis

Dr. Victoriano Ramón Vallejo Calzada

Dr. Alberto Vilagrosa Carmona

Tutor de tesis

Dr. Victoriano Ramón Vallejo Calzada

A mis hijos Mauren y Juan Pablo

A mi nieto Jared

A mi mamá María del Carmen

Agradezco a mi director de tesis, el Doctor Victoriano Ramón Vallejo Calzada la oportunidad de incursionar en el fascinante mundo de la ecología de la restauración.

A mi co-director de tesis el Doctor Alberto Vilagrosa Carmona, su acompañamiento y orientación durante el diseño, la realización de las campañas y la escritura de la tesis.

Al Doctor Esteban Chirindo Miranda agradezco las enseñanzas prácticas en las campañas.

A la Doctora Teresa Vegas Covarrubia le agradezco todo el apoyo, desde mi ingreso a la Universidad de Barcelona hasta ahora.

A mi Comisión de Seguimiento, la Doctora Isabel Fleck Bou, el Doctor Santiago Sabaté Jorba y la Doctora Beatriz Duguy Pedra, agradezco la orientación en cada revisión.

A mis compañeras en la Universidad de Alicante, Cristina, Miriam, Joana, Raquel, por compartir las experiencias en el campo.

A todas aquellas persona que, sin conocerme me dieron una valiosa orientación.



Abstract

Resumen

## Índice

<b>1. Introducción</b> .....	1
1.1 El Ecosistema Mediterráneo .....	1
1.2 Características climáticas de la región circundante al área de estudio .....	2
1.3 Vegetación .....	3
1.4 La problemática forestal de la Cuenca Mediterránea .....	4
1.5 Los incendios forestales .....	5
1.6 La restauración del monte Mediterráneo .....	6
1.7 Restauración mediante repoblación forestal .....	7
1.8 Respuesta funcional de especies forestales .....	9
1.9 Objetivo General .....	16
<b>2. Material y Métodos</b> .....	17
2.1 Área de estudio .....	17
2.2 Diseño experimental.....	18
2.3 Selección de especies .....	18
2.4 Origen de las plantas seleccionadas para reforestación.....	19
2.5 Auto-ecología de las especies elegidas.....	20
2.6 Caracterización Morfológica de las especies .....	23
2.7 Caracterización de las parcelas experimentales .....	27
<b>3. Resultados</b> .....	33
<b>3.1 Reforestation with resprouter species to increase diversity and resilience in Mediterranean pine forests</b> .....	34
<b>3.2 Effect of light and soil moisture on physiological variables in six Mediterranean forest species planted under a pine forest canopy</b> .....	65
<b>3.3. Posibles interacciones de competencia/facilitación entre los pinos y las especies introducidas bajo el pinar</b> .....	95
<b>4. Discusión general</b> .....	120
<b>5. Conclusiones generales</b> .....	129
<b>6. Referencias bibliográficas de la introducción y la discusión general</b> .....	131

*“Frecuentemente, he tenido motivos para pensar que mis manos eran más inteligentes que mi cabeza. Esta es una forma tosca de caracterizar la dialéctica de la experimentación. Cuando todo marcha bien, es una tranquila conversación con la Naturaleza. Uno hace una pregunta y obtiene su respuesta, hace la próxima pregunta y obtiene su respuesta. Un experimento es una forma de hacer hablar a la Naturaleza en forma comprensible. Después de eso, sólo se debe escuchar”.*

*George Wald, Conferencia Nóbel, 1967*



## Abstract

The ecosystems of the Mediterranean Basin have experienced strong and prolonged processes of degradation since the late nineteenth century, afforestation practices have been carried out with the aim of regenerating degraded areas, including those that have been affected by forest fires. In Spain, afforestation programs mostly included pine species plantations and promoted forest surface increase. Recent studies of medium-term climate series for the Mediterranean Basin and Southern Europe are showing a significant increase in heat waves and recurrent droughts. This suggests an increase in the water deficit that could lead to an increase in water stress and forest fires, with severe consequences for ecosystems. In this context, within the framework of the FUME project (Forest Fires under Climate, Social and Economic Changes in Europe, the Mediterranean and other Fire-Affected Areas of the World, 2010-2014, n°243.888), financed by the European Commission, it was proposed to introduce resprouting species under the canopy of monospecific Aleppo pine plantations at different densities, in order to increase their resilience to wildfires. The objective was to determine the functional mechanisms of the species that favor their survival and growth in dry climate to face forest fires and eventually to climate change. The effect of tree cover and abiotic conditions generated by contrasting levels of shade and drought on the establishment, development and performance of six species of native woody resprouters in *Pinus halepensis* plantations made between 1945 and 1950 in the region of La Hundo (Valencia, Spain). The experimental plots included stands with high (HD, 700-1100 trees ha<sup>-1</sup>), medium (MD, 300-700 trees ha<sup>-1</sup>) and low density (LD, 100-300 trees ha<sup>-1</sup>), in which 15 seedlings of the species *Arbutus unedo*, *Rhamnus alaternus*, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, *Fraxinus ornus* and *Acer granatense* were planted. The functional response of the species planted under different pine densities was investigated in relation to gas exchange variables, the photochemical efficiency of photosystem II, and use of stable isotopes. Competence or facilitation tradeoffs were explored for the response of the introduced species. The micro-climatic factors of each plot according to pine density for each species and density of pines, the different ecophysiological variables mentioned and survival of the plants were analyzed three years after they were introduced, whereas plant growth was recorded five years after plantation. The main results showed that the micro-climatic factors promoted responses depending on the variation of available resources such as water content in the soil, solar radiation, temperature and vapor pressure deficit. In general, it was found that the shade caused by the high density of pines, favored the survival of all species, mainly the evergreen species

*Arbutus unedo*, *Quercus ilex* and *Rhamnus alaternus*, followed by *Fraxinus ornus* and *Acer granatense*, *Quercus faginea* recorded the lower survival values. The height growth was also favored by the shadow of the pines in the HD plots, while the diameter growth was higher in conditions of higher radiation in the LD plots. It seems that the light availability was the factor that regulated the exchange of gases, having the seedlings under LD cover a greater efficiency in the use of water (*IWUE*) compared to MD and HD. The results also showed a tendency to point out that the sclerophyllous evergreen species like *A. unedo*, *R. alaternus* and *Q. ilex* have a greater capacity of acclimatization to the different environmental conditions than the deciduous species. In this regard, it was found that the evergreen species had less photoinhibition and possibly suffered less damage in their photosynthetic system, although they had lower *IWUE* than the deciduous species. In this sense, deciduous species showed higher values of  $\delta^{13}\text{C}$  indicating a higher water use efficiency than evergreen species. The intense shade produced by the high density of pines was beneficial for the establishment and development of the species planted under dry and semi-arid conditions. In fact these results indicated that the seedlings in pine forests LD were subjected to higher doses of stress, especially in summer as consequence of higher temperatures and VPD conditions in that plots. The results found in this thesis work contrasts with the hypothesis that of moderate shade conditions will improve survival as consequence of the moderate competition for water and some degree of shade conditions, which would improve abiotic factors. The interaction that was established between the pines and the introduced species showed some relations of facilitation and competence in this study. However, it was not possible to define an optimal distance for future reforestation work. In general, it could be concluded that the most significant result was the density of pine, rather than the distance to the pine. These results are relevant for the management of pine forests in the Mediterranean and their conversion into more resilient communities to avoid deleterious effects of fires and drought events.

## Resumen

Los ecosistemas de la Cuenca Mediterránea han experimentado a lo largo de tiempos ancestrales fuertes y prolongados procesos de degradación, por lo que desde el último tercio del siglo XIX se han realizado forestaciones con el objetivo de regenerar zonas degradadas, incluyendo las que han sido afectadas por incendios forestales recurrentes. En España, las actuaciones de repoblación se han llevado a cabo con programas de reforestación en las que se plantaron principalmente diversas especies de pino. Estudios recientes de series climáticas de medio plazo para la Cuenca Mediterránea y Europa Meridional, están mostrando un aumento significativo de olas de calor y sequías recurrentes, sugiriendo un incremento en el déficit de agua que podría conducir a un incremento en el estrés hídrico e incendios forestales, con severas consecuencias para los ecosistemas. En este contexto, en el marco del proyecto FUME (Forest Fires under Climate, Social and Economic Changes in Europe, the Mediterranean and other Fire-affected Areas of the World; 2010-2014; nº243.888), financiado por la Comunidad Europea, se planteó llevar a cabo plantaciones con especies forestales rebrotadoras bajo el dosel de pinares monoespecíficos para mejorar su resiliencia al fuego. El objetivo fue determinar los mecanismos funcionales de las especies que favorezcan su supervivencia y crecimiento en condiciones secas, ante incendios forestales y eventualmente al cambio climático. Se estudió el efecto de la cubierta arbórea y las condiciones abióticas generadas por niveles contrastados de sombreado y sequía sobre el establecimiento, desarrollo y funcionamiento de seis especies de plantas leñosas autóctonas con capacidad de rebrotar después de una perturbación, en pinares de una plantación de *Pinus halepensis* realizada entre 1945 y 1950 en la región de la Hunda en Valencia, España. Las parcelas experimentales se establecieron en rodales con alta (AD, 700-1100 pies ha<sup>-1</sup>), media (MD, 300-700 pies ha<sup>-1</sup>) y baja densidad (BD, 100-300 pies ha<sup>-1</sup>) en las cuales se plantaron 15 plántulas de las especies *Arbutus unedo*, *Rhamnus alaternus*, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, *Fraxinus ornus* y *Acer granatense*. Se investigó la respuesta funcional de las especies plantadas bajo diferente densidad del dosel de pinar en relación con variables del intercambio de gases, la eficiencia fotoquímica del fotosistema II y el uso de isótopos estables. Se estudiaron posibles efectos de competencia o facilitación que modulan la respuesta de las especies introducidas bajo el dosel de diferentes densidades de pino. Se analizaron los factores micro-climáticos de los bosques de pino y para cada especie y densidad de pinos, se analizaron las diferentes variables ecofisiológicas mencionadas y la supervivencia de las plantas tres años después de ser introducidas; el crecimiento se analizó después de cinco años. Los principales

resultados mostraron que los factores micro-climáticos encontrados en cada densidad de pinar, promovieron respuestas dependientes de la variación de los recursos disponibles como el contenido de agua en el suelo, la radiación solar, la temperatura, el déficit de presión de vapor. En general, se encontró que la sombra ocasionada por la alta densidad de pinos, favoreció la supervivencia de todas las especies, principalmente a las especies perennifolias *Arbutus unedo*, *Quercus ilex* y *Rhamnus alaternus*, seguida de *Fraxinus ornus* y *Acer granatense*, *Quercus faginea* registró los valores más bajos de supervivencia. El crecimiento en altura, también fue favorecido por la sombra de los pinos en las parcelas de AD, mientras que el crecimiento en diámetro predominó en condiciones de mayor radiación, en las parcelas de BD. Se precisó que la disponibilidad de luz fue el factor que reguló el intercambio de gases, observando cierta disposición de los plantones bajo cubierta de BD a presentar una mayor eficiencia en el uso del agua (*IWUE*) respecto a MD y AD. En el mismo sentido, los resultados mostraron una tendencia a señalar que las especies esclerófilas perennifolias como *A. unedo*, *R. alaternus* y *Q. ilex* tiene una mayor capacidad de aclimatación a las diferentes condiciones ambientales que las especies caducifolias. A este respecto se encontró que las especies perennifolias tuvieron menor fotoinhibición y posiblemente experimentaron menor daño en su sistema fotosintético, aunque tuvieron menor *IWUE*, que las especies caducifolias. No obstante, se encontró que las especies caducifolias mostraron valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$ , lo que concuerda con una mayor eficiencia en el uso del agua, que las especies de perennifolias. La intensa sombra producida por la alta densidad de pinos fue benéfica para el establecimiento y desarrollo de las especies usadas en las condiciones semi áridas descritas. De hecho, las plántulas en las parcelas de BD estuvieron sometidas a dosis más altas de estrés, especialmente en verano, como consecuencia de condiciones de temperaturas y de VPD más altas en esas parcelas. Los resultados encontrados contrastan con la hipótesis de que los pinares de densidades medias tendrían las mejores condiciones para la instalación de nuevas especies, ya que generarían menor competencia por agua y nutrientes y facilitaría el establecimiento de las plántulas, debido a las condiciones de sombreado que reduciría el estrés hídrico. Los resultados de este trabajo de tesis son relevantes para el manejo de los bosques de pino en el Mediterráneo, y su transformación en comunidades más resilientes que les permita evitar los efectos desfavorables de los incendios y los eventos de sequía. La interacción que se estableció entre los pinos y las especies introducidas mostró algunas relaciones de facilitación y competencia en este estudio. Sin embargo, no fue posible definir

una distancia óptima para futuros trabajos de reforestación. En general el factor más significativo fue la densidad de pinar, más que la distancia al pino.

## **1. Introducción**

### **1.1 El Ecosistema Mediterráneo**

#### **Clima**

Las regiones de clima mediterráneo se localizan en la Cuenca del mar Mediterráneo, en California (Norte de México y Sur de Estados Unidos de Norteamérica), Chile Central, la región del Cabo en Sudáfrica, y las zonas de Melbourne y de Perth de Australia (Vélez & Montiel 2003). La Cuenca del Mar Mediterráneo es la zona más extensa y a la cual nos referiremos en este trabajo. Los ecosistemas mediterráneos poseen un clima de transición entre el régimen templado oceánico y el tropical seco, manifestándose una alternancia de períodos húmedos templados o fríos con períodos secos y calurosos (Archibold 1955). Las precipitaciones anuales varían mucho y pueden ir desde 200-250 mm en los límites del desierto hasta 3000 mm en las áreas de montaña más expuestas a los vientos húmedos. No obstante, la mayor parte de las regiones mediterráneas presentan totales que se sitúan entre los 400 y los 800 mm. Estas precipitaciones ocurren durante un escaso número de días al año y, dependiendo del lugar, pueden concentrarse en invierno, otoño o primavera, pero son prácticamente inexistentes durante el verano (Pérez-Cueva 1994) lo que, unido a la alta temperatura y a las elevadas tasas de evapotranspiración, genera un intenso déficit hídrico que causa un fuerte estrés en los seres vivos.

Existen tres tipos de clima mediterráneo.

- Continentalizado. Propio de la Meseta, Depresión del Ebro y parte de Andalucía. Con veranos muy calurosos e inviernos fríos, las precipitaciones son escasas.
- Mediterráneo seco. Se localiza en el sureste de la Península. Las precipitaciones en este tipo de clima son muy escasas, especialmente en verano.
- Mediterráneo típico. Propio de zonas próximas al mar mediterráneo (Figura 1).



Figura 1. Tipos de clima en España. Fuente:

<http://quintobalameda2015.blogspot.com/2015/11/los-climas-de-espana.html>

El clima semiárido, presente en el sureste español, constituye uno de los casos más extremos de déficit hídrico (200-400 mm). Las estimaciones indican que en el territorio valenciano el 44% de la superficie está afectada por una elevada erosión potencial, debido a que las escasas precipitaciones se presentan con frecuencia en forma torrencial en cortos períodos de tiempo. Esta condición aporta una elevada escorrentía superficial que conlleva a la pérdida de nutrientes y materia orgánica del suelo, como se ha observado al sur de la provincia de Alicante (Calatrava *et al.* 2011).

### 1.2 Características climáticas de la región circundante al área de estudio

La Comunidad Valenciana es una autonomía española situada en el litoral oriental de la Península Ibérica. Su silueta estrecha y alargada en dirección N-S, con 325 km de longitud y 23.305 km<sup>2</sup> de superficie, se extiende entre los 37° 51' y los 40° 47' de latitud N, y las longitudes 02° 09' O y 04° 12' E., (Figura 2). Atendiendo a variaciones altitudinales, se han establecido distintos termotipos y ombrotipos. Los termotipos o rangos termoclimáticos se establecen en función de las temperaturas mínimas, medias o máximas, tanto anuales como mensuales, y a una escala reducida como la que nos ocupa suelen presentar una

secuencia altitudinal muy clara. En esta región, los termotipos se disponen a modo bandas más o menos paralelas, desde la línea de costa hacia las comarcas interiores. El termotipo Mesomediterráneo ocupa una banda estrecha que bordea el piedemonte del Maestrazgo, la plana de Utiel-Requena y los montes alcoyánicos; altitudinalmente se sitúa entre 400-500 m y 900-1000 m. Los ombrotipos se basan en las precipitaciones, aunque dependen directamente de la evapotranspiración y, en consecuencia, indirectamente del aumento de las temperaturas. El ombrotipo Semiárido ocupa buena parte de la provincia de Alicante y también en las áreas centrales de la provincia de Valencia (Mateo & Crespo 2014).

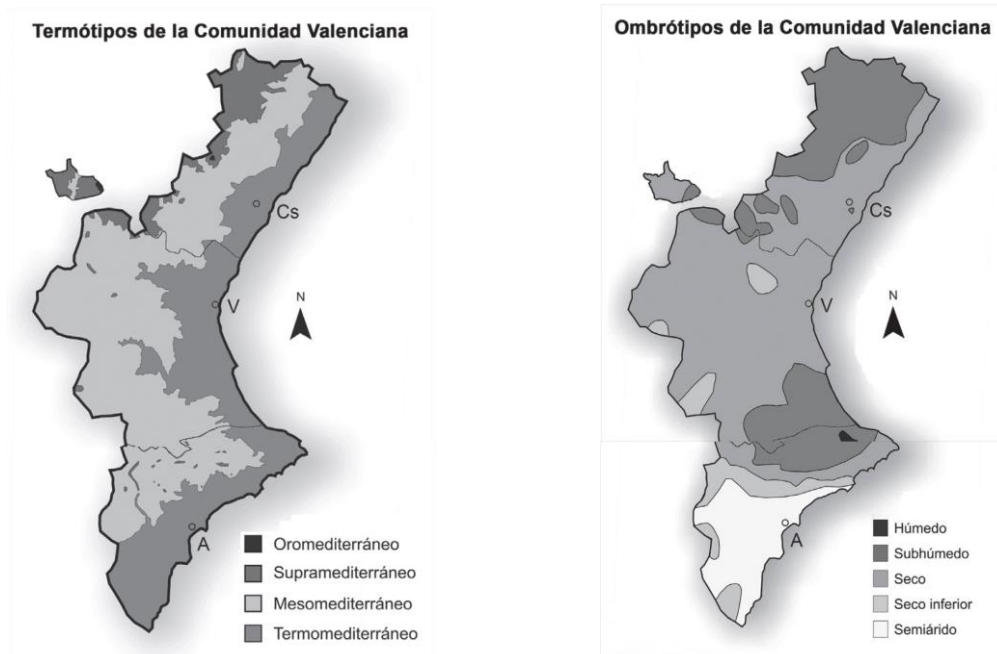


Figura 2. Mapa de Termotipos y Ombrotipos de la Comunidad Valenciana (Mateo & Crespo 2014).

### 1.3 Vegetación

La superficie forestal en España reportada en 2010, fue de 27.7 millones de hectáreas, de las cuales 18.2 millones corresponde a superficie forestal arbolada. Los bosques de *Pinus halepensis* ocupan una superficie aproximada de 1 045.000 hectáreas de masas puras y 498.000 hectáreas de masas mixtas (Rojas *et al.* 2009). Los matorrales, pastizales y dehesas son formaciones vegetales que abarcan más del 40%, los cuales llegan a ser prácticamente inexistentes en muchos países europeos, y son por tanto singulares, lo que explica el interés de la Comisión Europea por protegerlos. En la Comunidad Valenciana la



composición vegetal está conformada por coníferas (530.429 hectáreas), frondosas (71.589 hectáreas) y masas mixtas (152.433 hectáreas). En estas últimas, la formación vegetal arbórea está configurada por los *Quercus* perennifolios (*Q. ilex*, *Q. coccifera*, *Q. suber*), acompañada de especies arbustivas como madroños (*Arbutus*), brezos (*Erica*), aladierno (*Rhamnus*), durillo (*Viburnum*) (Montero & Serrada 2013). Así mismo suele haber componentes de *Quercus* de hoja caduca como *Q. faginea*, *Q. pubescens*, etc. dependiendo de la región. Así, es posible encontrar bosques mixtos de *Quercus* perennifolios (*Q. rotundifolia* y *Q. coccifera*) y caducifolios (*Q. faginea*), así como fresnos (*Fraxinus*), arce (*Acer*), con un sotobosque de madroños y madre selvas (Badal s/a).

#### 1.4 La problemática forestal de la Cuenca Mediterránea

La intensa intervención humana milenaria en la Cuenca Mediterránea ha provocado una reducción del área forestal original (Reille & Pons 1992), produciéndose cambios en las especies dominantes, en la diversidad y cobertura arbórea y arbustiva y, en definitiva, en la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas. La explotación de sus recursos ha ocasionado una degradación de distinta intensidad a lo largo de los siglos debido al desarrollo de la agricultura, la deforestación, la quema, el pastoreo y finalmente el abandono de las tierras menos productivas, lo que ha transformado sus ecosistemas (Vallejo *et al.* 2006).

En las últimas décadas, como resultado de los cambios socioeconómicos ocurridos, la Cuenca Mediterránea ha experimentado un abandono generalizado del medio rural y la migración de las poblaciones a las grandes urbes. En conjunto, estos cambios han originado la recuperación de la vegetación y el aumento de la cantidad y persistencia de los combustibles en el paisaje (Pausas & Vallejo 1999; Pausas 2004). En este sentido, como consecuencia de la colonización de los cultivos abandonados por especies germinadoras, que se caracterizan por una elevada acumulación de combustible (Baeza *et al.* 2003), el riesgo de incendios forestales, es mayor (Vallejo & Alloza 1998; Pausas & Vallejo 1999).

En esta región, el incremento en la temperatura y la disminución de las precipitaciones se han agudizado desde los años 1970, particularmente durante la primavera y verano (Christensen 2007), lo que ha sido asociado con el cambio climático (Bladé & Castro Diez 2010). Desde esta perspectiva, se espera un aumento en la variabilidad ambiental, relacionada con eventos climáticos extremos y perturbaciones estocásticas que podrían

alterar la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas. Las proyecciones climáticas para España muestran una intensificación de la tendencia a la aridez, con cambios extremos en el interior de la Península, así como una disminución en las precipitaciones entre un 10 y un 35 por ciento, en especial en el sur (Brunet *et al.* 2009). A nivel global, se han detectado aumentos en la frecuencia o intensidad de las perturbaciones de los ecosistemas, como sequías, tormentas de viento, incendios y plagas en muchas partes del mundo. Así, la mayor mortalidad de los árboles, observada en muchos lugares del mundo, se ha atribuido a los efectos del cambio climático (IPCC 2014).

### 1.5 Los incendios forestales

Uno de los factores ecológicos más importantes en los ecosistemas Mediterráneos son los incendios forestales, estimados como perturbaciones naturales que tienen una función fundamental en la distribución, organización y evolución de la flora (Pausas & Vallejo 1999). En este sentido, se considera que el fuego ha sido uno de los principales factores que han modelado el paisaje mediterráneo, prácticamente en todas las regiones del mundo que comparten este tipo de clima (Trabaud, 1987). En la Península Ibérica y especialmente relevante en la Comunidad Valenciana, desde mediados del siglo XX el impacto de los incendios forestales ha sido significativo.

En este escenario, el ambiente mediterráneo de la Comunidad Valenciana, con escasas precipitaciones y altas temperaturas, causa que la vegetación tenga un porcentaje de humedad más bajo que, junto a su naturaleza inflamable, favorece la aparición y expansión de incendios forestales (Naveh 1991; Arianoutsou *et al.* 1993). De acuerdo con Pausas (2004) y Sánchez-Salguero *et al.* (2015), los principales factores que explican el incremento de la frecuencia y dimensión de los incendios forestales en las últimas décadas son los cambios en el uso del suelo, el abandono rural, y el cambio climático. Desde la perspectiva del cambio climático, muchas regiones secas del mundo, incluyendo la Cuenca Mediterránea, experimentarán cambios en los regímenes de incendios (IPCC 2014) con un aumento en la predisposición al fuego.

En el suelo, los incendios causan pérdida de nutrientes por volatilización durante la combustión, por lixiviación o por erosión. El fuego puede causar pérdidas en el mantillo y en los horizontes orgánicos del suelo por combustión total o parcial de la materia orgánica (Ferran & Vallejo 1992). Después del fuego, la disminución de la estabilidad de la estructura

de los agregados del suelo, facilita la erosión y la pérdida de la protección de la vegetación (Lloret, 2004). No obstante, un efecto benéfico del fuego en el suelo es la disposición de nutrientes en las cenizas causando un efecto fertilizador del mismo (Lloret, 2012). Por lo tanto, la regeneración de la vegetación después de un incendio, podría ser el factor clave para recuperar la productividad del suelo y promover la resiliencia del ecosistema (Kelly *et al.* 2012; Vallejo & Alloza 2015). Por lo tanto, la introducción de especies rebrotadoras con capacidad de sobrevivir después de un incendio, podrá promover la regeneración de la cubierta vegetal, así como incrementar la biodiversidad de especies y mejorar las condiciones nutricionales del suelo.

Uno de los incendios más graves registrado en la historia forestal de España afectó a más de 31.000 hectáreas –la mayoría del término municipal de Ayora–. El incendio causó un grave desastre, tanto ecológico como económico, por lo que la Conselleria de Agricultura de la Generalitat Valenciana puso en marcha el “Plan de restauración” (Hernández & Romero 2008). Entre las medidas del Plan se destacó: 1) la gestión forestal en la zona para disminuir el riesgo de incendios forestales y dotar a los montes de una mayor resiliencia frente a los mismos y 2) la Aprobación del Plan de Silvicultura Preventiva en la Zona de Actuación Urgente (ZAU). Actualmente la vegetación presenta un mosaico de formaciones arbustivas (Baeza & Santana 2015) y de cubierta arbórea, principalmente de *Pinus halepensis* (Hernández & Romero 2008).

#### 1.6 La restauración del monte Mediterráneo

Los ecosistemas de la Cuenca Mediterránea, como otros ecosistemas del mundo que han sufrido fuertes y continuados procesos de degradación, se han convertido en el centro de atención de la comunidad científica orientada hacia la conservación de estos espacios naturales, por lo que, en años recientes y a partir de la certeza sobre el cambio climático, se han planteado acciones de restauración y conservación de los ecosistemas a largo plazo (Milton *et al.* 2005; Clewell y Aronson, 2006, 2007; Aronson *et al.* 2006, Aronson *et al.* 2007). De esta forma, se proyecta promover el restablecimiento de los ecosistemas que han sido degradados, dañados o destruidos como resultado directo o indirecto de la actividad humana (Society for Ecological Restoration Science & Policy Working Group 2002).

Así mismo, a partir de tratados y normas internacionales centrados en la dimensión ambiental de la gestión forestal como la Convención Sobre Biodiversidad (CDB), la

Convención de Lucha Contra la Desertificación (UNCCD) y la Convención sobre el Cambio Climático (UNFCCC), se han propuesto acciones de restauración enfocadas en aumentar la fijación de carbono, proteger y mantener la biodiversidad y reducir los riesgos de erosión y de incendios forestales (HLPE, 2017; Aerts & Honnay, 2011; Beddington *et al.* 2012; Chazdon *et al.* 2016; Rubio, 2013). En áreas propensas al fuego, uno de los principales objetivos se ha orientado en incrementar la resiliencia de los bosques a partir de acciones de reforestación con especies clave en la sucesión para la recuperación del paisaje. Desde esta perspectiva, se plantea que en áreas degradadas que han sido afectadas por el fuego u otras perturbaciones, se introduzcan especies leñosas nativas que ayuden a promover la sucesión (Vallejo *et al.* 2003). La selección de especies leñosas deberá basarse, tanto como sea posible, en la vegetación natural del área y en las características biofísicas del sitio (Vallejo *et al.* 2009).

En la Cuenca Mediterránea, son comunes los bosques de árboles y arbustos esclerófilos nativos que pertenecen a especies rebrotadoras (Paula *et al.* 2009). Así como los bosques de pinos, debido en parte a su alta capacidad de colonización de espacios abiertos y a las grandes repoblaciones forestales realizadas durante el siglo XX (Pausas *et al.* 2004; Pardo & Gil 2005). En la actualidad se recomienda aunar a los proyectos de restauración forestal las características de ambos grupos de especies, como la alta supervivencia y el rápido crecimiento de los pinos y la alta resiliencia al fuego –esto es, la eficiente capacidad de rebrotar– de los encinas y otras especies rebrotadoras (Pausas *et al.* 2004). En última instancia, las prioridades de la restauración estarán determinadas por el grado de deterioro, las restricciones bióticas, climáticas y socioeconómicas de la zona a restaurar.

### 1.7 Restauración mediante repoblación forestal

Los ecosistemas mediterráneos han experimentado diversas prácticas orientadas a la recuperación de la cubierta vegetal a través de diferentes estrategias, planes y programas (Cuadro 1) hacia el objetivo de la restauración. Los objetivos de los programas de forestación con pino carrasco estuvieron orientados principalmente a aumentar la productividad forestal y como una medida de control del sistema hidrológico-forestal y de los sistemas de dunas costeras (Esteve *et al.* 1990). El uso de *P. halepensis* en zonas degradadas para promover la sucesión vegetal (Ortuño 1990), presuponía que la presencia de esta especie, facilitaría el reclutamiento de otras especies cercanas a aquellas cuyo

desarrollo favorecería las condiciones microclimáticas y edáficas del lugar (Montero de Burgos & Alcanda 1993).

### Cuadro 1 Repoblación con *Pinus halepensis*

En España, los trabajos de regeneración mediante repoblación forestal, se han realizado siguiendo los modelos basados en la silvicultura europea. La política de repoblación forestal comprendida entre 1940 a 2006 promovió actuaciones de repoblación en un 17.7% de la superficie forestal española, delimitada en el Tercer Inventario Forestal Nacional. En este período se repoblaron más de 5 millones de hectáreas gracias a las labores de la administración pública a la cual se suma 1 millón de hectáreas de la iniciativa privada (SECF 2010). Durante el siglo pasado se llevaron a cabo numerosos programas de forestación en zonas degradadas en las que se plantaron diversas especies de coníferas, especialmente pinos (Pausas *et al.* 2004; Pardo & Gil 2005). Las especies de pinos del Mediterráneo se han usado desde el siglo XIX, en primera instancia para restaurar la cubierta arbórea destruida sobre todo por la intensa acción humana (Grove & Rackham 2001); siendo el pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.) la especie forestal más abundante de la parte occidental de la Cuenca Mediterránea, encontrándose también al Sur de la Cuenca Oriental (Quézel 2000).



Figura 3. Bosque de *Pinus halepensis* en La Hude. Repoblación forestal y trabajos selvícolas en montes de la Generalitat Valenciana.

Autor de fotografía: Alberto Vilagrosa Carmona.

Algunos estudios muestran que aun cuando las plantaciones de pino contribuyen a la regeneración de especies leñosas en áreas Mediterráneas, este beneficio se reduce en años y sitios secos debido a una mayor competencia por el agua (Maestre & Cortina, 2004). También influirá la densidad de plantación en las relaciones de facilitación y competencia (Thomas *et al.* 1999). Otro aspecto que influye en el éxito de la regeneración de la cubierta vegetal en las plantaciones es la distancia de dispersión de semillas y la presencia de especies rebrotadoras. Así, la introducción de especies arbustivas en repoblaciones de *P. halepensis* como *Q. coccifera*, *R. lycioides* y *P. lentiscus* con una gran capacidad de rebrote (Lloret & Vilá 2003), podrían contribuir a naturalizar estas plantaciones, de manera que pasen a ser bosques con una mejor regeneración, con niveles más altos de biodiversidad y con alta resiliencia frente a perturbaciones como plagas o incendios (Maestre & Cortina, 2004).

#### 1.8 Respuesta funcional de especies forestales

##### **Regeneración tras el fuego**

En regiones expuestas al fuego, la mayoría de las especies han desarrollado mecanismos para desempeñarse de manera eficiente después de un incendio a nivel de población o de individuo (Keeley *et al.* 2012). Existen dos grandes grupos de especies vegetales según su respuesta al fuego: las especies rebrotadoras y las germinadoras (Keeley & Zedler 1978; Pausas & Vallejo 1999; Pausas *et al.* 2004). Estos grupos se han seleccionado a lo largo de la evolución, lo que favorece la persistencia de las plantas en regímenes de incendios recurrentes. Las especies rebrotadoras pueden resistir altas temperaturas y regenerarse tras el paso del fuego por medio de distintas estructuras que les permite diferenciarse y formar nuevos tallos y hojas que se desarrollarán en un período de tiempo relativamente corto (Lloret, 2004). Desde este punto de vista, la capacidad de regeneración de las especies rebrotadoras, tras el fuego o perturbación, puede promover la resiliencia del ecosistema (Ferran *et al.* 1992; Vallejo & Alloza 1998).

En general, las especies rebrotadoras tienen respuestas fisiológica relacionada con la tolerancia al estrés hídrico, lo que promueve que las plantas mantengan una estrategia más conservadora caracterizada por una alta eficiencia en el uso del agua (Hernández *et al.* 2010). En áreas de fuegos recurrentes, las especies rebrotadoras pueden regenerar sus tejidos, debido a una menor acumulación de combustible. Por otro lado, estas especies no dependen de las semillas del germoplasma, para su regeneración. Cuentan con raíces de

crecimiento profundo, que además pueden funcionar como órganos de almacenamiento (Molinas & Verdaguer 1993).

## Cuadro 2

### Importancia de las plantas rebrotadoras en procesos de regeneración

Las plantas rebrotadoras son capaces de enfrentar diversas perturbaciones gracias a la existencia de meristemos que persisten protegidos por el suelo (raíces, rizomas, lignotúber, bulbos) o por corteza fuertemente aislante como es el caso del corcho en los alcornoques (Molinas & Verdaguer 1993; Pausas 1997). Cada especie rebrotadora dispone de distintas posibilidades de resistencia según la severidad del incendio y el momento de crecimiento de la planta (Pausas 2010). Los ejemplos son múltiples en la Cuenca Mediterránea: *Quercus suber*, con una corteza aislante (el corcho), *Quercus coccifera*, *Quercus ilex*, *Juniperus Oxycedrus*, *Erica multiflora*, *Chamaerops humillis*, y en general las especies esclerófilas; así como en el chaparral californiano; el “fynbos” de Sudáfrica y los bosques australianos de “jarrah” (Arianoutsou *et al.* 1993). En general, los rebrotes de leñosas son siempre muy rápidos debido a las existencias de reservas de carbohidratos en los órganos subterráneos y al sistema radicular bien desarrollado del que disponen, lo que permite captar agua y nutrientes después del fuego (Molinas & Verdaguer 1993).



Figura 4. Planta de *Acer granatense* en proceso de rebrote en verano del 2102, en una parcela experimental de alta densidad.

Autor de fotografía: María Elena Granados García (MEGG)



En última instancia, en áreas propensas al fuego, el éxito de la recuperación del ecosistema estará en gran medida determinado por las propiedades estructurales y funcionales de las plantas, por el tipo de regeneración de las especies involucradas, por las características del medio –particularmente en el período posterior al incendio– y por otras perturbaciones que pudieran ocurrir posteriormente. Las especies rebrotadoras (Cuadro 2), por la rapidez de su regeneración, representan una opción para mejorar la resistencia y resiliencia de los ecosistemas con alto riesgo de incendios (Ferran *et al.* 1992; Vallejo y Alloza 1998; Pausas y Keeley 2017).

### **Respuestas funcionales de las plantas en clima seco y semiárido**

El desarrollo de las plantas en áreas de clima marcadamente estacional se restringe a los períodos de condiciones favorables (Vázquez Yañes, 1992), por lo que la distribución, el crecimiento, la supervivencia y la adaptación de las especies a distintas escalas territoriales dependerán de sus características eco-fisiológicas, como resultado de diversos atributos funcionales, morfológicos y reproductivos. Las especies mediterráneas, con un alto grado de respuesta fenotípica a la escasez de recursos como agua y nutrientes, muestran cambios morfológicos y fisiológicos que afectan la forma y tasa de crecimiento, la distribución de carbohidratos, así como otros aspectos funcionales (Valladares *et al.* 2000).

Las condiciones ambientales distintas de aquellas que se consideran adecuadas para las funciones vitales de las plantas generalmente provocan respuestas de estrés. Levitt (1980) definió el estrés como: “cualquier factor ambiental potencialmente desfavorable para los organismos vivos”. De acuerdo con Lichtenthaler (1996) se considerará que existe una situación de estrés cuando el metabolismo de la planta, su crecimiento o su desarrollo se bloquean o limitan por cualquier sustancia o condición desfavorable. El término estrés ha adquirido una connotación que se refiere, por un lado, a los estímulos ambientales que se apartan de los rangos óptimos y por otro lado, al estado fisiológico que se observa en el organismo como consecuencia de los estímulos ambientales negativos (Larcher 1995). Por lo tanto, es importante considerar que las diversas especies difieren en sus requerimientos óptimos y en su susceptibilidad a un determinado estrés (Levitt 1980).

### **Respuesta al estrés hídrico**

El desarrollo de las plantas en clima mediterráneo está condicionado por la limitación hídrica y por la irregularidad de las precipitaciones, condiciones que se verán aumentadas en las



próximas décadas (IPCC 2014). Las plantas mediterráneas han desarrollado mecanismos para afrontar condiciones de estrés hídrico, existiendo un rango de variación para evitar o tolerar la sequía (McDowell *et al.* 2013). Desde este punto de vista las especies han sido descritas como evitadoras o tolerantes de la sequía, de acuerdo con los mecanismos de resistencia al déficit hídrico (Levit 1980). Las plantas evitadoras de la sequía tienen un comportamiento hídrico estable o isohídrico, debido a que la regulación de la transpiración evitaría la excesiva tensión del xilema y permitiría mantener la hidratación de sus tejidos (Pausas *et al.* 2016). Las plantas tolerantes de la sequía o anisohídricas permiten que cierto grado de estrés afecte sus tejidos, éstas son capaces de mantener los estomas abiertos con potenciales hídricos muy bajos (Cuadro 3), lo que les permite un balance de carbono positivo, sin embargo, arriesgan la funcionalidad del sistema hidráulico (Urli *et al.* 2013; Pausas *et al.* 2016) y un aumento en la cavitación (McDowell 2011).

Cuadro 3. Respuestas funcionales de las plantas que enfrentan estrés hídrico. Fuente: Adaptado de Valladares *et al.* (2004) y Pausas & Keeley (2017).

Déficit hídrico	
Estrategia	Respuesta
Evitadora	Plantas isohídricas Cierre de estomas con un contenido de agua alto Balance negativo de carbono Ajuste osmótico con Potencial hídrico alto Tejidos sensibles a deshidratación
Tolerante	Plantas anisohídricas Cierre de estomas con un contenido de agua bajo Balance positivo de carbono Ajuste osmótico con Potencial hídrico bajo Riesgo del sistema hidráulico y de cavitación Tejidos resistentes a deshidratación
Escape	Las plantas completan su ciclo de vida antes de que se presente el estrés hídrico. Considerada como auténtica respuesta de resistencia al estrés hídrico.

## Respuesta a la intensidad de luz

En clima Mediterráneo, los altos niveles de intensidad lumínica puede limitar el establecimiento de las plantas (Gómez-Aparicio *et al.* 2006). Las hojas formadas en estos ambientes en general son más gruesas y tienen una capacidad fotosintética superior a la de las plantas sombreadas, por lo que la sombra provoca hojas orientadas a optimizar la captación de luz (Givnish 1988). Se ha establecido que la tolerancia a la sombra está relacionada con los mecanismos que incrementan la captura de luz y la acumulación de biomasa y con aquellos mecanismos que aumentan su resistencia a perturbaciones (Gómez-Aparicio *et al.* 2006; Valladares *et al.* 2005). Sin embargo, la tolerancia a la sombra podría quedar en un segundo término en aquellos ambientes cuyo régimen de lluvias es escaso, como en los bosques mediterráneos en los que el establecimiento de las plántulas podría depender de más de un factor (Sack 2004; Valladares 2001).

En condiciones de sequía, las plantas pueden interaccionar con excesiva luz o con excesiva sombra, por lo que se ha considerado que deben existir mecanismos de compensación, tanto morfológica como fisiológica (Smith & Huston 1989). En tales condiciones, la variación e interacción simultánea de la luz y el agua limitan las respuestas de las plantas a la luz y su tolerancia a la sombra, especialmente restringidas por la disponibilidad hídrica (Vilagrosa *et al.* 2003; Valladares *et al.* 2004). En ambientes secos, se han observado respuestas en que la sombra tiene efectos positivos sobre las plantas (Pugnaire *et al.* 1996; Castro *et al.* 2004), ya que mejora su estado hídrico, disminuye la temperatura de las hojas, la transpiración y la fotoinhibición (Valladares & Pearcy, 1997; Flores & Jurado, 2003; Gómez-Aparicio *et al.* 2006). Y respuestas en las que la sombra supone el efecto contrario debido a que las plantas del dosel requieren mayor cantidad de humedad y pueden disminuir significativamente el potencial hídrico (Tielborger & Kadmon 2000; Maestre & Cortina 2004).

El resultado podría ser crítico en años de mayor sequía, derivando en lo que se ha denominado “la sombra seca”, lo que podría ser consecuencia de la competencia con los árboles que componen el dosel. (Valladares 2001). Desde este punto de vista, la interacción entre la luz y la humedad del suelo en el sotobosque es uno de los aspectos que actualmente suscita más interés en los estudios sobre el establecimiento de las plantas de manera natural o después de ser introducidas en el campo (Valladares 2001; Gavinet *et al.* 2015; Bolte *et al.* 2016).

En este sentido, es importante considerar que las proyecciones de cambio climático para la región Mediterránea (IPCC 2014), indican un aumento de la intensidad y frecuencia de las sequías, así como un incremento de las temperaturas hacia finales de siglo. De aquí que la introducción de especies forestales nativas, rebrotadoras, tanto arbustivas como arbóreas, en formaciones monoespecíficas de pino carrasco, podría promover el desarrollo de masas mixtas en el sotobosque de estos ecosistemas a largo plazo para aumentar la resiliencia y rápida recuperación frente a fuegos recurrentes (Gavinet *et al.* 2015; Granados *et al.* 2016) y su adaptación a las nuevas condiciones climáticas.

### **Antecedentes del presente trabajo**

El marco de la restauración ecológica, a través de la reforestación con especies nativas y rebrotadoras bajo cubierta de pinos, permitió el enfoque de este trabajo de tesis doctoral realizado en la región de Ayora en Valencia, España. El estudio se centró en una repoblación de pino carrasco con baja presencia de especies rebrotadoras en el sotobosque. Como parte del proyecto FUME (Forest Fires under Climate, Social and Economic Changes in Europe, the Mediterranean and other Fire-affected Areas of the World; 2010-2014; nº243.888), se planteó llevar a cabo plantaciones con especies forestales rebrotadoras, bajo el dosel de pinar. El objetivo fue determinar los mecanismos funcionales de las especies que favorezcan su permanencia y así, la resiliencia de los bosques a los incendios forestales y eventualmente al cambio climático.

Se estudió el efecto de la cubierta arbórea de una plantación de *Pinus halepensis* (Mill.) realizada entre 1945 y 1950 en la región de la Hude en Valencia, España. El área experimental seleccionada contaba con diferentes densidades de pinos, lo que hizo posible seleccionar tres diferentes sitios con tres densidades de pino: alta, media y baja. Las condiciones abióticas generadas por niveles contrastados de sombreado y sequía, con características micro-climáticas propias, hizo posible investigar las respuestas morfológicas y fisiológicas de seis especies de plantas leñosas autóctonas con capacidad de rebrotar después de una perturbación.

En la investigación se planteó que diferentes densidades de pino producirían diferencias entre condiciones micro-climáticas y bióticas, lo que afectaría el desarrollo de las especies introducidas. Desde esta perspectiva, el compromiso que se estableciera entre

competencia y facilitación determinaría las características morfo-fncionales de las especies introducidas y el éxito de la plantación. Se postuló que los pinares de densidades medias tendrían las mejores condiciones para la instalación de nuevas especies, ya que generarían menor competencia por agua y nutrientes y facilitaría el establecimiento de las plantas, debido a las condiciones de sombreado que reduciría el estrés hídrico. El resultado de este trabajo de tesis podrá ser un referente para futuras gestiones de reforestación ya que cada especie podría ser elegida para aumentar la biodiversidad de los bosques, en las condiciones de sombra generada por la densidad de los árboles y dotar de resiliencia al ecosistema frente a distintas perturbaciones o futuros incendios.

### 1.9 Objetivo General

Estudiar los factores ambientales en bosques de pino carrasco que determinen el establecimiento de especies forestales rebrotadoras introducidas bajo diferentes densidades del dosel. El objetivo es incrementar la resiliencia de la comunidad frente a incendios forestales o perturbaciones futuras, mediante la introducción de una amplia relación de especies rebrotadoras.

#### Objetivos específicos

1. Determinar las condiciones ambientales generadas por cada densidad de pinos en función de la precipitación, contenido de agua en el suelo y radiación solar como factores limitantes para el establecimiento y desarrollo de los plantones.
2. Evaluar la respuesta funcional en términos de intercambio de gases y eficiencia del fotosistema II (PSII) de las especies introducidas bajo el dosel de cada densidad de pinar.
3. Evaluar en condiciones óptimas de humedad del sustrato la respuesta funcional de las especies bajo diferentes niveles de radiación solar, con la finalidad de entender los procesos de limitación lumínica e hídrica que operan en el intercambio de gases de las especies estudiadas.
4. Analizar los procesos de competencia o facilitación que operan sobre la respuesta de las especies introducidas bajo el dosel de diferentes densidades de pino.

## 2. Material y Métodos

### 2.1 Área de estudio

La investigación se realizó en La Hundede, Municipio de Ayora, provincia de Valencia, sobre la carretera CV-440 dirección Albacete a  $30^{\circ} 7' N$ ;  $1^{\circ} 13' W$  y  $39^{\circ} 6' N$ ;  $1^{\circ} 11' W$  (Figura 5). La precipitación promedio en esta zona es de 480 mm anuales que se registran fundamentalmente durante primavera y otoño, la temperatura media es de  $13.7^{\circ}C$  (Pérez-Cueva 1994; Figura 6). El clima es seco meso Mediterráneo. El sustrato en el que se sitúa la Hundede es calcáreo, con suelos superficiales. La pedregosidad varía entre 27 y 49%. La zona seleccionada para este estudio corresponde a una repoblación de pino carrasco que se ubica en bancales agrícolas abandonados, en relieve relativamente llano. En esta zona se realizaron labores de clara hace 10 años ocasionando diferencias en la cobertura del dosel que se aprovecharon para establecer las parcelas experimentales: El Aljibe ( $39^{\circ} 09' N$ ;  $1^{\circ}18' W$ ), El Lobo ( $39^{\circ}12' N$ ,  $1^{\circ} 23' W$ ) y El Mojón ( $39^{\circ} 12' N$ ;  $1^{\circ}22' W$ ). El Aljibe se ubica a 11.5 km de Ayora, sobre la carretera C-440, a una distancia entre ésta y la parcela denominada El Mojón de 4.0 km y, entre ésta y El Lobo de 500 m de distancia sobre la misma carretera en dirección a Albacete, justo en límite con Castilla la Mancha.

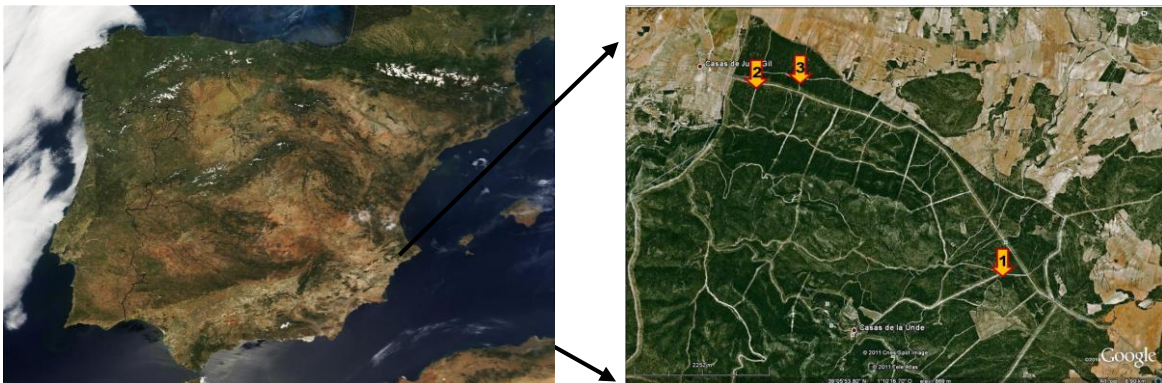


Figura 5. Localización del área de estudio en la región de La Hundede, Municipio de Ayora. Cada sitio experimental está marcado con números correspondiendo a: 1 El Aljibe; 2 El Lobo y 3 El Mojón. El emplazamiento del estudio se encuentra sobre la carretera Ayora-Carcelén, dentro del monte de utilidad pública número V1007V154, con denominación “La Hundede y La Palomera”.

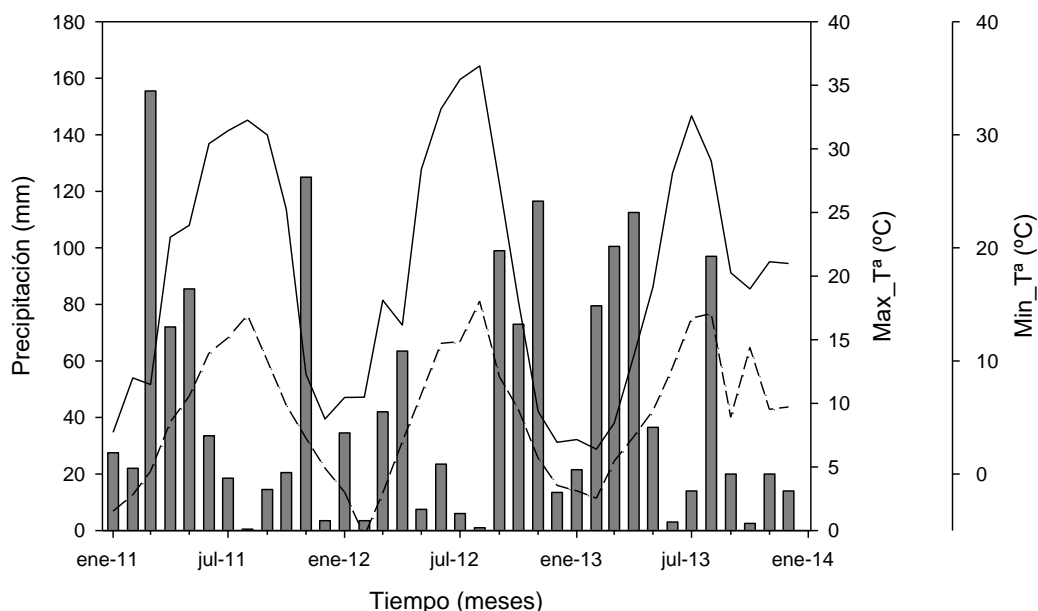


Figura 6. Temperatura y precipitación de la zona durante el período de estudio. Datos de la estación meteorológica del vivero forestal La Hunde (Monte U.P. 154 “La Hunde” T.M. Ayora).

## 2.2 Diseño experimental

En cada sitio se deslindaron parcelas de AD, MD y BD, cada una cuenta con una superficie aproximada de 900 m<sup>2</sup> (30x30 m). En cada parcela se plantaron 15 plantas por especie de manera que contamos con 90 plantas por parcela, 270 por sitio y 810 en el experimento. La plantación se realizó en febrero del 2011, en hoyos de 40X40X40 usando la técnica de ahogado mecánico con retroexcavadora.

## 2.3 Selección de especies

Se eligieron seis especies de plantas rebrotadoras que son comunes en los ecosistemas estudiados en este proyecto, pertenecen a diferentes grupos funcionales: arbustivo-arbóreo; perenne-caducifolio, así como a diversos límites de tolerancia a la sequía y a la sombra (Figura 7). Estas especies cubren un amplio rango de necesidades ecológicas siendo relevantes para fines forestales en los ecosistemas Mediterráneos. Las especies seleccionadas fueron: *Rhamnus alaternus* L., *Arbutus unedo* L., *Quercus ilex ssp ballota* L., *Quercus faginea* Lam., *Fraxinus ornus* L., *Acer opalus ssp granatense* (*Acer granatense* Boiss.). Las plántulas fueron cultivadas durante el año anterior a la plantación en viveros del Servicio Forestal de la Generalitat Valenciana (Cuadro 4).

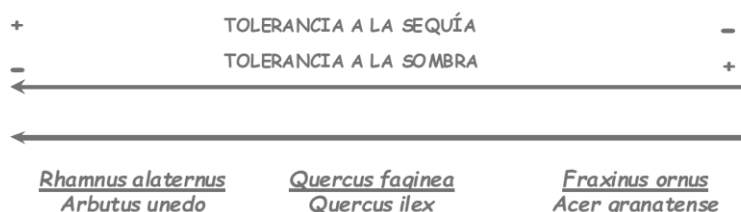


Figura 7. Esquema conceptual de las especies seleccionadas de acuerdo con su tolerancia a la sombra o a la sequía.

#### 2.4 Origen de las plantas seleccionadas para reforestación

Las semillas de todas las especies provienen de la Región Valenciana y fueron suministradas por el Banc de Llavors - CIEF (Servicios Forestales Generalitat Valenciana). Los plantones fueron cultivados en diferentes viveros de la Generalitat Valenciana. En el cuadro 4 se detalla el vivero de procedencia y las condiciones de cultivo de las especies usadas en la plantación.

Cuadro 4. Procedencia de las plantas empleadas en el experimento y características de cultivo.

Especie	Vivero	Condiciones de cultivo		
		Contenedor	Sustrato	Fertilización
<i>R. alaternus</i>	Guardamar	PQ250cc	Turba encalada	N-P-K 15-10-20+ con 3% de FICOTE- Nitro-15%
<i>A. unedo</i>	La Hunde	Forestpot 300cc	45% turba de coco +45% turba encalada +10% vermiculita	2 kg of Plantacote® (8-9 meses) por m <sup>3</sup> de sustrato
<i>Q. ilex</i>	La Hunde	Forestpot 300cc	45% turba de coco +45% turba encalada +10% vermiculita	2 kg de Plantacote® (8-9 meses) por m <sup>3</sup> de sustrato
<i>Q. faginea</i>	Campo de Mirra	QP D 60 T /9	turba encalada fertilizada	
<i>F. ornus</i>	La Hunde	Arnabat 250cc	45% turba de coco +45% turba encalada +10% vermiculita	2 kg de Plantacote® (8-9 meses) por m <sup>3</sup> de sustrato
<i>A. granatense</i>	Hontanar	FP200	45% turba de coco +45% turba encalada +10% vermiculite	Ocasional basado en triple granulado de composta 15 (NPK)



## 2.5 Auto-ecología de las especies elegidas

La descripción de las especies corresponde a la información derivada de la guía de árboles y arbustos de la Península Ibérica (López 2007).

### 2.5.1 *Arbutus unedo* (Familia Ericáceas)



*Arbutus unedo* L. el madroño, es un arbusto o arbolillo que puede llegar a medir de 8-10 metros de altura, aunque habitualmente no supera los 3-5 metros, de hojas perennes, semi-esclerófilas que vive principalmente en bosques y matorrales altos. Se desarrolla sobre cualquier tipo de sustrato de las áreas termo y meso-mediterráneo no excesivamente secas de la Comunidad Valenciana, frecuentemente en umbrías. Tiene capacidad de rebrotar de cepa tras el fuego o tala y, aunque no se establece bien de semillas después de los incendios, sus semillas soportan relativamente bien temperaturas de hasta 120°C durante un par de minutos, como máximo.

Figura 8. Planta de *Acer granatense*

Autor de fotografía: MEGG

### 2.5.2 *Rhamnus alaternus* (Familia Rhamnaceas)

*Rhamnus alaternus* L., el aladierno es un arbusto o pequeño arbolillo de 1-5 metros de altura, verde todo el año, de corteza grisácea, que en las ramillas jóvenes se tiñe a veces de rojo. Sus hojas son semi-esclerófilas. Muy extendido en la comunidad valenciana, excepto en las áreas frías de montaña, vive sobre cualquier tipo de sustrato, rebrota vigorosamente tras el fuego o tala, pero sus semillas no resisten las elevadas temperaturas de los incendios. Tolera niveles moderados de radiación solar, en sitios preferentemente húmedos.



Figura 9. Planta de *Rhamnus alaternus*

Autor de fotografía: MEGG

### 2.5.3 *Quercus ilex* (Familia Fagáceas)



Figura 10. Planta de *Quercus ilex*

Autor de fotografía: MEGG

*Quercus ilex* L. es de hoja perenne de hojas esclerófilas. La encina es un árbol o arbusto de copa amplia y redondeada que puede alcanzar hasta 27 m de altura, aunque raramente sobrepasa los 15 o 20 metros. Vive sobre cualquier tipo de sustrato. Se desarrolla desde el piso termo y meso-mediterráneo con ombroclima seco y semiárido, Rebrotan tras el fuego o tala a partir de cepa o de raíz. Tolera la alta radiación y la sequía,

### 2.5.4 *Quercus faginea* (Familia Fagáceas)



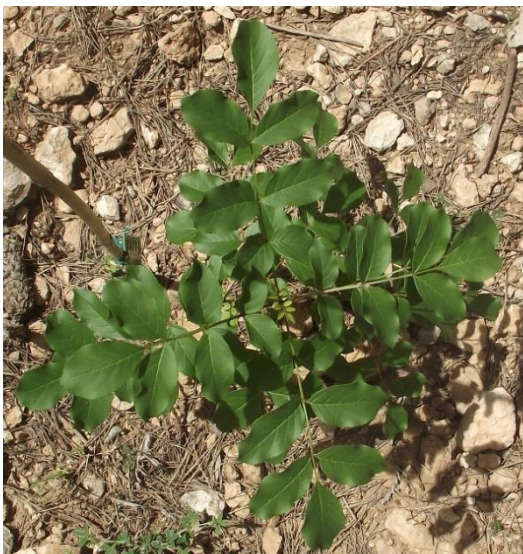
Figura 11. Planta de *Quercus faginea*

Autor de fotografía: MEGG

*Quercus faginea* Lam., el quejigo es de hoja semi-caduca (marscente) y semi-esclerófila. Es un árbol de tamaño medio, que no suele pasar de los 20 metros de altura, y muchas veces se le ve reducido al porte arbustivo. Tiene una copa redondeada, ovoide o alargada, más o menos regular, con follaje no muy denso. Vive en los pisos meso y supramediterráneo de ombroclima subhúmedo. Se cría en todo tipo de sustratos, tanto pobres como ricos en carbonato cálcico. Rebrotan tras la tala o el fuego a partir de cepa. Con cierta tolerancia a la sequía.



### 2.5.5 *Fraxinus ornus* (Familia Oleáceas)



*Fraxinus ornus* L. es un árbol de hoja caduca, el fresno de flor es de copa amplia y corteza lisa, grisácea, que puede alcanzar una altura de 20 metros, aunque habitualmente no suele pasar de 10 metros. Es una especie típica de bosques de ribera y está extendido por los cursos medios y altos de los ríos valencianos, restringido a umbrías húmedas, y es indiferente al sustrato. Soporta la poda y rebrota muy bien de cepa y raíz tras el fuego o tala.

Figura 12. Planta de *Fraxinus ornus*

Autor de fotografía: MEGG

### 2.5.6 *Acer granatense* (Familia Aceráceas)



*Acer granatense* (*Acer opalus* Mill. subsp. *granatense* (Boiss.) es un arbusto o arbolillo poco elevado, de hasta unos 7 metros de altura, de hojas caducas y ramas abiertas. Está ampliamente distribuido por las áreas forestales subhúmedas montañosas. La especie se encuentra muy dispersa en carrascales, pinares y quejigares de zonas de montañas de los pisos bioclimáticos mesomediterráneo y supramediterráneo subhúmedo, aunque pueden formar pequeños bosquetes al pie de farallones y roquedos calizos con orientación norte. Rebrotan con facilidad de cepa tras el fuego o tala, pero no sus semillas. Es poco tolerante a la alta radiación.

Figura 13. Planta de *Acer granatense*

Autor de fotografía: MEGG

## 2.6 Caracterización Morfológica de las especies

Antes de la plantación en el campo se realizó la caracterización morfológica de las plántulas provenientes del invernadero. Se seleccionaron diez plántulas al azar. Estas se cortaron a nivel del cuello de la raíz separándolas en cuatro fracciones: tallos, hojas, raíz principal (> 2 cm) y raíz secundaria (< 2 cm). Las fracciones de raíz se limpiaron del sustrato con agua corriente hasta quedar completamente limpias. Cada fracción se colocó en sobres de papel identificándolas debidamente, se secaron en una estufa a 70°C por dos días, pesándose posteriormente en balanza de precisión. Se midió la altura del tallo tomada del cuello de la raíz al meristemo apical y el diámetro del cuello de la raíz; a partir de estas medidas se calculó el índice de esbeltez como la relación entre la altura y el diámetro. El peso seco de las fracciones se registró como peso seco del tallo, peso seco de la plántula, peso seco de la raíz; con estos datos se calcularon dos índices morfológicos: la relación raíz/tallo y la relación peso seco de la raíz /peso seco de la plántula (Cuadro 5).

De todas las especies, *Arbutus unedo* resultó ser la de mayor talla, con un promedio de 37 cm, al mismo tiempo tiene la mayor biomasa total, lo cual es claro por la gran cantidad de hojas al momento de la caracterización; con un diámetro de tallo parecido al de las otras especies, éste resulta ser esbelto. Así mismo el índice de robustez fue mayor en *A. unedo* disminuyendo gradualmente desde *R. alaternus*, *Q. ilex*, *Q. fagínea*, *A. granatense* y *F. ornus*. El índice menor de *F. ornus* (2.6) indica que las plántulas resultaron ser más robustas y con tallo vigoroso, lo cual podría explicar su buen rendimiento en campo.

En cuanto a la biomasa, *A. unedo* tiene una proporción de biomasa subterránea baja con respecto a la biomasa aérea, indicando que invierte más en la producción de órganos fotosintéticos que en órganos de absorción de agua y nutrientes; en relación con el resto de las especies, difirió este aspecto con *Fraxinus ornus*, el cual tuvo una relación biomasa aérea/ biomasa subterránea alta. Es importante tener en cuenta que tanto *A. granatense* como *F. ornus*, no contaban con hojas al momento de hacer la caracterización (diciembre del 2010) por ser especies caducifolias, lo que modificaría las estimaciones relacionadas con los parámetros que incluían la presencia de hojas.

Una característica relevante de *Q. ilex* fue la biomasa subterránea, la cual resultó ser la máxima de todas las especies, teniendo sin embargo, una proporción similar entre biomasa

aérea/biomasa subterránea, sugiriendo un balance entre absorción de agua y nutrientes y absorción de CO<sub>2</sub>

El resto de las especies comparten proporciones similares, con algunos rasgos a destacar como la baja biomasa aérea de *Q. fagínea* que sugiere poca producción de órganos fotosintéticos para una especie semi caducifolia, ya que las plántulas de esta especie contaban con hojas al momento de la caracterización, característica que contrasta aún más con *F. ornus* y *A. granatense*, que carecían de hojas cuando se hizo la caracterización (Cuadro 5).

Cuadro 5. Características morfológicas de las plántulas al final del período de invernadero. Resultados de Anova de una vía y prueba de Tukey HSD *post hoc* (valores seguidos por la misma letra son no significativos a  $p < 0.05$ ; ns: no significativo, \*\*\*  $p < 0.001$ ). Datos no determinados por ausencia de hojas de especies deciduas en invierno (nd). Media  $\pm$  error estándar (N = 10).

		Especies						valor F
		Au	Ra	Qi	Qf	Fo	Ag	
Altura del tallo	cm	37.2 $\pm$ 2.4a	23.6 $\pm$ 3.6bc	25.2 $\pm$ 1.6bc	17.3 $\pm$ 1.9bc	15.1 $\pm$ 1.9c	25.3 $\pm$ 2.9b	10.293***
Diámetro del cuello de la raíz	mm	5.8 $\pm$ 0.4a	3.9 $\pm$ 0.3b	5.1 $\pm$ 0.2a	3.8 $\pm$ 0.2b	5.8 $\pm$ 0.0.2a	6.1 $\pm$ 0.2a	14.082***
Índice de robutez	cm.mm <sup>-1</sup>	6.6 $\pm$ 0.4a	6.0 $\pm$ 0.8ab	5.1 $\pm$ 0.3ab	4.6 $\pm$ 0.4bc	2.6 $\pm$ 0.2c	4.0 $\pm$ 0.3bc	8.392***
Biomasa seca hojas	g	4.8 $\pm$ 0.a	0.5 $\pm$ 0.05c	2.3 $\pm$ 0.2b	0.4 $\pm$ 0.03c	nd	nd	44.611***
Biomasa seca tallo	g	3.0 $\pm$ 0.5a	0.7 $\pm$ 0.1c	1.4 $\pm$ 0.08bc	0.6 $\pm$ 0.08c	1.1 $\pm$ 0.1bc	2.2 $\pm$ 0.3ab	10.96***
Biomasa seca aérea	g	7.8 $\pm$ 1.2a	1.2 $\pm$ 0.2c	3.7 $\pm$ 0.2b	1.0 $\pm$ 0.1c	1.1 $\pm$ 0.1c	2.2 $\pm$ 0.4bc	24.994***
Biomasa seca raíz principal	g	1.2 $\pm$ 0.1b	0.8 $\pm$ 0.08b	1.0 $\pm$ 0.08b	0.2 $\pm$ 0.03c	0.9 $\pm$ 0.1b	1.7 $\pm$ 0.2a	15.623***
Biomasa seca raíz fina	g	1.4 $\pm$ 0.3b	0.4 $\pm$ 0.08c	4.3 $\pm$ 0.1a	1.6 $\pm$ 0.1b	1.7 $\pm$ 0.3b	2.2 $\pm$ 0.2b	39.114***
Biomasa seca total raíz	g	2.7 $\pm$ 0.3b	1.2 $\pm$ 0.1c	5.2 $\pm$ 0.2a	1.8 $\pm$ 0.2bc	2.6 $\pm$ 0.3b	4 $\pm$ 0.4a	22.747***
Biomasa seca plántula	g	10.5 $\pm$ 1.5a	2.4 $\pm$ 0.3d	8-9 $\pm$ 0.4ab	2.8 $\pm$ 0.3d	3.8 $\pm$ 0.4cd	6.2 $\pm$ 0.8bc	20.5532***
Relación Biomasa raíz/tallo	g.g <sup>-1</sup>	0.4 $\pm$ 0.03d	1.0 $\pm$ 0.1cd	1.5 $\pm$ 0.1bc	2.1 $\pm$ 0.2ab	2.6 $\pm$ 0.4a	2.1 $\pm$ 0.2ab	15.4829***
Relación Biomasa tallo/raíz	g.g <sup>-1</sup>	3.07 $\pm$ 0.14a	0.99 $\pm$ 0.14b	0.71. $\pm$ 0.14b	0.52 $\pm$ 0.14b	0.50 $\pm$ 0.14b	0.53 $\pm$ 0.14b	53.584***
Relación Biomasa raíz/Plántula	g-g <sup>-1</sup>	0.2 $\pm$ 0.01d	0.5 $\pm$ 0.01c	0.6. $\pm$ 0.02bc	0.6 $\pm$ 0.02ab	0.7 $\pm$ 0.03a	0.7 $\pm$ 0.02ab	49.584***

Con estos datos se realizó un análisis de componentes principales (análisis de discriminantes) para definir características morfológicas que agruparían a las especies por grupos funcionales, de acuerdo con la morfología de cada una (Figura 9). El análisis de discriminantes lineales separó claramente a *Q. ilex*, *A. unedo* y a *R. alaternus* la que a su vez se asoció con *F. ornus*. *F. ornus* se relacionó particularmente con *A. granatense* y, someramente, con *Q. fagínea*. Por lo tanto, esta última también quedó separada del resto de las especies (Figura 9). *Q. ilex*, *A. unedo* y *R. alaternus*, son resistentes a la sequía, mientras *A. granatense*, *F. ornus* y *Q. fagínea* son resistentes a la sombra. Los parámetros que contribuyeron a caracterizar la especies de acuerdo al valor del coeficiente lineal discriminante: Biomasa Subterránea/Biomasa Total, Biomasa Subterránea/Biomasa Aérea, Diámetro del cuello de la raíz, Biomasa del tallo y la biomasa subterránea. Los coeficientes de las variables discriminantes lineales fueron: LD1=0.6103 y LD2=0.2840

Coeficientes de discriminantes lineales:

	LD1	LD2	LD3	LD4	LD5
Altura	0.11037517	-0.07307498	0.1675572	-0.154982426	-0.25725940
Diam	-0.63090901	-0.16583953	-1.4083858	0.816865832	1.27384492
BiomasaS	0.48628369	0.43423242	-0.3204528	-0.280077802	0.01412397
BiomTotal	0.46594302	-0.03923692	0.1165596	-0.008075915	0.12520330
BS_BA	0.26886244	-2.07593994	-1.0355198	1.425740596	1.33920229
BA_BS	1.12764719	1.10499180	-1.7200182	0.201245762	-1.99245704
Ps_tallo	-3.80694264	0.08559807	-0.4515991	0.569882660	-1.07122044
BiomasaA	0.74033652	-0.21931327	0.3312432	0.076903722	0.23743445
RaMay	1.07304857	1.73240271	-0.5474466	0.228326317	-0.16776361
RaMen	-0.02943299	-2.02207734	-0.3922195	-2.164814665	0.51195483
IR	-0.55392258	0.20635739	-0.4924481	0.597388878	1.13872436
BioS_Biototal	-18.34664399	18.88403571	1.8387709	-5.052724894	-18.44312793

Coeficientes de las variables discriminantes:

LD1	LD2	LD3	LD4	LD5
0.6058	0.2829	0.0756	0.0288	0.0069

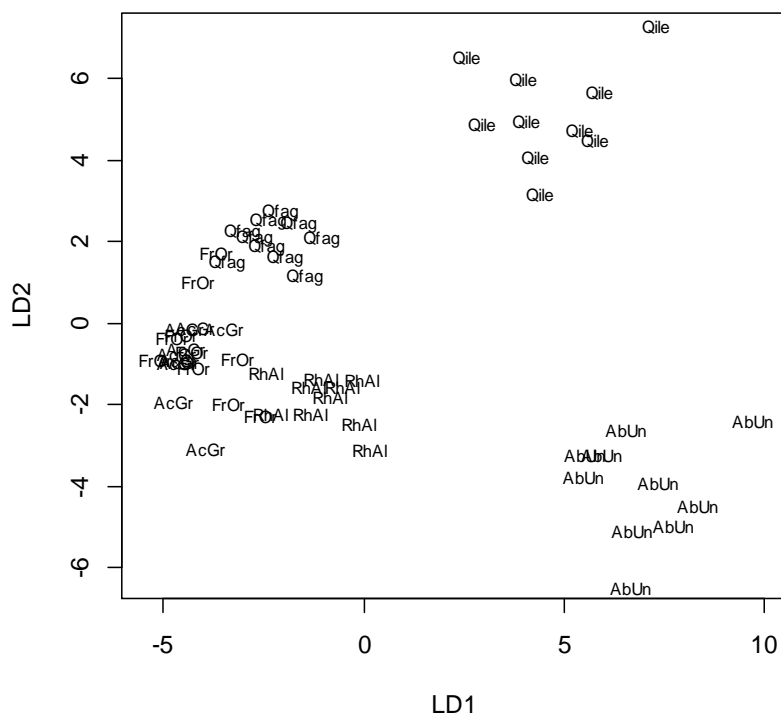


Figura 14. Plano de ordenación en el biplot que discrimina las variables que agrupa o separa a las especies de acuerdo a sus rasgos morfológicos, y grupos funcionales.

## 2.7 Caracterización de las parcelas experimentales

### 2.7.1 Características edáficas

Se tomaron cuatro muestras de suelo por parcela entre 20 y 40 cm de profundidad cuando se hicieron los hoyos de plantación. El suelo se dejó secar a temperatura ambiente, una vez seco se separó el material grueso y el resto se tamizó con un tamiz de 2 mm, determinándose el porcentaje de pedregosidad. Las muestras de tierra fina se enviaron a un laboratorio comercial para determinar: materia orgánica (MO) y carbono orgánico (C) por el método de Walkley-Black, carbonatos en suelo ( $\text{CaCO}_3$  equivalente) por medio del Calcímetro de Bernard, nitrógeno total (N) por el procedimiento Kjeldhal y fósforo disponible (P) por el método Olsen. Otra parte de la tierra fina se analizó en el laboratorio de la Universidad de Alicante, para determinar la textura mediante el Densímetro de Bouyoucos y el pH por el método de la pasta saturada. Para estimar la capacidad de intercambio catiónico (CIC) se consideró que por cada 100 g de suelo el intercambio es de 2 meq en 1% de materia orgánica y de 0.5 meq en 1% de arcilla, sumando la relación de ambos parámetros obtuvimos el valor de la capacidad de intercambio catiónico estimado.



El análisis de varianza muestra que no hay diferencias significativas entre cada una de las propiedades físicas y químicas del suelo con respecto a la densidad de los pinos. Lo que podría indicar que en relación con dichas propiedades, las parcelas tienen semejanzas en cuanto a la disponibilidad de nutrientes y la estructura física del suelo para la infiltración del agua (Cuadro 6). Sin embargo, en cuanto al análisis de varianza sobre las mismas variables con respecto al sitio, este reveló algunas diferencias entre éstos. Los resultados muestran que el N total fue mayor en El Aljibe ( $F=5.882$ ,  $p=0.008$ ), la relación C/N fue mayor en El Mojón ( $F=11.694$ ,  $p=0.000$ ), el pH fue mayor en El Lobo ( $F=5.567$ ,  $p=0.010$ ), el porcentaje de arena fue mayor en el lobo ( $F=7.542$ ,  $p=0.002$ ), el limo fue mayor en El Aljibe ( $F=5.166$ ,  $p=0.0136$ ). Lo que podría dar algún indicio sobre algunas diferencias encontradas en el rendimiento de las plantas.

Cuadro 6. Propiedades del suelo por densidad del pinar. Valores del ANOVA  $\pm$  EE. AD alta densidad, MD media densidad, BD baja densidad.

Propiedades	AD	MD	BD	Valor F	Valor p
<b>Edáficas</b>					
Pedregosidad	39.75 $\pm$ 3.18	44.77 $\pm$ 3.18	41.25 $\pm$ 3.18	0.065	0.528
Arena	69.9 $\pm$ 1.55	74.36 $\pm$ 1.55	69.17 $\pm$ 1.55	3.274	0.553
Arcilla	15.2 $\pm$ 0.95	15.27 $\pm$ 0.95	15.41 $\pm$ 0.95	0.128	0.987
Limo	14.88 $\pm$ 1.54	10.34 $\pm$ 1.54	15.41 $\pm$ 1.54	3.234	0.057
pH	7.91 $\pm$ 0.17	7.95 $\pm$ 0.17	7.92 $\pm$ 0.17	2.28	0.077
% M. O.	3.94 $\pm$ 0.28	3.49 $\pm$ 0.28	4.26 $\pm$ 0.28	1.90	0.171
% N total	0.17 $\pm$ 0.00	0.16 $\pm$ 0.00	0.19 $\pm$ 0.00	2.422	0.110
% C Org.	2.29 $\pm$ 0.16	2.03 $\pm$ 0.16	2.48 $\pm$ 0.16	1.901	0.171
C/N	13.35 $\pm$ 0.61	12.67 $\pm$ 0.61	13.28 $\pm$ 0.61	0.361	0.700
% CO <sub>3</sub> <sup>=</sup>	39.25 $\pm$ 4.15	31.52 $\pm$ 4.15	44.68 $\pm$ 4.15	2.528	0.100
P ppm	7.00 $\pm$ 1.56	6.11 $\pm$ 1.56	10.11 $\pm$ 1.56	1.805	0.186
CIC meq/100g	15.49 $\pm$ 0.66	14.62 $\pm$ 0.66	16.24 $\pm$ 0.66	1.465	0.250

## **2.7.2 Características microclimáticas de las parcelas experimentales**

### **2.7.2.1 Pluviometría y temperatura**

Los datos genéricos de precipitación y temperatura correspondientes a la zona de estudio fueron cedidos por el personal del vivero forestal de La Hunde ((Monte U.P. 154 “La Hunde” T.M. Ayora Generalitat Valenciana). Se registraron datos desde el año 2011 al año 2013.

### **2.7.2.2 Transcolación**

La cantidad de agua de lluvia que llega al interior de las parcelas se monitoreó colectando el agua por medio de pluviómetros colocados sobre una línea diagonal trazada en el interior de cada parcela. La cantidad de agua ( $L m^{-2}$ ) recogida debajo de la cubierta de pinar, se hizo a través de tres pluviómetros de 26 cm de diámetro conectados a bidones de plástico de 5 L instalados en cada parcela.

### **2.7.2.3 Humedad del suelo**

En cada una de las 9 parcelas se colocaron siete pares de varillas metálicas de 20 cm de longitud distribuidas al azar en los diferentes hoyos de plantación. La humedad fue registrada a una profundidad de 0-20 cm mensualmente mediante una sonda TDR y el software PC-TDR (TDR100 Support Software) basado en el contenido volumétrico del agua y la conductividad eléctrica. También se determinó la humedad del suelo a una profundidad de 0-40 cm por medio de sondas HS-10 (Decagon Devices). Las sondas se colocaron en tres hoyos de plantación en cada parcela, determinando la humedad del suelo a ambas profundidades mensualmente. El contenido volumétrico de agua se midió mensualmente en ambas profundidades del suelo entre marzo de 2011 y octubre de 2013.

### **2.7.2.4 Temperatura y humedad relativa**

Con el fin de evaluar el efecto de la densidad de pino sobre la temperatura ( $T^a$ ,  $^{\circ}C$ ) y humedad relativa (H%) bajo el dosel, se instaló un sensor HOBO® U23 con registrador de datos Pro v2 (Onset Computer Corporation, Inc. del Sur MA, EE.UU.) en cada parcela. Ambas variables fueron medidas a intervalos de 10 min y se promediaron cada hora. El déficit de presión de vapor (DPV, kPa) se calculó a partir de los datos de  $T^a$  y H.

### **2.7.2.5 Determinación de Radiación Fotosintéticamente Activa (PAR)**

Se midió la radiación fotosintéticamente activa, expresada como densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD;  $\mu mol m^{-2}s^{-1}$ ) con un ceptómetro (Sunfleck ceptometer,

Decagon Devices). Se realizaron medidas dentro de las parcelas y medidas directas fuera de ellas, en días completamente soleados cada tres horas de 8:00 a 18:00 horas en base horaria, en cada estación durante 2011 y al inicio de la primavera de 2012 para completar un ciclo anual. Además la radiación global de cada parcela se determinó también mediante fotografía hemisférica, (n=9 en el interior de las parcelas y n= 3 en el exterior). Las fotografías fueron tomadas con una cámara Nikon FM con una lente “ojo de pez”. Las fotografías digitalizadas se analizaron con un programa (Hemiview 2.1 Canopy Analysis Software Delta T Devices Ltd. UK). Se determinó el factor de sitio global (FSG) fuera de las parcelas que explica la radiación solar, en una localización específica, en el interior del bosque en relación con el exterior, calculada como la suma del factor de sitio directo (proporción de radiación solar directa) y el factor de sitio indirecto (proporción de radiación solar difusa). El valor del FSG comprende un rango de 0 (dosel cerrado) y 1 (dosel abierto, exposición de luz solar directa).

### **2.7.3 Crecimiento y supervivencia**

Se monitoreó el crecimiento de todas las especies en función de la densidad durante el primer año post-plantación hasta el otoño de 2016, estimándose la tasa de crecimiento relativo (RGR) en altura y diámetro (Hunt *et al.* 2002) según la fórmula:

$$RGR = (\ln P2 - \ln P1) / (t2 - t1)$$

P2 crecimiento julio 2016

P1 crecimiento marzo 2011

t2 tiempo julio 2016

t1 tiempo marzo 2011

ln logaritmo natural

Se determinó la supervivencia de todas las especies introducidas después del primer año en la primavera del 2011 hasta verano de 2016.

### **2.7.4 Determinación de las respuestas fisiológicas de las plantas**

En campo se midieron diferentes variables relacionadas con el nivel de estrés hídrico, el intercambio de gases y la eficiencia del fotosistema II (PSII). En seis individuos por especie y tratamiento seleccionados aleatoriamente (2 individuos/tratamiento y parcela), se midió fotosíntesis ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y conductancia estomática ( $G_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2}$

s<sup>-1</sup>), entre las 8:00 y 10:00 horas del día, en los meses de mayo, julio y noviembre del 2011, y junio del 2012. Para ello se utilizó un analizador de gases infrarrojo (IRGA, LiCor 6400 XT, Inc., Lincoln, NE, USA). Las condiciones en el interior de la cámara del IRGA fueron similares para todos los tratamientos (flujo de aire de 380  $\mu\text{mol s}^{-1}$ , concentración de CO<sub>2</sub> de 390 ppm, temperatura 25°C), excepto en la Densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos (*PPFD*), la cual se ajustó a las condiciones de cada momento. La eficiencia en el uso del agua se calculó como la relación *A/Gs* (*IWUE*,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mol H}_2\text{O}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

La eficiencia máxima del fotosistema II (PSII) se midió al alba (*Fv/Fm pa*) y al mediodía (*Fv/Fm md*) en los mismos individuos y en las mismas fechas de medición de las variables de intercambio de gases (mayo, julio, agosto y noviembre del 2011 y junio del 2012). Previo a la medida de *Fv/Fm* se colocó una pinza en las hojas (tiempo mínimo de 30 minutos) con el fin de promover la relajación del PSII en condiciones de oscuridad. La medición se realizó utilizando un fluorímetro portátil de pulso de amplitud modulada (PAM 2100, Heinz Walz Gm BHEffeltrich, Germany).

### **2.7.5 Determinación de respuestas fisiológicas en función de la proximidad de las plantas a los pinos.**

La distancia a los pinos de las plantas introducidas se determinó para todas las plantas a diferentes densidades en cada sitio. Las plantas introducidas se clasificaron de acuerdo con la distancia del pino más cercano en tres clases diferentes: clase de distancia 1 (0 - 1,5 m), clase de distancia 2 (1,5 - 3 m) y clase de distancia 3 (> 3 m). En verano del 2012, se calculó la RGR de la altura y el diámetro del tallo de las plantas incluidas en cada clase, se estimó el SLA, calculado como área/peso de la hoja, potencial hídrico, eficiencia cuántica del PSII y SPAD, en las plantas en cada clase de distancia.

### **2.7.6 Análisis estadístico**

El experimento corresponde a un diseño factorial: tres densidades (AD, MD y BD) y seis especies como factores fijos. Los datos del suelo, de humedad, transcolación y radiación fueron analizados por medio de un Análisis de Varianza de una o dos vías o medidas repetidas en el tiempo. La supervivencia de las plantas se analizó por medio de la prueba Kaplan-Meier. Los datos expresados como porcentaje se transformaron por el arco seno de la raíz cuadrada. Para la relación humedad del suelo: capacidad de campo (SM: FC) en el rango de 0-20 cm, F supuso la esfericidad como los efectos dentro de los sujetos prueba. Valores máximos de temperatura del aire, humedad relativa y VPD en verano

(julio-agosto) fueron analizados por un método no paramétrico (prueba de Kruskal-Wallis). El crecimiento de las plantas se analizó como tasa de crecimiento relativo (RGR) en altura y diámetro por medio de un Análisis de Varianza de una o dos vías. Las diferencias entre los valores medios de cada tratamiento se compararon *a posteriori* mediante la prueba de Tukey. Se comprobó que las variables cumplieran con los requerimientos del Análisis de Varianza de normalidad y homocedasticidad de los residuales. Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el paquete estadístico *STATISTICA 12* (StatSoft Inc., 2012).

### **3. Resultados**

### **3.1 Reforestation with resprouter species to increase diversity and resilience in Mediterranean pine forests**

Granados M. E., Vilagrosa A., Chirino E., Vallejo V.R.

Este capítulo reproduce íntegramente el texto del manuscrito publicado en la revista *Forest Ecology and Management* (2016) 362, 231-240

## Resumen

En condiciones mediterráneas, la sequía y el fuego son disturbios prevalentes que juegan un papel fundamental en la distribución, organización y evolución de los ecosistemas. Programas de reforestación se llevaron a cabo en áreas degradadas mediante la plantación de pinos. En la actualidad, la regeneración espontánea de otras especies y la diversidad es escasa. La introducción de especies rebrotadoras leñosas en bosques de pino aumentaría la diversidad de especies y la capacidad de recuperación de los ecosistemas para hacer frente a diferentes tipos de perturbaciones, como los incendios forestales. En este estudio, investigamos la supervivencia, el crecimiento y las respuestas funcionales de seis especies de árboles y arbustos mediterráneos que crecen en plantaciones forestales de pinos. Los experimentos se realizaron en un clima mesomediterráneo seco. Las plántulas de una amplia variedad de árboles de sucesión temprana y tardía y especies arbustivas se extrajeron en diferentes densidades de pino, baja, media y alta, que correspondieron a 22, 48 y 62% de la luz solar máxima recibida, respectivamente. El curso temporal de la supervivencia y el crecimiento (altura y diámetro basal) se analizaron durante 3 años después de la plantación. La supervivencia fue superior al 78%, aunque se encontraron diferencias entre especies y densidades de pino. El crecimiento de las plántulas también reflejó diferentes interacciones entre las plántulas introducidas y la densidad de los pinos. La eficiencia en el uso del agua de las especies basadas en determinaciones isotópicas ( $\delta^{13}C$  y  $\delta^{18}O$ ) difirió entre densidades y especies según los grupos funcionales. Estos resultados tienen implicaciones relevantes para la gestión y restauración de los bosques de pino mediterráneos propensos a los incendios.

## Palabras clave:

Manejo del ecosistema, supervivencia de plántulas, plantaciones de pino, sequía, sombra, *Pinus halepensis*.



# Reforestation with resprouter species to increase diversity and resilience in Mediterranean pine forests

Granados M. E., Vilagrosa A., Chirino E., Vallejo V.R.

## **Abstract**

Under Mediterranean conditions, drought and fire are prevalent disturbances that play a fundamental role in the distribution, organization and evolution of ecosystems. Reforestation programs were carried out in degraded areas by planting pines. Presently, the spontaneous regeneration of other species is scarce and species diversity is poor. Introducing woody resprouter species under pine forests would increase species diversity and ecosystem resilience to cope with different types of disturbances, such as wildfires. In this study, we investigated the survival, growth and functional responses of six Mediterranean trees and shrub resprouter species planted under pine forests. Experiments were done in a dry Mesomediterranean climate. Seedlings from a wide array of early to late successional trees and shrub species were outplanted in different pine densities, low, medium and high, which corresponded to 22, 48 and 62% of the maximum sunlight received, respectively. The time course of survival and growth (height and basal diameter) were analyzed for 3 years after outplanting. Survival was higher than 78%, although differences between species and pine densities were found. Seedling growth also reflected different interactions among introduced seedlings and density of pines. Water use efficiency of species based on isotopic determinations ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ ) differed between densities and species according to functional groups. These results have relevant implications for the management and restoration of fire-prone Mediterranean pine forests.

## **Key words:**

ecosystem management, seedling survival, pine plantations, drought, shade, *Pinus halepensis*,

## **3.1.1 Introduction**

Mediterranean basin ecosystems have undergone long continuous environmental degradation because of ancestral land use practices, dependence on local socio-economic resources, natural fire regimes or intentional use of fire (Keeley *et al.* 2012). All these actions have had a strong impact on not only ecosystem dynamics, but also on landscape structure and functionality. Consequently, frequency of wildfires has

increased as a result of all of these perturbations (Pausas *et al.* 2004a). Indeed risk of wildfires makes affected areas more susceptible to new fires (Santana *et al.* 2012), and post-fire changes in soils produce varying responses in the water, vegetation, and faunal components of ecosystems because of their complex interdependencies. Climate predictions in the Mediterranean basin indicate increasing air temperature and less summer rainfall, which suggests increased water deficit in ecosystems in the future (IPCC 2012). These conditions may promote more water stress conditions for established vegetation, including new seedlings, and the risk of new wildfires, which would affect the structure and composition of plant communities, and would have severe consequences throughout ecosystems (Pausas & Paula 2012).

To avoid land degradation, prevent desertification and promote ecosystem recovery, restoration actions in ecosystems affected by wildfires and degradation processes have been proposed (Clewel & Aronson 2007; Aronson *et al.* 2007). During the second half of the 20<sup>th</sup> century, many large reforestation projects were conducted in the Mediterranean region. Several reforestation programs were carried out in degraded areas in which different pine species were planted (Pausas *et al.* 2004b). The aim of these programs was to increase forest productivity as a way to control forest hydrological processes (Esteve *et al.* 1990) and to restore vegetation cover (Ortuño 1990). Pines frequently present high survival rates, which allow relatively quick revegetation success. Nevertheless, extensive pine plantations reduce species richness and plant diversity in the understory (Chirino *et al.* 2006; Maestre & Cortina 2004), and can also promote large wildfires in the present-day (Vallejo *et al.* 2012b). Currently, new restoration goals emerge, and it is necessary to improve the diversity, resistance, and especially resilience, of old pine forests by introducing key resprouter species (Vallejo *et al.* 2012 a,b). Shrubs and trees resprouter species increase ecosystem resilience by the rapid recovery of aboveground parts after fires, which quickly protect soil from erosion (Pausas *et al.* 2004; Vallejo *et al.* 2012a). Therefore, conversion of pine forests at a high fire risk and with lower resilience into hardwood forest and broadleaved communities dominated by fire-resilience resprouter species would improve ecosystem functionality and resilience against degradation processes.

Restoration of Mediterranean ecosystems would require addressing ways of overcoming water stress and avoiding or mitigating the impact of disturbances on introduced species. Natural or reintroduced seedlings are extremely sensitive to drought until root systems have well developed. The biophysical (biotic and abiotic) characteristics of the site should be considered to know what species could be successfully established in degraded

areas. In addition, the use of native species frequently requires the corresponding research into their autoecology and ecophysiology to specific environmental factors (Vilagrosa *et al.*, 2003; Chirino *et al.* 2011). In Mediterranean ecosystems, light and water availability are two key factors (Valladares *et al.* 2005), and both vary in intensity and can interact simultaneously to affect the establishment, growth and survival of plants under the canopy (Tracol *et al.* 2011). Plant responses are limited by such gradients, which can produce compensatory mechanisms that act on functional plant characteristics (Valladares & Niinemets 2008). Therefore, plants should allocate more biomass to roots than shoots, and the growth rate should lower as low radiation tolerance or low water availability increases. Under those conditions, plants must maximize light capture to maintain a positive carbon balance through photosynthesis to prevent them from closing stomata to conserve water (Smith & Huston 1989). Then we should expect higher plant water stress with increasing light availability. The canopy of pines or other species can also promote facilitation processes to improve microclimatic conditions and nutrient availability, and to favor establishment of seedlings (Maestre *et al.* 2004) In fact shade usually enhances plant growth and survival in a variety of ecosystems where plants are exposed to water stress, but this is not always the rule in water-limited ecosystems (Aranda *et al.* 2005; Rodriguez-Calcerrada *et al.* 2008; Pérez-Devesa *et al.*, 2008).

The aim of this study was to analyze the influence of different pine forests (*Pinus halepensis* Mill.) densities over the survival and plant performance as shoot growth and water use (i.e. isotopic composition) of six Mediterranean resprouter species that had been introduced under the canopy. We also analyzed the environmental conditions generated for each pine density in terms of rainfall, soil water content and light radiation as limiting factors to seedling establishment and performance. All six introduced species covered a wide range of functional types, from sclerophyllous shrubs to deciduous trees, which can inhabit in the Mediterranean range climate. Seedlings under pine canopy can have two potential limitations for their establishment, the lack of enough sunlight due to pine canopy and competence for water due to density of pine roots absorbing water. The underlying hypothesis of this study was that a medium pine density would provide the best conditions for new species to settle and develop given a facilitative effect by medium canopy shadow, which would favor moderate competition for soil water at the same time. However, some interactions in relation to the functional characteristics of the introduced species are expected; accordingly drought-tolerant shrubs adapted to open sites would perform better in low-density plots, while deciduous trees would better adapt to high pine densities.

### 3.1.2 Methods

#### Experimental site

The study site is located at La Hude (39° 09' N, 1° 23' W; Valencia, SE Spain) in a typical area with a dry Mesomediterranean climate. Altitudes range around 600 m a.s.l. with relatively flat slopes of between 0° and 5°. Average annual rainfall is 480 mm, with maximum precipitation in autumn and spring. Average potential evapotranspiration ( $E_{to}$ ) is 749 mm and actual evapotranspiration ( $E_{ta}$ ) is 453 mm. Average annual temperature is 14°C, with maximum values in summer and minimum values in winter (Perez-Cueva 1994).

Soils are shallow (depth < 40 cm), and texture is loamy with calcareous bedrock and stoniness of 27-49%. Dominant vegetation corresponds to the old Aleppo pine reforestations planted 40-50 years ago. This area has been managed by the Regional Forest Service (Generalitat Valenciana). It consists in different levels of clearcutting pine trees, which have promoted the establishment of sites with different pine densities according to the varying degrees of clearing. Understory vegetation is composed of grasses, such as *Brachypodium retusum* Pers. Beauv., and *Lagunus ovatus* L., dwarf scrubs such as *Thymus vulgaris* L., and sclerophyllous shrubs such as *Rosamarinus officinales* L., *Juniperus oxycedrus* L., *Ulex parviflorus* Pourr. Some areas present disperse adult trees of *Quercus ilex* L. with young individuals in surrounding areas.

#### Experimental design

Three experimental treatments based on three stand density levels were defined: high density (HD; 800-1400 tree/ha), medium density (MD; 300-600 tree/ha) and low density (LD; 100-250 tree/ha) which corresponded to an estimated canopy closure of 22, 48 and 62% of maximum sunlight, respectively. These experimental treatments were established in nine experimental plots of 900 m<sup>2</sup> (i.e. 30x30 meters), one plot per treatment. These plots were installed in three different sites, namely: El Aljibe (39° 09' N; 1° 18' W), El Lobo (39° 12'N, 1° 23' W) and El Mojón (39° 12' N, 1° 22' W). Each site with one plot of every density.

In each plot, a total of fifteen individuals of each of six resprouter species with contrasted morpho-functional characteristics and different growth and life forms (Table 3.1.1) were outplanted in February 2011. One year-old seedlings of *Arbutus unedo* L., *Rhamnus alaternus* L., *Quercus ilex* L., *Quercus faginea* Lam., *Fraxinus ornus* L., and *Acer granatense* Boiss. were outplanted in each experimental plot. Plantation holes of 40x40x40 cm were dug mechanically by a retro-spider.

Table 3.1.1. Growth form and Life form of selected species

Species	Growth form	Life form
<i>Arbutus unedo</i> (Au)	Shrub	Evergreen
<i>Rhamnus alaternus</i> (Ra)	Shrub	Evergreen
<i>Quercus ilex</i> (Qi)	Tree	Evergreen
<i>Quercus fagínea</i> (Qf)	Tree	semi-Deciduous
<i>Fraxinus ornus</i> (Fo)	Tree	Deciduous
<i>Acer granatense</i> (Ag)	Tree	Deciduous

### Stand density characterization

Stand density characterization was carried out in each plot. Vegetation cover was characterized by three 10-meter transects per plot during spring 2014. Plant cover was calculated on a projection area basis, with species by layers (tree, shrub and grass) to determine the average vegetation cover within each experimental treatment. Simultaneously, pine density (tree/ha) and diameter at breast height (DBH, cm) were measured. Basal area (m<sup>2</sup>/ha) was calculated from DBH. Nine hemispherical photographs per plot were used to establish the GSF (global site factor) with the HemiView software (Delta-T Devices Ltd. UK).

### Monitoring environmental variables

Daily rainfall (mm) and daily air temperature (°C) were recorded at the weather station of La Hunde nursery (Monte U.P. 154 “La Hunde” T.M. Ayora Generalitat Valenciana) throughout the monitoring period. For the purpose of assessing the local effect of pine density on temperature (T, °C) and relative humidity (H, %) under pine canopy, a HOBO® sensor with a datalogger (U23 Pro v2, Onset Computer Corporation, Inc. Southern MA, USA) was installed in each plot. Each datalogger registered both variables (T and H) in 10-minute intervals which were averaged hourly. Vapor pressure deficit (VPD, kPa) was calculated from the T and H data.

To know the water input to the forest stand and interception losses due to pine density, accumulated throughfall (mm) was measured monthly. Three rain gauges per plot, placed on an imaginary diagonal line in each experimental plot, were used to measure throughfall. A total of nine rain gauges per treatment (pine density) were used. Soil moisture (m<sup>3</sup>. m<sup>-3</sup>) was monitored with a Time Domain Reflectometer (TDR100, Campbell Scientific, Inc. Logan, Utah, USA. Metallic TDR cable Tester, Topp equation) in seven plantation holes randomly chosen in each experimental plot at a depth of

between 0 and 20 cm. Simultaneously, soil moisture at a depth of 30-40 cm on three randomly sampled plantation holes in each experimental plot *t* was monitored with a volumetric water content sensor HS-10 (ProCheck, Decagon Devices, Inc., Pullman, USA). Volumetric water content was measured monthly at both soil depths between March 2011 and October 2013. In order to express soil moisture as a percentage of the soil water store capacity, the soil moisture to soil field capacity ratio (SM:FC ratio) was calculated at both sampling depths.

Maximum soil field capacity was determined in the field according to Walker (1989). A 1 m<sup>2</sup> plot of soil was irrigated until the soil profile was saturated at a depth of 40 cm (the maximum soil depth). Then the plot was covered to prevent evaporation. Following the gravimetric method, soil moisture was measured every 24 h until changes became constant, at which point soil moisture content was estimated as field capacity.

Photosynthetic Photon Flux Density (PPFD  $\mu\text{mol. m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) was measured by a Ceptometer (Sunfleck Ceptometer, Decagon devices, USA) in each individual plot. On completely cloudless days, four to five PPFD measures in each plot were taken every 3 h from 6:00h to 15:00-18:00h (solar time) in March, May, July, September and November 2011 and 2012 in each experimental treatment (HD, MD, LD) and compared to the full sunlight area.

### **Survival and growth**

In order to assess seedling performance according to different pine canopy densities, the seedling survival and growth (stem height, basal diameter and shoot volume) of all the introduced plants were monitored in the springs and autumns of 2011, 2012 and 2013 in each plot. Shoot volume was calculated from cone volume formulae ( $V = 1/3\pi \cdot r^2 \cdot h$ ; where *r* is shoot radius and *h* is shoot height). For recorder growth per year, the relative growth rate (RGR) of stem height and basal diameter was calculated as  $(\ln X_i - \ln X_0) / (t_i - t_0)$ , where  $X_i$  is the performance indicator (height or diameter) on the last measurement date  $t_i$ , and  $X_0$  is the same indicator on the first measurement date  $t_0$  (after outplanting). A total of 810 seedlings were followed for survival and growth.

### **Isotopic responses of seedlings**

In each plot, two seedlings of each species were chosen for isotopic determinations. A total of six individuals per species and pine density were analyzed which produced a total of 36 samples for pine density factor and 18 samples per species for species factor. Small stems of each plant were sampled in July 2012. Samples were dried in an oven

(70°C for 48 h) and ground to a fine powder in a dry grinder. Samples corresponded to new parts of small stems which completely grew in the field and were no older than 2 years. Thus, we avoided isotopic signal due to nursery growth culture. Samples were analyzed for  $\delta^{13}\text{C}$  (‰ w.r.t. V-PDB) and  $\delta^{18}\text{O}$  (‰ w.r.t. V-SMOW) at the Berry Biodiversity Center, University of Wyoming SIF, USA. The simultaneous measurement of  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  in plant organic matter can help separate the independent effects of carbon fixation and stomatal conductance on  $\delta^{13}\text{C}$ , as  $\delta^{18}\text{O}$  shares dependence on stomatal conductance with  $\delta^{13}\text{C}$  but is not dependent on Rubisco activity determined by photosynthetic limitations as light (Scheidegger *et al.*, 2000; Querejeta *et al.*, 2008).

### **Statistical analysis**

The experimental design corresponded to a factorial design with three factors: (1) site factor (with three levels: the El Aljibe, El Lobo and El Mojón sites); (2) experimental treatments factor (high pine density: HD, medium: MD and low: LD); (3) species factor (six species). The site factor was considered a random factor, and experimental treatments and species were considered fixed factors. Each species were replicated fifteen times in each plot. The accumulated throughfall and soil moisture to field capacity ratio and climatic variables (air temperature, relative humidity, VPD) were compared by General Linear Model repeated measures (GLM-ANOVAR) where G-G' value indicates the results of within-subjects effects test (differences of treatments over time), and P value indicates the results of the between-subjects effects test (Differences between pine density treatments). Tukey's HSD *post hoc* test was applied to test differences among groups. For the soil moisture:field capacity (SM:FC) ratio within the 0-20 cm range, *F* assumed sphericity as the within-subjects effects test. Maximum values of air temperature, relative humidity and VPD in summer (July-August) were analyzed by a non-parametric method (Kruskal-Wallis test). Data on seedling height and diameter and RGR in height and basal diameter were compared by an analysis of variance (one-way ANOVA; Tukey's HSD *post hoc* test). The seedling survival data were analyzed by the Kaplan-Meier test (Log Rank-Mantel-Cox). Specifically, the survival data expressed as a percentage were transformed by arcsine square root. Data were transformed whenever necessary to accomplish the ANOVA assumptions. Statistical analyses were carried out with the SPSS® statistical software, v. 18.0 (SPSS Inc. Chicago, Illinois, USA).

### 3.1.3 Results

#### Stand density and effect on environmental variables

High-density plots (HD) showed greater vegetation cover, tree cover, basal area and stand density (Table 3.1.2). The plant cover of dwarf shrubs and grasses predominated significantly in LD and MD, where pines had less cover (Table 3.1.2). No significant differences were observed in shrub cover among the pine densities given the wide variability among plots. During the monitoring period (from March 2011 to December 2013), accumulated rainfall was 1376 mm (Figure 3.1.1). During this period, the accumulated throughfall in the HD cover represented 62% of accumulated rainfall, while MD and LD represented 76% and 72%, respectively. The GLM analysis indicated that accumulated throughfall varied over time ( $F=4.068$ ;  $G-G'=0.016$ ) and among pine densities. The plant cover in LD plots showed a significantly greater throughfall than in the HD plots ( $F=5.298$ ,  $p=0.012$ ; Figure 3.1.1). The MD plots gave an intermediate response, and no significant differences were observed with the HD plots.

Table 3.1.2. Characteristics of the experimental treatments. Mean  $\pm$ SE of three plots by each density. Abbreviations: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots. GSF, global site factor; DBH, diameter at breast height.

	Pine density treatments			F-value
	LD	MD	HD	
Stand density (trees/ha)	165 $\pm$ 25b	344 $\pm$ 19b	1067 $\pm$ 141a	32.687 ***
Basal area (m <sup>2</sup> /ha)	7.52 $\pm$ 0.1b	38 $\pm$ 1.58b	31.66 $\pm$ 1.25a	96.118 ***
DBH pines (cm)	21.42 $\pm$ 1	5.18 $\pm$ 2.16	0.34 $\pm$ 0.16	1.216 ns
GSF (%)	0.76 $\pm$ 0.03a	0.57 $\pm$ 0.06b	0.40 $\pm$ 0.01c	22.136 **
Total vegetation cover	62.62 $\pm$ 8.44c	74.57 $\pm$ 1.13ab	86.15 $\pm$ 2.22a	5.360 *
Trees cover (%)	25.53 $\pm$ 4.69c	54.02 $\pm$ 8.13b	86.72 $\pm$ 1.75a	30.865 ***
Shrubs cover (%)	14.23 $\pm$ 7.55	33.84 $\pm$ 18.01	5.46 $\pm$ 2.04	1.645 ns
Dwarf shrubs cover (%)	20.51 $\pm$ 4.58a	11.77 $\pm$ 5.08ab	2.10 $\pm$ 1.35c	5.232 *
Grasses cover (%)	21.42 $\pm$ 9.90a	5.18 $\pm$ 2.16a	0.34 $\pm$ 0.16c	21.279 **



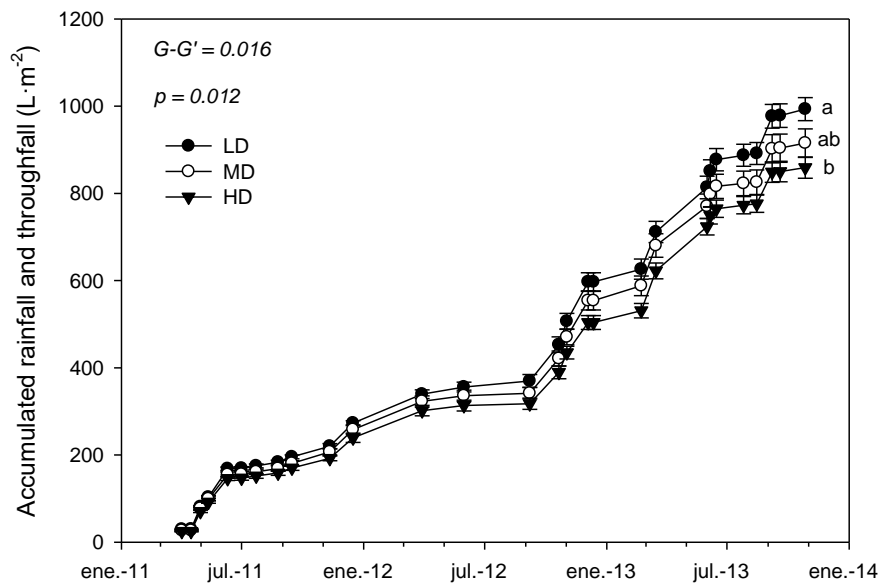


Figure 3.1.1. Comparison between the accumulated throughfall in the different pine density treatments. Values are mean±SE. Different letters indicate differences among pine densities at  $p < 0.05$  according to analysis of general linear model repeated measures (ANOVAR) where G-G' value indicates the results of within-subjects effects test (differences of treatments over time). P value indicates the results of the between-subjects effects test (Differences between pine density treatments). Abbreviations are: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots.

The analysis of the temporal variation of soil water content to soil field capacity ratio (SM:FC) at the 0-20 cm soil depth showed variation in soil water availability according to season of the year, with high water availability during winter, spring and fall. However, no significant differences between pine density were observed in the range 0-20 cm ( $F=1.502$ ;  $p=0.231$ ; Figure 3.1.2, figure above). The SM:FC ratio (0-20 cm) in the summers of 2011 and 2012 lowered to around 20% of field capacity. On the contrary, SM:FC ratio at the 30-40 cm depth obtained significant differences with time ( $F=1.505$ ;  $p=0.017$ ) and among the pine density treatments ( $F=0.017$ ;  $p < 0.001$ ; Figure 3.1.2).

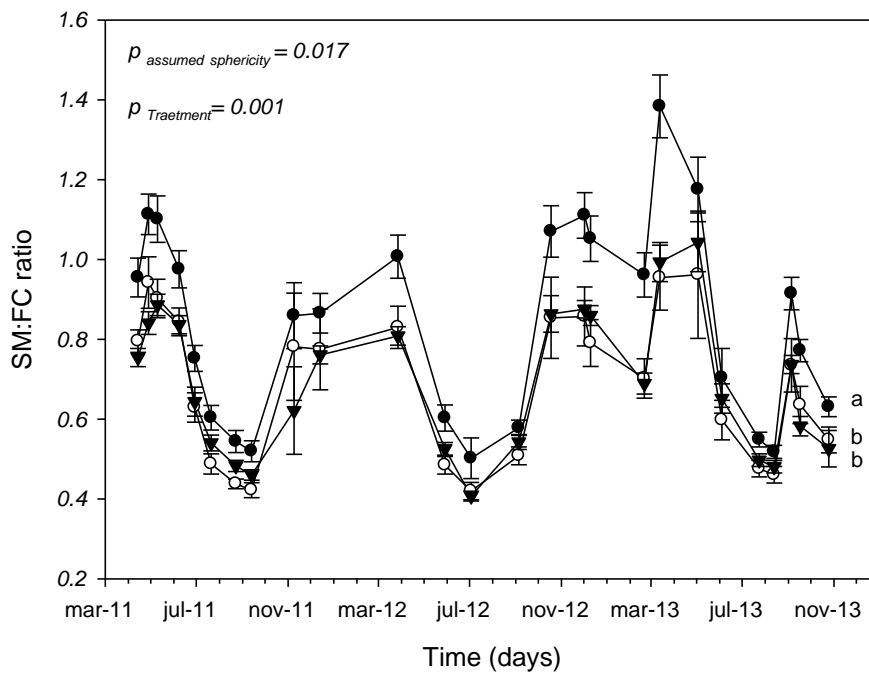
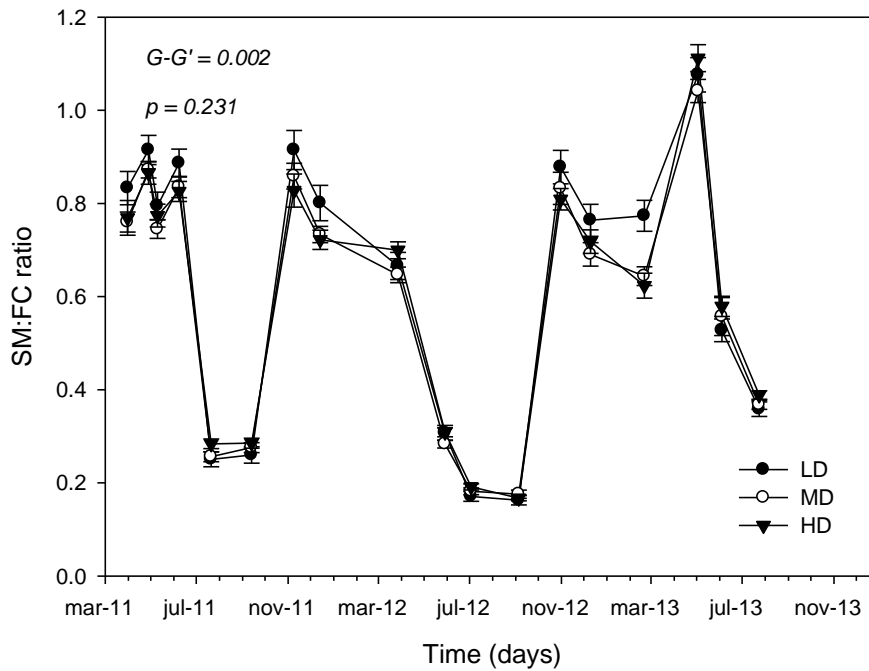


Figure 3.1.2. Ratio of soil moisture to soil field capacity (SM:FC ratio) from 0-20 cm (above) and 30-40 cm (below) of soil depth in each experimental treatment. GLM repeated measures results (Mean $\pm$ SE.). Days with SM/FC ratio > 1, correspond to days after rain events with completely saturated soils. Different letters indicate differences between treatments at  $p < 0.05$ . Abbreviations: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots.

The *post hoc* analysis indicated that the LD treatment maintained greater soil moisture compared with field capacity than MD and HD. The statistical analysis did not show any

significant differences between MD and HD. Differences between treatments were established mainly during wet periods, winter 2012 and 2013, when the SWC:FC ratio was clearly higher in the LD plots. During summer periods, all three treatments gave similar values, between 40-50% of field capacity, which corresponded to soil moisture values of around 9-12% v/v (data not shown). Global site factor analysis (GSF) showed significant differences between pine densities in the radiation incoming to ground level (Table 3.1.2). In the same way, PPFD was also affected by pine density all year long (Figure 3.1.3,  $F=463.2$ ,  $P<0.001$ ). The analysis of PPFD at midday indicated that the HD treatment brought about an 80% decrease compared to the full sunlight values, while the MD and LD treatments revealed a drop of 56% and 25%, respectively. Differences were more marked in summer than in winter.

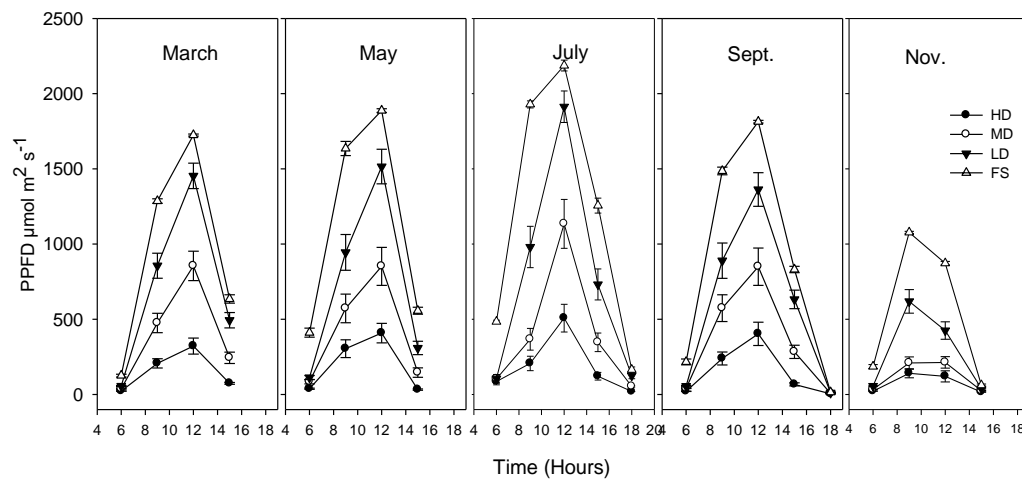


Figure 3.1.3. Photosynthetic Photon Flux Density (PPFD) during 1 day for different months along 1 year. Mean $\pm$ SE of four to five determinations within each plot and three plots for each density. Abbreviations: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots; FS, full sunlight.

Pine density did not significantly affect the global annual average of the environmental conditions under the pine canopy (temperature, VPD;  $P>0.05$ ; Table 3.1.3). Only during summer months it was possible to establish differences among treatments in maximum values. Summer daily maximum temperature ranged from  $34.0.3\pm 0.2$  in HD plots to  $36.0\pm 0.1^{\circ}\text{C}$  in LD plots, with significant differences among plots (HD>MD,LD;  $P<0.05$  pots-hoc Tukey test). Summer maximum vapour pressure deficit (VPD) followed a similar trend (HD>MD, LD; Table 3.1.3).

Table 3.1.3. Effect of pine density on microclimatic variables (temperature and VPD). Values are means  $\pm$  standard error of several probes for microclimatic data and several sampling points for understory data. For each pine density, different letters indicate differences between treatments detected by Tukey post-hoc tests after linear mixed models. <sup>1</sup>Summer values are calculated using July-August data.

	HD	MD	LD
Averaged maximum values of temperatures (°C)	20.7 $\pm$ 0.5	21.8 $\pm$ 0.5	22.0 $\pm$ 0.5
Summer <sup>1</sup> daily maximum temperature (°C)	34.0 $\pm$ 0.2a	35.8 $\pm$ 0.5b	36.0 $\pm$ 0.1b
Averaged maximum values of vapor pressure deficit (kPa)	1.94 $\pm$ 0.09	2.15 $\pm$ 0.09	2.20 $\pm$ 0.10
Summer <sup>1</sup> daily maximum vapor pressure deficit (kPa)	4.34 $\pm$ 0.06a	4.84 $\pm$ 0.16b	4.93 $\pm$ 0.05b

### Effect of pine density and species on seedling survival and growth

The mean seedling survival throughout the experiment was around 78%. Pine density produced differences in seedling survival (Kaplar-Meier Log-Rank =13.2;  $p < 0.001$ ; Figure 3.1.4). After 3 years in the field, the highest seedling survival was observed for the HD treatment (85.0 $\pm$ 2.1%) compared to MD (75.2 $\pm$ 2.5%; Log-Rank =9.882;  $p = 0.002$ ) and LD (73.7 $\pm$ 2.5%; Log-Rank =11.475;  $p < 0.001$ ).

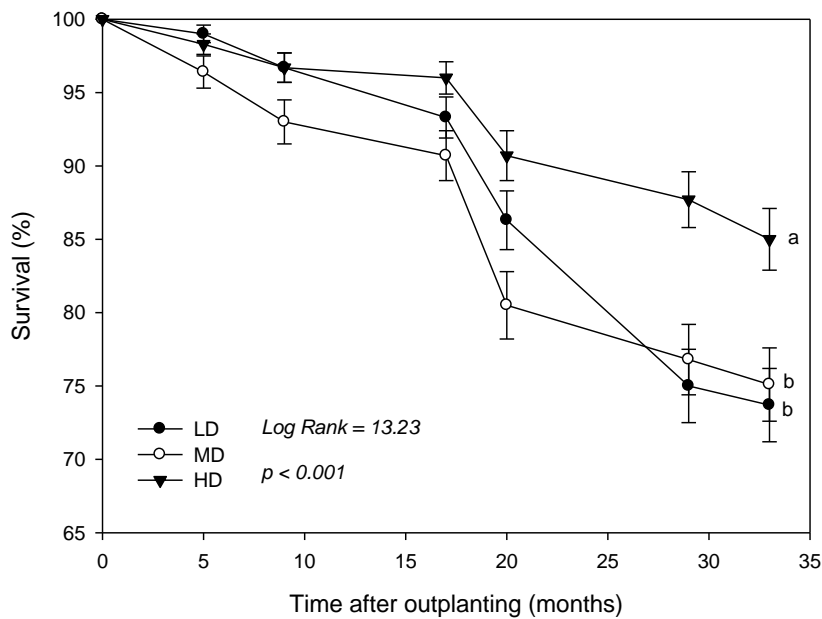


Figure 3.1.4. Seedling survival per pine density (experimental treatments). Kaplan-Meier test results (Mean±SE.; Log Rank analysis; period: March 2011 to November 2013). Abbreviations: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots.

LD and MD not showed differences (Log-Rank =0.020;  $p=0.887$ ). Intraspecific comparisons showed ranges of variation in survival of between 52% and 100% (Table 3.1.4). According to their survival, two groups of species were differentiated. The first maintained high survival values during the whole period: *Q. iex* ( $87.4\pm 2.7\%$ ), *A. unedo* ( $87.1\pm 2.7\%$ ) and *R. alaternus* ( $87.0\pm 2.7\%$ ). These species showed higher survival rates in HD than in LD and MD. The second group, *F. ornus* (83.5%), *Q. fagínea* ( $61.2\pm 4.0\%$ ) and *A. granatense* ( $60.7\pm 4.1\%$ ), obtained lower survival values, especially after the second summer. This second group's survival was not affected by the pine density treatments (Table 3.1.4).

Table 3.1.4. Seedling survival per species for each pine density after three years in the field. Kaplan-Meier test results (mean± SE; Log Rank; period: March 2011 to November 2013; significance \*  $p < 0.05$  and \*\*  $p < 0.01$ ; different letters indicate differences between treatments at  $p < 0.05$ . Abbreviations: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots.

	Survival (%) for pine density			Log Rank
	LD	MD	HD	
<i>A. unedo</i>	78.4±5.8 b	82.7±5.2 b	100,0 a	11.593 **
<i>R. alaternus</i>	76.5±5.9 b	90.2±4.2 ab	94.2±3.3 a	8.030 *
<i>Q. ilex</i>	86.3±4.8 b	77.6±6.0 b	98.0±1.9 a	10.226 **
<i>Q. faginea</i>	62.0±6.9	59.6±6.8	62.0±6.9	0.064 ns
<i>F. ornus</i>	87.5±5.0	77.4±5.7	85.7±5.0	1.669 ns
<i>A. granatense</i>	52.1±7.2	62.2±7.2	68.1±6.8	1.850 ns

Height and basal diameter differed between species and treatments after 3 years (Table 5), and can be attributed to distinct growth patterns among both species and pine densities. Shoot volume only showed significant differences among species (Table 3.1.5), with the highest values for *F. ornus* and *A. unedo*, and the lowest ones for *Q. faginea*. No differences were observed among pine densities indicating similar shoot development, independently of shoot height or basal diameter.

RGR in height was higher in the HD ( $0.081 \pm 0.004 \text{ cm year}^{-1}$ ) and the MD ( $0.072 \pm 0.005 \text{ cm year}^{-1}$ ) plots than in the LD ones ( $0.057 \pm 0.005 \text{ cm year}^{-1}$ ;  $F=6.79$ ,  $P=0.001$  for pine density), which presented the lowest values. RGR in basal diameter also showed significant differences among pine density ( $F=11.7$ ,  $P<0.001$ ), but the highest values went to the LD ( $0.082 \pm 0.004 \text{ mm year}^{-1}$ ) plots and the lowest values were for the HD plots ( $0.060 \pm 0.004 \text{ mm year}^{-1}$ ), with intermediate values for MD ( $0.079 \pm 0.004 \text{ mm year}^{-1}$ ; Table 3.1.5).

Table 3.1.5. Height, basal diameter and RGR in height and basal diameter per pine densities treatments (above) and species (below). Mean±SE. One-way ANOVA results (N=45; Tukey's HSD *post hoc* test; \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ ; values followed by the same letter are not significantly different at  $p<0.05$ ). Abbreviations: *Au* = *Arbutus unedo*, *Ra* = *Rhamnus alaternus*, *Qi* = *Quercus ilex*, *Qf* = *Quercus faginea*, *Fo* = *Fraxinus ornus* and *Ag* = *Acer granatense*). LD, low density plots; MD, medium density plots; HD, high density plots.

Pine density	Height (cm)	Basal diameter (mm)	Shoot volume (cm <sup>3</sup> )	RGR Height (year <sup>-1</sup> )	RGR Diameter (year <sup>-1</sup> )
<i>LD</i>	31.54±0.14 b	7.41±0.18 a	45.7±2.8	0.057±0.00 b	0.08±0.00 a
<i>MD</i>	34.33±1.12 ab	6.99±0.17 ab	44.9±3.7	0.072±0.00 a	0.08±0.00 a
<i>HD</i>	37.29±1.05 a	6.62±0.16 b	45.5±2.8	0.081±0.00 a	0.06±0.00 b
F-value	6.8520**	5.0593**	0.037 <sup>n.s</sup>	15.7867 ***	11.738 ***
Species					
<i>Au</i>	46.10±1.24 a	8.21±0.20 a	83.2±6.3a	0.07±0.00 bc	0.09±0.00 b
<i>Ra</i>	30.42±1.24 c	5.91±0.20 c	28.9±2.2b	0.09±0.01 ab	0.11±0.00 a
<i>Qi</i>	30.81±1.25 c	7.16±0.20 b	40.1±3.2b	0.06±0.00 c	0.06±0.00 c
<i>Qf</i>	16.25±1.49 d	4.22±0.24 d	5.3±0.5c	0.03±0.01 d	0.04±0.01 d
<i>Fo</i>	41.40±1.29 ab	8.26±0.21 a	70.6±5.3a	0.10±0.01 a	0.06±0.00 c
<i>Ag</i>	38.36±1.56 b	7.66±0.25 ab	43.5±4.8b	0.07±0.01abc	0.06±0.01 c
F-value	57.980***	47.519***	45.837***	21.465***	30.340***

### Plant water use

Seedlings were sensitive to canopy density compared with the isotopic compositions  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  found in the woody samples ( $F=4.07$ ,  $P<0.01$ ;  $F=15.9$ ,  $P<0.001$  for  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ , respectively). Low-density plots gave the highest  $\delta^{13}\text{C}$  values (Table 3.1.6), which reflects a high degree of stomatal closure. No differences were found between treatments HD and MD. The seedlings in the HD treatment obtained the highest  $\delta^{18}\text{O}$  values, while the lowest values went to LD, with statistical differences between each level of the factor (Table 3.1.6).

Table 3.1.6 Isotopic composition in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  of the 2-year-old wood samples grown in the field. Comparison between pine densities treatments (above) and between species (below). Mean $\pm$ SE. One-way ANOVA results (mean $\pm$ standard error; N=45; Tukey's HSD *post hoc* test; \*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ ; values followed by the same letter are not significantly different at  $p<0.05$ ). Abbreviations: *Au* = *Arbutus unedo*, *Ra* = *Rhamnus alaternus*, *Qi* = *Quercus ilex*, *Qf* = *Quercus faginea*, *Fo* = *Fraxinus ornus* and *Ag* = *Acer granatense*. LD, low density plots; MD, medium density plots; HD, high density plots.

Pine density	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{18}\text{O}$ (‰)
<i>LD</i>	-26.3 $\pm$ 0.2a	22.68 $\pm$ 0.3c
<i>MD</i>	-26.9 $\pm$ 0.2ab	23.87 $\pm$ 0.3b
<i>HD</i>	-27.3 $\pm$ 0.2b	25.18 $\pm$ 0.3a
F-value	4.0713**	15.984***
Species		
<i>Au</i>	-26.89 $\pm$ 0.19b	24.2 $\pm$ 0.4ab
<i>Ra</i>	-28.24 $\pm$ 0.27c	25.6 $\pm$ 0.4a
<i>Qi</i>	-27.48 $\pm$ 0.20bc	24.6 $\pm$ 0.4a
<i>Qf</i>	-26.82 $\pm$ 0.19b	22.2 $\pm$ 0.4c
<i>Fo</i>	-24.94 $\pm$ 0.32a	24.0 $\pm$ 0.4ab
<i>Ag</i>	-26.45 $\pm$ 0.30b	22.8 $\pm$ 0.4bc
F-value	18.614***	7.9765***

Isotopic variations were also observed among species. Sclerophyllous and evergreen *Q. ilex*, *A. unedo* and *R. alaternus* presented lower  $\delta^{13}\text{C}$  and higher  $\delta^{18}\text{O}$  values (Figure 3.1.5). *A. granatense* and *Q. faginea* (both deciduous) obtained the lowest  $\delta^{18}\text{O}$  values and deciduous *F. ornus* presented intermediate  $\delta^{18}\text{O}$  values, but the highest  $\delta^{13}\text{C}$  ones. When comparing the effect of pine density in each species (Figure 3.1.6), the slope of the relationships between both isotopes showed a tendency to be flat, with HD plots showed the highest values for  $\delta^{18}\text{O}$  and constant values for  $\delta^{13}\text{C}$ . On the contrary, *R. alaternus* and *F. ornus*, regression showed a steep slope, which reflects changes in  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$  among treatments.



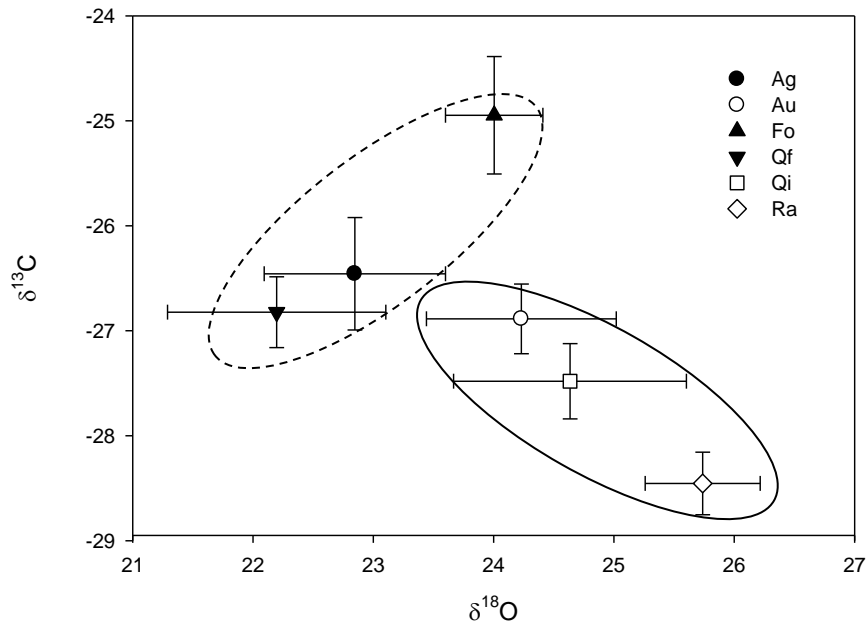


Figure 3.1.5 Average of carbon and oxygen isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ , respectively) for each species. Mean $\pm$ SE of n=6. Abbreviations: *Au* = *Arbutus unedo*, *Ra* = *Rhamnus alaternus*, *Qi* = *Quercus ilex*, *Qf* = *Quercus faginea*, *Fo* = *Fraxinus ornus* and *Ag* = *Acer granatense*.

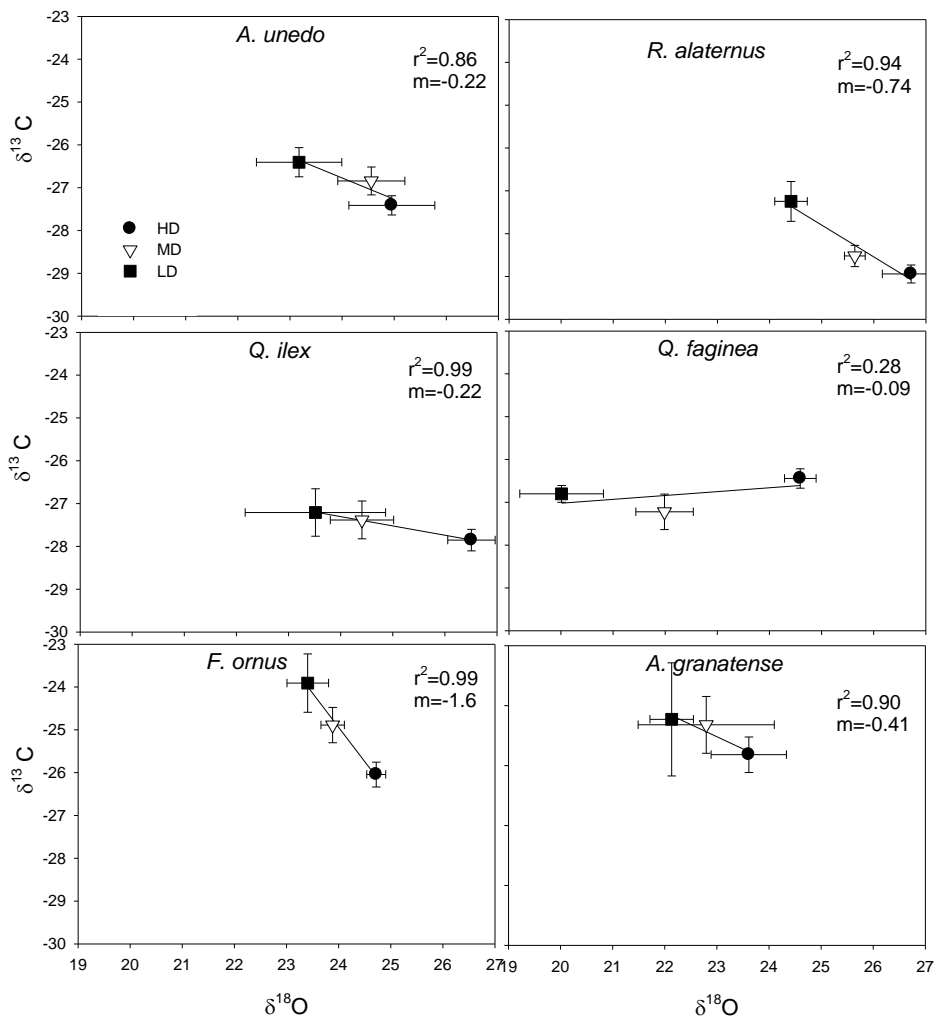


Figure 3.1. 6 Average of carbon and oxygen isotope ratios ( $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{18}\text{O}$ , respectively) for each species and pine density. Mean $\pm$ SE of  $n=6$ . Abbreviations: LD, low density plots; MD, medium density plots and HD, high density plots. Regression lines are only to illustrate tendencies.

### 3.1.4 Discussion

In Mediterranean ecosystems, introduction of forestry species into adult pine forests has two potential limitations, drought and shade, which develop complex interactions with introduced species as they affect the acclimation and survival of seedlings in these ecosystems (Valladares *et al.* 2005). Pine canopy can benefit the survival of planted seedlings by ameliorating high irradiation and desiccation conditions but at the same time, competition for water at the root level can be intense (Pérez-Devesa *et al.* 2008; Holmgren *et al.* 2011). The results of this study show that pine density modifies the abiotic conditions in the experimental plots with more or less intensity (throughfall, soil humidity, PPFD, VPD), and these factors influence all species survival and growth capacity. In fact, differences in throughfall probably affect the water inputs that seedlings

receive according to different pine densities (Figure 3.1.1). Throughfall was higher in the LD and MD plots as a result of the lesser interception of rainfall by tree canopies, which reduced net precipitation to soil. This interception was variable all along the year and, in some cases, the interception in the HD plots represented up to 25% of the rainfall received in the LD plots. Similar interception values have been reported in previous studies about pine forests with a semiarid climate (Chirino *et al.* 2001).

Soil water content was another variable that could impact the observed results. According to water availability, the seedlings in the LD plots were able to access more available water than those in the MD and HD plots, but this effect was effective only in wet months (i.e. when SM:FC >0.7). In summer, SM:FC lowered to show similar values for all three densities (Figure 3.1.2). Competition for water in summer contributed to there being no differences in dry months. In fact previous studies carried out in the same plots García-Alba (2011) have shown that the fine roots of pines and other species are located mainly within this depth range (0-40 cm), which could explain this lack of differences. Other studies have reported a similar impact on the water balance at depths of between 0-15 cm in different densities of *Pinus halepensis* forests (Bellot *et al.* 2004).

PPFD was the parameter that showed the most marked oscillations among pine densities, with reductions of almost 80% at midday in the HD plots, and with values as low as 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  in mid-summer. These values are considered insufficient for Mediterranean species, whose photosynthetic saturation is normally at PPFD levels above 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Gulias *et al.* 2003; Galmés *et al.* 2007). Under these conditions, seedlings are considered to receive less radiation than they actually need for optimal functioning, which could lead to loss of photosynthetic capability. Limited light in the HD plots may induce leaf morphology changes; e.g., increased leaf lamina size and less specific leaf mass (Tognetti *et al.* 1998). These acclimation processes have been observed in our plots (Heredia, data not published) and they have been related to better efficiency for capturing light, but could produce less resistance to drought conditions in water-limited ecosystems (Aranda *et al.* 2005; Valladares & Niinemets 2008). In spite of these factors, the seedlings at low radiation levels (HD plots) performed better in survival terms than the seedlings in those treatments that received more light (see below).

Survival was significantly higher in the HD plots compared to LD and MD. Although competition for water and light was more intense in high-density forests, as previously reported, these results indicated that the seedlings in pine forests LD and MD were subjected to higher doses of stress, especially in summer as consequence of higher

temperatures and vpd conditions in that plots. This result contrasts with not only the hypothesis put forward, that of moderate shade conditions improving survival given the moderate competition for water and some degree of shade conditions, which would improve abiotic factors, but also with other results observed in wetter Mediterranean ecosystems, like south France, where high pine density conditions gave the highest mortality rates and intermediate conditions favored seedling establishment (Gavinet *et al.* 2014; Gavinet *et al.* 2015). In fact several studies have reported that seedling survival is usually higher under canopy protection than in open areas (Callaway 2007), and the use of tree shelters or shade-cards has been employed widely in the reforestation of degraded areas as they mimic tree cover (Bergez & Dupraz 2000). In contrast, some studies have indicated that dry shade in Mediterranean ecosystems can be harmful than living in full sunlight due to functional and structural plant modifications, which make them less resistant to drought conditions (Valladares *et al.* 2005; Sánchez-Gómez *et al.* 2006).

Intraspecific survival has evidenced responses associated with two groups of species. The first was species with high survival rates (i.e. values over 85%), which corresponded to typical Mediterranean drought-resistant species like *Q. ilex*, *A. unedo* *R. alaternus* (Valladares & Sánchez-Gómez; Vilagrosa *et al.* 2010) and the deciduous species *F. ornus* with intermediate survival values. The second group, *Q. faginea* and *A. granatense*, was more sensitive to drought, had lower survival values, and were deciduous trees with malacophyllous leaves, with some degree of sclerophylly in *Q. faginea*. The fact that *F. ornus* with a deciduous and malacophyllous leaf habit could obtain intermediate survival values between both groups can be explained by some functional characteristics that relate to low gas exchange rates, high WUE and good xylem resistance to cavitation under drought conditions (Gandia 2011; Heredia, unpub. data). In addition to drought strategies, rooting habits could play a relevant role for survival. In fact, previous studies indicated that the species *Q. ilex*, *A. unedo*, and *R. alaternus* showed higher values in root length and root surface. In contrast, *Q. faginea* and *A. granatense*, showed the lowest values respectively (Erades, 2011; Chirino *et al.*, 2013). These observations would indicate an improved capacity for water absorption in the drought resistant species compared to other species, favoring a higher survival rate by an improved water acquisition.

Total height and RGR were higher in the HD and MD plots, while basal diameter was longer in LD and MD, with significantly lower values in the HD treatment. A high RGR in height for the HD and MD plots can be related to the fact that plants growing under low light conditions promote mechanisms to shoot elongation and reach enough light quantity

to maximize the carbon balance (Valladares *et al.*, 2008). In contrast, basal diameter of seedlings significantly differed among treatments (Table 3.1.4), from LD and MD (highest values) to HD (lowest ones). Increases in basal diameter have been related with greater root development, which could be crucial for water absorption under drought conditions (Chirino *et al.* 2008; Grossnickle 2012). In fact, summer maximum temperatures and vpd were higher in MD and LD plots indicating higher doses of stress at leaf level in these plots (Table 3.1.3). By taking all the above results into account for height and basal diameter growth, the MD treatment gave an intermediate response in both variables, with a proportional increase in basal diameter and plant height. These results would be reinforced by the fact that shoot volume was similar among pine densities, and consequently no higher shoot growth could be attributed to specific pine density.

In this study, soil moisture in the HD plots did not was a limiting factor for survival as it showed the same values for all three pine densities during summer periods. On the contrary, plants may have benefitted under the dense canopy: harmful high PPFD lowered, and there was some improvement in other abiotic variables, such as lower temperature and vpd gradients during dry summer periods, especially on hot days with intense desiccating winds. Although this effect was not a common rule, we recorded some specific days under intense desiccation conditions in summer, which can promote very low water potentials that cause damage to the water transport system (i.e. cavitation of vessels on the xylem pathway). In fact the water potentials recorded during the first summer period ranged between -4.2 and -5.6 MPa, which reflects considerable stress conditions that fell within the range that causes xylem loss of conductivity (data not shown).

The isotopic results agree with the above results and reflect differences in water use by species reflecting the abiotic conditions for plants under each pine density. Isotopes also reflected different responses according to species functional characteristics (Figure 3.1.5). Deciduous species showed higher values of  $\delta^{13}\text{C}$  indicating a higher water use efficiency than evergreen species. In the same way, higher values of  $\delta^{18}\text{O}$  would indicate that evergreen species maintained globally lower values of  $G_s$  than deciduous ones. The model proposed by Scheidegger *et al.* (2000) allowed us to infer changes in stomatal conductance ( $G_s$ ) and photosynthetic capacity ( $A$ ) from different patterns of the experimental relations between  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ , which co-occurred in response to environmental changes. The correlation found between the  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  values for most of the species showed an scenario with little effect on  $\delta^{13}\text{C}$  and changes in  $\delta^{18}\text{O}$  values (Scheidegger *et al.*, 2000). This pattern indicate that  $G_s$  and  $A$  were

simultaneously affected by forest pine density and plot abiotic conditions (water availability, vpd, light conditions). Some species as *R. alaternus* and *F. ornus* presented clearly a more vertical slope as response to pine density than others (e.g. *Q. ilex* or *A. unedo*), which suggests that the former species were affected more by lack of light (decrease in  $A_{max}$ ) than for water availability (no changes in  $G_s$ , scenario type d, in Scheidegger *et al.*, 2000). The other species (as *Q. faginea*, *Q. ilex*) showed a response with no changes in  $\delta^{13}C$  which would be related with a simultaneous regulation on  $A_{max}$  and  $G_s$  as response to pine density (scenario type c, in Scheidegger *et al.*, 2000). The rest of species (*A. unedo*, *A. granatense*) showed an intermediate response.

The overall results obtained with both isotopes suggest that light was a more relevant limiting factor for plant development than water availability in the conditions studied. Isotopic discrimination for  $\delta^{18}O$  ranged from 22.7 to 25.2 ‰ for LD and HD, respectively; while variation for  $\delta^{13}C$  was lower. According to these results, and in agreement with similar studies (Holmgren *et al.* 2011; Querejeta *et al.* 2008; Moreno-Gutiérrez *et al.* 2012), protection from excess radiation can promote better photosynthetic machinery efficiency and smaller doses of stress, although this produces loss of carbon fixation during high water availability periods.

In conclusion, the results of the present study reinforces the idea that although light was a limiting factor for the normal functioning of these species under pine canopy, the effect of protection against desiccating conditions in summer months gave the best results in terms of plant performance (i.e better survival and moderate growth in terms of shoot increment, height x basal diameter). Therefore, intense shade under dry and semiarid Mediterranean conditions showed beneficial effects and promoted seedling establishment, in agreement with the studies by Gómez-Aparicio *et al.* (2005) but disagree with those obtained under more humid and northern conditions, where intense shade promoted higher mortality rates (Gavinet *et al.* 2015). These results are relevant for the management of pine forests in the Mediterranean and their conversion into more resilient communities to avoid deleterious effects of fires and drought events.

### **3.1.5 Implications for practice**

Pine density modified the abiotic conditions (throughfall, soil water content, sunlight, air temperature) for seedling establishment in the experimental plots; however, sunlight was the parameter with the most marked oscillations among pine densities along the year.

Our results showed that intense shade promoted by high density pines was beneficial for establishing seedlings of a wide array of resprouter species under dry-semiarid Mediterranean conditions, in contrast to results in other studies carried out in more humid conditions.

However, differences in pine density produced different abiotic conditions related to competence for water and facilitation by shade, affecting growth, water use and seedling survival according to their functional traits (evergreen, deciduous, shrub, or tree habit).

### **Acknowledgements**

We thank M. Heredia, C. Gandia, J. García-Alba, and the Forestry Service of Ayora for help in different project phases. This work has been carried out thanks to Projects FUME (EU FP7-Environment, GA. 243888 ), SURVIVE (CGL-2011-30531-CO2-02) and GRACCIE-NET (CTM2014-59111-REDC), funded by the Spanish Government, and the PROMETEO program (DESESTRES 2014/038), funded by the Generalitat Valenciana (Regional Valencian Government). M.E. Granados thanks the University of Michoacana (México) for her grant to conduct this study. CEAM also thanks the Geronimo Forteza grant (FPA/2014/126), funded by the Generalitat Valenciana to the SURVIVE project. CEAM is supported by the Generalitat Valenciana.

## References

- Aranda I, Castro L, Pardos M, Gil L, Pardos JA (2005) Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak (*Quercus suber* L.) seedlings. *Forest Ecology and Management* 210:117–1
- Aronson J, Milton S, Blignaut J (2007) Restoring natural capital: Science, business, and practice. Island Press, Washington D.C.
- Bellot J, Maestre FT, Chirino E, Hernández N, Urbina J (2004) Afforestation with *Pinus halepensis* reduces native shrub performance in a Mediterranean semiarid area. *Acta Oecologica*. 25:7-15
- Bergez JE, Dupraz ZC (2000) Effect on ventilation on growth of *Pinus avium* seedlings grown treeshelters. *Agricultural and Forest Meteorology* 199-214
- Callaway RM (2007) Positive interactions and interdependence in plant communities. Springer, Dordrecht. The Netherlands
- Chirino E, Sánchez JR, Bonet A, Bellot J (2001) Effects of afforestation and vegetation dynamics on soil erosion in a semi-arid environment (SE Spain). In: Villacampa Y, Brebbia CA, Usó JL (eds) *Ecosystems and Sustainable Development III*, vol. 10. WIT press, Southampton, Boston, pp. 239–248 *Advances in Ecological Sciences*
- Chirino E, Bonet A, Bellot J, Sánchez JR (2006) Effects of 30-year-old Aleppo pine plantations on runoff, soil erosion, and plant diversity in a semi-arid landscape in south eastern Spain. *Catena* 65(1):19-29
- Chirino E, Vilagrosa A, Hernandez EI, Matos A, Vallejo R (2008) Effects of a deep container on morpho-functional characteristics and root and root colonization in *Quercus suber* L. seedlings for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology and Management* 256:779–785
- Chirino E, Vilagrosa A, Cortina J, Valdecantos A, Fuentes D, Trubat R, Luis VC, Puértolas J, Bautista S, Baeza J, Peñuelas JL, Vallejo VR (2009) Ecological Restoration in Degraded Drylands: The Need to Improve the Seedling Quality and Site Conditions in the Field. Pages: 85-158 In: *Forest Management*, Steven P. Grossberg (ed) Nova Publisher
- Clewell AF, Aronson J (2007) *Ecological restoration: Principles, values, and structure of an emerging profession*, Island Press, Washington, D.C.
- Esteve MA, Ferrer D, Ramírez-Díaz L, Calvo JF, Suárez ML, Yvidal-Abarca MR (1990) Restauración de la vegetación en ecosistemas áridos y semiáridos: algunas reflexiones ecológicas. *Ecología Fuera de Serie* 1:497-510



- Galmés J, Medrano H, Flexas J (2007) Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *The New Phytologist* 175:81–93
- Gandía-Navalón C (2011) Características funcionales en relación con el uso del agua y la aclimatación a baja radiación en especies mediterráneas utilizadas en reforestaciones bajo cubierta de pinar. Thesis Master, Polytechnic University of Valencia UPV (Valencia, Spain)
- García-Alba J (2011) Competencia o facilitación interespecífica en reforestaciones bajo cubierta de pino Carrasco. Thesis Master en Gestión y Restauración del Medio Natural. University of Barcelona (España)
- Gavinet J, Vilagrosa A, Chirino E, Granados ME, Vallejo VR, Prevosto B (2015) Effect of Aleppo pine thinning on development of introduced hardwood species: a comparison between SE France and SE Spain. *Annals of Forest Science*. DOI 10.1007/s13595-015-0495-4
- Gavinet J, Vilagrosa A, Chirino E, Granados ME, Vallejo VR, Prevosto B (2014). Effect of Aleppo pine thinning on development of introduced hardwood species: a comparison between SE France and SE Spain. Page 56 In: Coll L, Climent J, Ximenis I, Bravo-Oviedo A, Mutke S. (eds.). 5th International Conference on Mediterranean Pines (Medpine5). Solsona, Spain
- Gómez-Aparicio L, Gómez JM, Zamora R, Boettinger JL (2005) Canopy vs. soil effects of shrubs facilitating tree seedlings in Mediterranean montane ecosystems. *Journal of Vegetation Science* 16:191–198
- Grossnickle SC (2012) Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forest* 43:711-738
- Gulias J, Flexas J, Mus M, Cifre J, Lefi E, Medrano H (2003) Relationship between maximum leaf photosynthesis, nitrogen content and specific leaf area in balearic endemic and non-endemic mediterranean species. *Annals of Botany* 92:215–22
- Holmgren M, Gómez-Aparicio L, Quero JL, Valladares F (2011) Non-linear effects of drought under shade: reconciling physiological and ecological models in plant communities. *Oecologia* 169:293–305
- IPCC (2012) Field CB, Barros V, Stocker TF, Qin D, Dokken DJ, Ebi KL, Mastrandrea MD, Mach KJ, Plattner GK, Allen SK, Tignor M, Midgley PM (eds) *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation. A Special Report of Working Groups I and II of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge, UK & New York, NY, USA: Cambridge University Press

- Keeley JE, Bond WJ, Bradstock RA, Pausas JG, Rundel PW (2012) *Fire in Mediterranean Ecosystems: Ecology, Evolution and Management*. Cambridge University Press
- Maestre FT, Cortina J (2004) Are *Pinus halepensis* plantations useful as a restoration tool in semiarid Mediterranean areas? *Forest Ecology and Management* 198:303-317
- Moreno-Gutiérrez C, Dawson TE, Nicolás E, Querejeta JI (2012) Isotopes reveal contrasting water use strategies among coexisting plant species in a Mediterranean ecosystem. *The New Phytologist*, 196: 489-496
- Ortuño F (1990) El plan para la repoblación forestal de España del año 1939. Análisis y comentarios. *Ecología, Fuera de Serie* 1:373-392
- Pausas JG, Ribeiro E, Vallejo VR (2004a) Post-fire regeneration variability of *Pinus halepensis* in the eastern Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management*. 203:251-259
- Pausas JG, Bladé, C, Valdecantos A, Seva JP, Fuentes D, Alloza JA, Vilagrosa A, Bautista S, Cortina J, Vallejo RV (2004b) Pines and oaks in the restoration of Mediterranean landscapes in Spain: New perspectives for an old practice - a review. *Plant Ecology* 171:209-220
- Pausas J G, Paula S (2012) Fuel shapes the fire-climate relationship: evidence from Mediterranean ecosystems. *Global Ecology and Biogeography* 21: 1074-1082.
- Pérez-Cueva A (1994) *Atlas climático de la Comunidad Valenciana*. Valencia: Generalitat Valenciana. pp. 205
- Pérez-Devesa, M, Cortina J, Vilagrosa A, Vallejo VR (2008) Shrubland management to promote *Quercus suber* L. establishment. *Forest Ecology and Management* 255:374-382
- Querejeta JI, Barberá GG, Granados A, Castillo VM (2008) Afforestation method affects the isotopic composition of planted *Pinus halepensis* in a semiarid region of Spain. *Forest Ecology and Management* 254:56-64
- Rodríguez-Calcerrada J, Pardos JA, Gil L, Aranda I (2008) Ability to avoid water stress in seedlings of two oak species is lower in a dense forest understory than in a medium canopy gap. *Forest Ecology and Management* 255:421-430
- Sánchez-Gómez D, Valladares D, Zavala MA (2006) Performance of seedlings of Mediterranean woody species under experimental gradients of irradiance and water availability: trade-offs and evidence for niche differentiation. *The New Phytologist*. 1707:795-806

- Santana VM, Baeza MJ, Maestre FT (2012) Seedling establishment along post-fire succession in Mediterranean shrublands dominated by obligate seeders. *Acta Oecologica* 39:51-60
- Scheidegger Y, Saurer M, Bahn M, Siegwolf R (2000) Linking stable oxygen and carbon isotopes with stomatal conductance and photosynthetic capacity: a conceptual model. *Oecologia*. 125:350-357
- Smith T, Huston M (1989) A theory of spatial and temporal dynamics of plant communities. *Vegetatio*. 83:49-69
- Tognetti R, Minotta G, Pinzauti S, Michelozzi M, Borghetti M (1998) Acclimation to changing light conditions of long-term shade-grown beech (*Fagus sylvatica* L.) seedlings of different geographic origins. *Trees* 12:326–333
- Tracol Y, Gutiérrez JR, Squeo FA (2011) Plant Area Index and microclimate underneath shrub species from a Chilean semiarid community. *Journal of Arid Environments* 75:1-6
- Valladares F, Dobarro I, Sánchez-Gómez D, Pearcy RW (2005) Photoinhibition and drought in Mediterranean woody saplings: scaling effects and interactions in sun and shade phenotypes. *Journal of Experimental Botany* 56:483–94
- Valladares F, Sánchez-Gómez D (2006) Ecophysiological traits associated with drought in Mediterranean tree seedlings: individual responses versus interspecific trends in eleven species. *Plant Biology* 8(5):688-697
- Valladares F, Niinemets U (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology and Evolution Systems* 39:237–257
- Vallejo VR, Allen EB, Aronson J, Pausas JG, Cortina J, Gutiérrez JR (2012a) Restoration of Mediterranean-type woodlands and shrublands. Pages: 130-144. In: van Andel J, Aronson J (eds) *Restoration Ecology: The New Frontier*. Blackwell Publishing Ltd
- Vallejo VR, Smanis A, Chirino E, Fuentes D, Valdecantos A, Vilagrosa A (2012b) Perspectives in dryland restoration: approaches for climate change adaptation. *New Forests* 43:561-579
- Vilagrosa A, Bellot J, Vallejo VR, Gil-Pelegrín E (2003) Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal of Experimental Botany* 54:2015-2024
- Vilagrosa A, Morales F, Abadía A, Bellot J, Cochard H, Gil-Pelegrin E (2010) Are symplast tolerance to intense drought conditions and xylem vulnerability to cavitation coordinated? An integrated analysis of photosynthetic, hydraulic and

leaf-level processes in two Mediterranean drought-resistant species.  
Environmental and Experimental Botany 69:233-242

Walker WR (1989) Guidelines for designing and evaluating surface irrigation system. In:  
FAO I Irrigation and Drainage Paper 45. Natural Resource Management and  
Environment Department. Food and Agriculture Organization of the United  
Nations (FAO) Rome.



### **3.2 Effect of light and soil moisture on physiological variables in six Mediterranean forest species planted under a pine forest canopy**

María Elena Granados García<sup>1</sup>; Esteban Chirino Miranda<sup>2</sup>; Cristina Gandía Navalón<sup>4</sup>; Victoriano Ramón Vallejo Calzada<sup>3,4</sup>; Alberto Vilagrosa Carmona<sup>4</sup>

Granados, G. M. E., Chirino, M. E., Gandía, N. C., Vallejo, C. V. R., & Vilagrosa, 2019. Este capítulo reproduce íntegramente el texto del manuscrito publicado en la revista: Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente, 25(3), 461-476. doi: 10.5154/r.rchscfa.2018.12.090

**Introduction:** Resprouter species, by regenerating rapidly, can maintain an optimal carbon balance and improve the resilience of ecosystems that have been disturbed or are at high risk of fire.

**Objective:** To assess the effect of light availability and soil moisture on the ecophysiological variables of six resprouter species planted under cover of *Pinus halepensis* Mill.

**Materials and methods:** *Arbutus unedo* L., *Rhamnus alaternus* L., *Quercus ilex* L., *Quercus faginea* Lam., *Fraxinus ornus* L. and *Acer granatense* Boiss. were planted in plots with three pine densities per hectare: HD = 800 to 1100, MD = 300 to 600 and LD = 100 to 250. The species were also grown in the nursery, trying to maintain the same solar radiation conditions. Photosynthesis (A), stomatal conductance (Gs), photosystem II maximum efficiency (Fv/Fm) and water use efficiency (IWUE) were measured.

**Results and discussion:** Evergreen sclerophyll species (*A. unedo*, *R. alaternus* and *Q. ilex*) showed higher photosynthetic capacity, lower photoinhibition and lower IWUE than deciduous species. In HD, plants showed lower photosynthetic capacity ( $P < 0.01$ ) and higher photoprotection ( $P < 0.001$ ). The IWUE was similar under the three pine forest densities. In the nursery, A was high under 100 % and 50 % light conditions; Gs was higher under 20 % conditions; and IWUE was high under 100 % light.

**Conclusion:** The physiological variables of the species were conditioned by shading and changes in water demand produced by tree cover.

**Keywords:** water use efficiency; photoprotection; photosynthesis; stomatal conductance; pine density.

## Resumen

**Introducción:** Las especies rebrotadoras, por la rapidez de su regeneración, pueden mantener el balance óptimo de carbono y mejorar la resiliencia de los ecosistemas perturbados o que tienen alto riesgo de incendios.

**Objetivo:** Evaluar el efecto de la disponibilidad de luz y la humedad del suelo sobre las variables ecofisiológicas de seis especies rebrotadoras plantadas bajo cubierta de *Pinus halepensis* Mill.

**Materiales y métodos:** *Arbutus unedo* L., *Rhamnus alaternus* L., *Quercus ilex* L., *Quercus faginea* Lam., *Fraxinus ornus* L. y *Acer granatense* Boiss. se plantaron en parcelas con tres densidades de pinos por hectárea: DA = 800 a 1100, DM = 300 a 600 y DB = 100 a 250. En vivero, las especies también se cultivaron tratando de mantener las mismas condiciones de radiación solar. Se midieron la fotosíntesis (A), la conductancia estomática (Gs), la eficiencia máxima del fotosistema II (Fv/Fm) y la eficiencia en el uso del agua (IWUE).

**Resultados y discusión:** Las especies esclerófilas perennifolias (*A. unedo*, *R. alaternus* y *Q. ilex*) mostraron tendencias de mayor capacidad fotosintética, menor fotoinhibición y menor IWUE que las caducifolias. En DA, las plantas mostraron menor capacidad fotosintética ( $P < 0.01$ ) y mayor fotoprotección ( $P < 0.001$ ). La IWUE fue similar bajo las tres densidades de pinar. En vivero, la A fue alta en condiciones de 100 % y 50 % de luz; Gs fue mayor en condiciones de 20 %; y la IWUE fue alta bajo 100 % de luz.

**Conclusión:** Las variables fisiológicas de las especies estuvieron condicionadas por el sombreado y cambios en la demanda hídrica producidos por la cubierta arbórea.

Palabras clave: restauración ecológica, sequía, eficiencia en el uso del agua, intercambio de gases, resiliencia.



### 3.2.1 Introducción

En la región Mediterránea, frecuentemente los ecosistemas forestales se ven afectados por grandes incendios (Naveh, 1990) y por eventos de sequía extrema (IPCC, 2014). Uno de los ecosistemas más comunes en esta región corresponde a pinares dominados principalmente por pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.). Estos pinares son muy abundantes en ambientes de clima seco y semiárido (Hernández & Romero, 2008; Quézel, 2000), siendo generalmente formaciones monoespecíficas altamente combustibles (Maestre & Cortina, 2004) y de baja resiliencia frente a fuegos recurrentes (Pausas & Vallejo, 1999). Las condiciones de disponibilidad de agua en el otoño y primavera después del fuego pueden producir cambios en estas comunidades (Martín-Sanz, *et al.*, 2017), pasando de bosque a matorral con predominancia de especies arbustivas germinadoras (Baeza *et al.*, 2007).

Factores abióticos como el contenido de agua del suelo, la temperatura y la disponibilidad de luz afectan el establecimiento y desarrollo de las plantas en los ecosistemas forestales, ya sea directamente, a través de limitaciones fisiológicas para el crecimiento y la reproducción, o indirectamente, por medio de los factores ecológicos, como la competencia por los recursos con otras especies (Jacobs *et al.*, 2015; Bolte *et al.*, 2009). Las proyecciones de cambio climático para la región Mediterránea indican un aumento de la intensidad y frecuencia de las sequías, así como un incremento de las temperaturas hacia finales de siglo (IPCC, 2014). En este sentido, la interacción entre la disponibilidad de luz y la disponibilidad de agua en el suelo, es uno de los aspectos que suscita mayor interés en los estudios sobre el establecimiento de las plantas de manera natural o artificial por plantación (Gavinet, 2015; Bolte *et al.*, 2009).

La introducción de especies nativas rebrotadoras, tanto arbustivas como arbóreas, en formaciones monoespecíficas, permitiría a largo plazo el desarrollo de masas mixtas que aumentarían la resiliencia de estos sistemas forestales frente a fuegos recurrentes (Gavinet *et al.*, 2015; Granados *et al.*, 2016). En el presente trabajo se ha estudiado, desde un punto de vista ecofisiológico y funcional, la introducción de especies nativas rebrotadoras bajo cubierta de pinar adulto compuesto por pino carrasco, en el marco de la restauración de pinares de reforestación. El objetivo de estas actuaciones fue incrementar la resiliencia de estos ecosistemas frente a perturbaciones como la sequía, fuegos recurrentes y el ataque por plagas (Granados *et al.*, 2016; García de la Serrana *et al.*, 2015; Rodríguez-Rodríguez *et al.*, 2015). Los objetivos de este estudio fueron evaluar la respuesta funcional en términos de potencial hídrico, intercambio de gases y eficiencia del fotosistema II (PSII), de un conjunto de especies introducidas bajo el dosel

de diferentes densidades de pinar de *Pinus halepensis*; y evaluar en condiciones óptimas de humedad del sustrato, la respuesta funcional de las especies bajo diferentes niveles de disponibilidad lumínica, con la finalidad de entender los procesos de limitación lumínica e hídrica que operan en el intercambio de gases en este grupo de especies.

### **3.2.2 Materiales y Métodos**

#### **Área de estudio**

La investigación se realizó en La Hunde (39° 9' N; 1° 23' O; Ayora, Valencia, SE de España) en clima Mesomediterráneo seco, a una altitud de 600 m s.n.m. y en relieve relativamente llano; siendo la precipitación media anual de 480 mm, temperatura media anual de 14°C, evapotranspiración de referencia ( $E_{10}$ ) de 749 mm y evapotranspiración actual ( $E_{ta}$ ) de 453 mm (Pérez-Cueva, 1994). Los suelos derivan de un sustrato margocalizo, poco profundos (profundidad media en torno a 40 cm), ricos en carbonatos y con un pH ligeramente básico. La vegetación dominante corresponde a antiguas repoblaciones de pino carrasco (*Pinus halepensis*) plantadas hace 50-60 años. En el área de estudio, el Servicio Forestal del Gobierno Regional (Generalitat Valenciana) realizó labores de aclareo del pinar con diferentes intensidades entre los años 2003 y 2005, lo que permitió el establecimiento de otras especies herbáceas y arbustivas en las áreas donde el aclareo fue más intenso.

#### **Diseño experimental en campo**

Se definieron tres tratamientos experimentales en función de tres niveles de densidad de la masa forestal: alta densidad (AD, 700-1100 pies ha<sup>-1</sup>), media densidad (MD, 300-700 pies ha<sup>-1</sup>) y baja densidad (BD, 100-300 pies ha<sup>-1</sup>). En cada tratamiento experimental se establecieron tres parcelas experimentales de 900 m<sup>2</sup> (30x30 m) localizadas en tres sitios: El Aljibe (39° 09' N; 1° 18' O), El Lobo (39° 12' N; 1° 23' O) y El Mojón (39° 12' N; 1° 22' O). En cada parcela se plantaron quince individuos de un año de edad de seis especies nativas rebrotadoras: *Arbutus unedo* L., *Rhamnus alaternus* L., *Quercus ilex* L. subsp. *ballota* (Desf.) Samp, *Quercus faginea* Lam. Subsp. *faginea*, *Fraxinus ornus* L. y *Acer granatense* (*Acer opalus* Mill. subsp. *granatense* (Boiss.) Font Quer & Rothm.). Estas especies presentan características morfo-funcionales contrastadas y diferente grado de tolerancia a la sombra y a la sequía (Cuadro 3.2.1). La plantación se realizó en febrero del 2011 en hoyos de plantación de 40x40x40 cm realizados con retroexcavadora. Una descripción más detallada de las condiciones edafoclimáticas de los tratamientos (precipitación, dinámica temporal del contenido de agua en el suelo y densidad del flujo de fotones fotosintéticos; etc.) se puede obtener en Gavinet *et al.*, (2015 y Granados *et al.*, 2016; Cuadro 3.2.2).

Cuadro 3.2.1. Relación de especies establecidas en las parcelas experimentales. Rasgos ecológicos distintivos de las especies

Especies (siglas)	Forma de vida	Hábitos de hoja	Tolerancia a la sequía*	Tolerancia a la sombra**
<i>Arbutus unedo</i> (Au)	Arbusto	Perennifolia	Alta	Baja
<i>Rhamnus alaternus</i> (Ra)	Arbusto	Perennifolia	Alta	Baja
<i>Quercus ilex</i> (Qi)	Árbol	Perennifolia	Media	Media
<i>Quercus faginea</i> (Qf)	Árbol	Semicaducifolia	Media	Media
<i>Fraxinus ornus</i> (Fo)	Árbol	Caducifolia	Baja	Alta
<i>Acer granatense</i> (Ag)	Árbol	Caducifolia	Baja	Alta

Nota: \* Determinada a partir de la resistencia a la cavitación del xilema, según diferentes estudios. \*\* Determinado a partir del ambiente o del ecosistema en el que habitan de forma natural (Rivas-Martínez, 1987).

Cuadro 3.2.2. Resumen características de las condiciones ambientales en las parcelas por tratamiento experimental (densidad de pinos). Medias  $\pm$  ES. Valores y resultados tomados de <sup>(1)</sup>Granados et al. (2016) y <sup>(2)</sup>Garvinet et al. (2015). Leyenda: Disponibilidad de agua en el suelo (SWC:FC ratio), densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) medida en marzo, mayo, julio, septiembre y noviembre de 2011 y 2012, temperatura del aire (T<sup>a</sup>) y déficit de presión de vapor (VPD) medidos entre marzo del 2011 y octubre del 2013. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas (P < 0.05) entre tratamientos.

	Tratamientos experimentales			Valor F
	AD	MD	BD	
Densidad de árboles <sup>(1)</sup>	1067 $\pm$ 14 <sup>a</sup>	344 $\pm$ 19 <sup>b</sup>	165 $\pm$ 25 <sup>b</sup>	32.687 <sup>***</sup>
Transcolación acumulada (L m <sup>-2</sup> ) <sup>(1)</sup>	859 $\pm$ 24 <sup>b</sup>	915 $\pm$ 33 <sup>ab</sup>	993 $\pm$ 27 <sup>a</sup>	5.298 <sup>**</sup>
Ratio SWC:FC <sup>(1)</sup>	0.53 $\pm$ 0.05 <sup>c</sup>	0.55 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	0.63 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>	0.017 <sup>***</sup>
PPFD $\mu$ mol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> ) <sup>(1)</sup>	135.4 $\pm$ 9.4 <sup>c</sup>	300.3 $\pm$ 17.4 <sup>b</sup>	547.5 $\pm$ 26.7 <sup>a</sup>	463.2 <sup>***</sup>
T <sup>a</sup> máxima diaria en verano (°C) <sup>(2)</sup>	34.0 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>	35.8 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup>	36.0 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	p=0.05*
VPD máximo diario en verano (kPa) <sup>(2)</sup>	4.34 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>	4.84 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	4.93 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	p=0.05*

### Variables fisiológicas en condiciones de campo

En campo se midieron diferentes variables relacionadas con el nivel de estrés hídrico, el intercambio de gases y la eficiencia del fotosistema II (PSII). En seis individuos por especie y tratamiento seleccionados aleatoriamente (2 individuos/tratamiento y parcela),

se midió fotosíntesis ( $A$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y conductancia estomática ( $G_s$ ,  $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), entre las 8:00 y 10:00 horas del día, en los meses de mayo, julio y noviembre del 2011, y junio del 2012. Para ello se utilizó un analizador de gases infrarrojo (IRGA, LiCor 6400 XT, Inc., Lincoln, NE, USA). Las condiciones en el interior de la cámara del IRGA fueron similares para todos los tratamientos (flujo de aire de  $380 \mu\text{mol s}^{-1}$ , concentración de  $\text{CO}_2$  de 390 ppm, temperatura  $25^\circ\text{C}$ ), excepto en la Densidad de Flujo de Fotones Fotosintéticos ( $PPFD$ ), la cual se ajustó a las condiciones de cada momento. La eficiencia en el uso del agua se calculó como la relación  $A/G_s$  ( $IWUE$ ,  $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1} / \text{mol H}_2\text{O}^{-1} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

La eficiencia máxima del fotosistema II (PSII) se midió al alba ( $F_v/F_m$   $pd$ ) y al mediodía ( $F_v/F_m$   $md$ ) en los mismos individuos y en las mismas fechas de medición de las variables de intercambio de gases (mayo, julio, agosto y noviembre del 2011 y junio del 2012). Previo a la medida de  $F_v/F_m$  se colocó una pinza en las hojas (tiempo mínimo de 30 minutos) con el fin de promover la relajación del PSII en condiciones de oscuridad. La medición se realizó utilizando un fluorímetro portátil de pulso de amplitud modulada (PAM 2100, Heinz Walz Gm BHEffeltrich, Germany). Durante el primer verano (agosto del 2011), se midió el potencial hídrico ( $\Psi_{md}$ , -MPa) al mediodía, en seis individuos por especie seleccionados al azar (2 individuos/tratamiento). La medición se realizó utilizando una cámara de presión (Soil Moisture Equipment Corp, Santa Bárbara, Ca, USA). El objetivo de esta medida fue evaluar el máximo nivel de estrés hídrico (potencial hídrico mínimo, Ackerly, 2004) que alcanzaba cada una de las especies en las condiciones más limitantes (pleno verano), en cada tratamiento.

### **Experimento en condiciones de vivero**

En condiciones controladas se realizó un experimento en el vivero de la Unidad Experimental Vegetal de la Universidad de Alicante (San Vicente del Raspeig,  $38^\circ 23' \text{ N}$ ;  $0^\circ 31' \text{ O}$ ). Se simularon las condiciones de luz solar en campo, en eras al sol y bajo umbráculo: Tratamiento control (TC), plantas en condiciones de máxima disponibilidad de luz (100% de luz solar); Media disponibilidad de luz (MDL), plantas bajo una malla de sombreo de color negro (transmisión: 50 % de la luz solar), y Escasa disponibilidad de luz (EDL), plantas bajo una doble malla de sombreo (transmisión: 20 % de luz solar). La transmisión se calculó como la ratio entre el valor de  $PPFD$  bajo la malla de sombreo y el valor de  $PPFD$  en un sitio abierto con máxima disponibilidad de luz solar. Se calculó la  $PPFD$  media ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) a partir de 8 medidas realizadas cada 2 horas sobre el dosel de los plantones con un Ceptómetro (Sunfleck ceptometer, Decagon Devices,

USA) orientando la barra de sensores hacia el sur. Las medidas se realizaron desde las 6:00 horas hasta las 16:00 horas (hora solar) en cada tratamiento. Se trasplantaron veinticuatro individuos por especie a razón de 8 individuos por especie y tratamiento a contenedores de 1.5 litros de capacidad, utilizando como sustrato una mezcla de turba rubia y fibra de coco al 50% (v/v). Cada tratamiento y especie se replicó en dos bloques independientes. Las plantas se cultivaron en condiciones de humedad óptima durante dos meses para favorecer su aclimatación. El régimen de riego de las plantas se estableció en función de la pérdida de agua. Se midió la humedad del sustrato en el contenedor mediante la sonda EC-5 con lector de humedad Pro-Check (Decagon Devices, Pullman, USA), determinando que el riego fuera cada cuatro días en la era de sol y cada seis días para las plantas situadas dentro del umbráculo; en ambos casos la dosis de riego fue 25 L m<sup>2</sup> con el fin de lograr la completa humedad del sustrato.

### **Variables fisiológicas en condiciones de vivero**

En el experimento en vivero se midieron las mismas variables de intercambio de gases que en las plantaciones experimentales. En seis individuos por especie y tratamiento de sombreado seleccionados al azar, se midió fotosíntesis (*A*) y conductancia estomática (*G<sub>s</sub>*) utilizando un IRGA (LiCor 6400 XT, Inc., Lincoln, NE, USA). Se calculó la eficiencia en el uso del agua, (*IWUE* μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> / mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) como la relación entre *A/G<sub>s</sub>*. Las mediciones se realizaron entre las 8:00 y las 12:00 hora solar. Las condiciones en el interior de la cámara del IRGA fueron similares para todos los tratamientos (flujo de aire de 380 μmol s<sup>-1</sup>, concentración de CO<sub>2</sub> de 390 ppm, temperatura 25°C) excepto para la *PPFD*. Los valores de *PPFD* (μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>) utilizados en las mediciones fueron: 1000 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> para el tratamiento TC, 600 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> para el tratamiento MDL y 90 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> para el tratamiento EDL. Se realizaron tres medidas por especie (en tres individuos diferentes) y tratamiento para cada valor de *PPFD*. El día anterior a la medición, todas las plantas fueron regadas hasta capacidad de campo con el fin de evitar la influencia de distintos grados de hidratación.

La asimilación neta de CO<sub>2</sub> (*A*) en respuesta a diferentes intensidades de *PPFD*, se midió entre las 9 y las 13 horas en hojas completamente extendidas de 3 individuos diferentes por especie y tratamiento de radiación, utilizando el mismo sistema (Li-6400). Las condiciones específicas en el interior de la cámara fueron de 25°C, humedad relativa mantenida en 45±5%, flujo de aire de 300 mmol s<sup>-1</sup> y concentración de CO<sub>2</sub> de 390 μmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup> de aire. El flujo de fotones fue aumentado desde 750 hasta 1500 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup> y después fue disminuyendo hasta 5 (la secuencia fue: 750-1000-1500-1250-750- 500-250-100-50-30-15-5 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). Las curvas de luz se realizaron de modo automático

de acuerdo a los protocolos del sistema Li-Cor. Para representar gráficamente las curvas se utilizó el software Photosyn Assistant (Dundee Scientific, Scotland, UK), programa con el que se obtuvo la siguiente información de las curvas: punto de saturación lumínica (LSE), punto de compensación lumínica (LCP) y la tasa fotosintética máxima (Amax).

### **Análisis estadístico**

El análisis se hizo bajo un diseño factorial con dos factores fijos: el factor tratamiento experimental (tres densidades) y el factor especie (seis especies), con el modelo  $y_{ijk} = \mu + T_i + E_j + \epsilon_{ijk}$ , donde  $y_{ij}$  = variable respuesta,  $\mu$  = media general,  $T_i$  = efecto del tratamiento  $i$ ,  $E_j$  = efecto de la especie y  $\epsilon_{ijk}$  = error. En el experimento en campo, las variables A, Gs, IWUE y Fv/Fm se compararon mediante un ANOVA de dos factores fijos. Un análisis similar se realizó para evaluar la respuesta de las especies en las fechas de muestreo (campaña de medición). En vivero, las variables A, Gs y IWUE se compararon mediante un ANOVA de dos factores: nivel de luz y especie. Cuando el análisis mostró interacción entre los factores, se realizó un ANOVA de un factor con nivel de significación  $P < 0.05$ . Las medias se compararon con la prueba de Tukey (DHS de Tukey). Los datos se transformaron en aquellos casos en los que no se cumplieron los supuestos del ANOVA; posteriormente, el cumplimiento de estos se verificó. Los análisis se realizaron mediante el paquete estadístico STATISTICA 12 (StatSoft Inc., 2012).

### **3.2.3. Resultados y Discusión**

#### **Intercambio de gases y eficiencia del PSII en condiciones de campo**

En nuestra zona de estudio, Granados *et al.* (2016) observaron que las condiciones edáficas y climáticas en cada parcela estuvieron determinadas por la densidad de pinos, afectando la supervivencia y el crecimiento de las especies. En estos ecosistemas, las altas temperaturas, alta radiación solar y baja precipitación durante el período estival generan un marcado déficit hídrico que se ha visto incrementado en las últimas décadas a través de sequías recurrentes (Sánchez-Salguero *et al.*, 2012).

En general, las especies mediterráneas han sido consideradas como conservadoras desde el punto de vista de la eficiencia en el uso del agua, con una estrategia orientada a evitar el estrés hídrico (Vilagrosa *et al.*, 2003; Hernández *et al.*, 2010). En nuestro estudio, *Q. faginea* y *A. granatense* fueron las especies que presentaron menor estrés

hídrico (mayores valores de  $\Psi_{md}$ ;  $p < 0.01$ ; Cuadro 3.2.3). Sin embargo, estas especies no mostraron diferencias significativas con *A. unedo*, *R. alaternus* y *Q. ilex*. El mayor nivel de estrés hídrico al mediodía se observó en *F. ornus*. Los plantones establecidos bajo el tratamiento de baja densidad (BD) presentaron menor nivel de estrés hídrico, ( $\Psi_{md}$ ,  $p < 0.05$ ; Cuadro 3), comparado con los plantones en media densidad (MD). Aunque se ha reportado que en climas secos y semiáridos pueden coexistir especies con diferentes estrategias y grados de vulnerabilidad a la sequía (Forner *et al.*, 2014; Vilagrosa *et al.*, 2014), las especies tolerantes pueden mantener los estomas abiertos durante la sequía, soportando potenciales hídricos muy bajos, pero arriesgando la funcionalidad del xilema para el transporte de agua (Urli *et al.*, 2013). Los resultados observados en este estudio podrían estar relacionados con la disponibilidad hídrica, así como por el déficit de presión de vapor de agua (VPD) condicionada por cada densidad de pinar. Así mismo, Gavinet *et al.*, (2015) observaron que la temperatura máxima en verano era significativamente inferior en el tratamiento AD, lo que favoreció valores de VPD menores.

Cuadro 3.2.3. Variables fisiológicas medidas en las parcelas experimentales en campo. Resultados ANOVA bifactorial; media±error estándar; N=6; *prueba de Tukey* (DHS de Tukey); valor seguido de la misma letra indica que no existen diferencias significativas. Abreviaturas: Conductancia de estomas (*G<sub>s</sub>*), Fotosíntesis (*A*), Eficiencia en el Uso del Agua (*IWUE*), Potencial hídrico al mediodía ( $-MPa_{md}$ ) en mitad del periodo estival, Fluorescencia al alba (*F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> pd*), Fluorescencia al mediodía (*F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> md*). <sup>(1)</sup> Tendencia ( $p < 0.1$ )

Efecto de los factores e interacciones	Intercambio de gases			<i>Eficiencia fotoquímica del PSII</i>
	<i>A</i> $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	<i>G<sub>s</sub></i> $\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$	<i>IWUE</i> $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1} / \text{mol H}_2\text{O m}^{-2}\text{s}^{-1}$	<i>F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub> pd</i>
Especie (Sp)				
<i>A. unedo</i>	5.2±0.4ab	0.08±0.01abc	75.1±4.4a	0.79±0.00a
<i>R. alaternus</i>	6.8±0.7a	0.10±0.01ab	70.4±5.6ab	0.76±0.01ab
<i>Q. ilex</i>	5.1±0.5ab	0.11±0.01a	57.1±4.0b	0.77±0.00ab
<i>Q. faginea</i>	4.2±0.4b	0.06±0.01c	68.9±5.3ab	0.75±0.01b
<i>F. ornus</i>	4.7±0.4b	0.08±0.01abc	81.2±5.3a	0.68±0.02c
<i>A. granatense</i>	4.8±0.4b	0.07±0.01bc	73.9±4.9a	0.70±0.02c
<b>valor F</b>	<b>3.918 **</b>	<b>4.153**</b>	<b>3.614**</b>	<b>14.32***</b>
Tratamiento (Tr)				
AD	4.0±0.3b	0.07±0.00b	65.2±3.1	0.77±0.01a
MD	5.2±0.3a	0.09±0.01a	72.6±3.6	0.74±0.01b
BD	6.1±0.3a	0.09±0.01a	75.7±3.8	0.73±0.01b
<b>valor F</b>	<b>10.569 **</b>	<b>2.241 *</b>	<b>3.254 <sup>(1)</sup></b>	<b>5.93**</b>
Interacción Sp x Tr				
<b>valor F</b>	<b>0.500</b>	<b>0.205</b>	<b>0.545</b>	<b>0.79</b>



Las condiciones de mayor disponibilidad de luz (*PPFD*) conjuntamente con una mayor disponibilidad hídrica (ratio *SWC:FC*; Granados et al. 2016) observadas en primavera, otoño e invierno durante 2011, 2012 y 2013 en los tratamientos BD y MD, favorecieron mayores valores de fotosíntesis (*A*;  $p < 0,01$ ) y de conductancia estomática (*Gs*;  $p < 0,05$ ; Cuadro 3.2.3) . En AD se observaron valores significativamente más bajos en ambas variables (*A* y *Gs*). *R. alaternus* mostró valores mayores de *A*, seguido de *A. unedo* y *Q. ilex* ( $p < 0,01$ ), las cuales no mostraron diferencias entre sí, ni con las demás especies (*A. granatense*, *F. ornus* y *Q. faginea*; Cuadro 3.2.3). *Q. ilex* fue la especie que presentó mayores valores de *Gs*, seguida de *R. alaternus* ( $p < 0,01$ ; Cuadro 3.2.3). *A. unedo* y *F. ornus* mantuvieron valores intermedios, observándose los menores valores en *Q. faginea* y *A. granatense*. En general las hojas formadas en ambientes con alta intensidad lumínica presentan una capacidad fotosintética superior a la de las plantas sombreadas (Larcher, 1980; Chabot & Hicks, 1982). Sin embargo, en condiciones de sequía más intensa, puede existir una regulación a la baja en la conductancia estomática, con una consecuente reducción en la tasa fotosintética (Givnish, 1988; Rodríguez-Calcerrada *et al.*, 2016). En este trabajo los resultados indicarían que el factor que reguló el intercambio de gases fue la disponibilidad lumínica, lo que concuerda con (Gómez-Aparicio *et al.*, 2006) quienes encontraron que la intensidad lumínica estaría limitando el establecimiento de las especies.

Aunque no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en cuanto a la eficiencia en el uso del agua (*IWUE*;  $p = 0,0930$ ; Tabla 3.2.3) se observó cierta tendencia ( $p < 0,1$ ) a que los plantones bajo cubierta de BD presentaran una mayor *IWUE* respecto a los plantones en MD y AD. El análisis por especies indicó que *F. ornus*, *A. unedo* y *A. granatense* fueron las especies que presentaron mayor *IWUE* ( $p < 0,01$ ) seguido de *R. alaternus* y *Q. faginea*. *Q. ilex* fue la especie que mostró menor *IWUE* (Tabla 3.2.3). Las diferencias observadas entre especies pueden relacionarse con algunas estrategias para hacer frente al déficit hídrico mediante mecanismos de ahorro de agua. *Q. ilex* es una especie con capacidad para mantener bajos potenciales hídricos mediante ajuste osmótico (Vilagrosa *et al.*, 2003; Tardieu & Simonneau, 1998), adoptando una estrategia de tolerancia al estrés hídrico en condiciones de sequía extrema.

La respuesta de las especies en los períodos de medición a lo largo del año indicó diferencias entre tratamientos solo en junio-2012, donde los plantones en BD presentaron mayores valores en *Gs* ( $p < 0,01$ ; Recurso en línea 1) y *A* ( $p < 0,001$ ) que los plantones en

MD y AD. En este mismo mes, los plantones en las parcelas BD y MD no mostraron diferencias en *IWUE*, pero sí entre éstas y AD ( $p < 0.05$ ). Entre especies, en noviembre-2011, *R. alaternus* presentó mayor *Gs* que *F. ornus* y *A. granatense* ( $p < 0.05$ ; Recurso en línea 3.2.1). *Q. ilex*, *A. unedo* y *Q. faginea* mantuvieron resultados intermedios. En este mismo período, *R. alaternus* presentó los mayores valores de *A*; mientras que *A. granatense*, *F. ornus*, *Q. faginea* y *A. unedo* mostraron los valores más bajos ( $p < 0.05$ ; Recurso en línea 3.2.1). En junio-2012, *F. ornus*, *A. granatense* y *A. unedo* reflejaron los valores más bajos en *Gs* respecto a *Q. ilex*. *R. alaternus* y *Q. faginea* mostraron valores intermedios ( $p < 0.05$ ; Recurso en línea 3.2.1). En *IWUE* solo encontramos diferencias entre especies en el mes de mayo-2011. *A. granatense* fue la especie con mayor *IWUE*, seguida de *A. unedo* y *F. ornus*. Las otras especies indicaron los valores más bajos ( $p < 0.001$ ; Recurso en línea 3.2.1). Estos resultados pueden estar asociados a una mayor disponibilidad hídrica en los meses de mayo y noviembre del 2011 y junio-2012 (Granados *et al.*, 2016). Estudios previos han reportado que las especies caducifolias son las que tienen mayor eficiencia en el uso de agua debido a que son capaces de aprovechar con intensidad los pocos pulsos predecibles y tienen mayores tasas fotosintéticas (Hasselquist *et al.*, 2010), sobre todo en primavera (Valladares *et al.*, 2004).

La eficiencia máxima del fotosistema II (PSII;  $F_v/F_m$ ) registrada a lo largo del período de estudio fue de 0.79 (Tabla 3.2.2), valor moderadamente inferior al óptimo que caracteriza a las plantas no estresadas (0.83, Björkman & Demmig, 1987). Estos datos podrían indicar procesos de fotoinhibición de larga duración debido a condiciones estresantes para los plantones (Long *et al.*, 1994). Al alba ( $F_v/F_m_{pd}$ ;  $p < 0.01$ ; Cuadro 3.2.3) y al mediodía ( $F_v/F_m_{md}$ ;  $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.3), la eficiencia máxima del PSII fue mayor en el tratamiento de AD, respecto a MD y BD; lo cual está relacionado con valores de *PPFD* inferiores y, por lo tanto, menos estresantes (Granados *et al.* 2016). Entre MD y BD no se observaron diferencias. Al alba,  $F_v/F_m_{pd}$  fue mayor en *A. unedo*, seguido de *Q. ilex* y *R. alaternus* reflejando una mejor capacidad para adaptarse y vivir en estos ambientes ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.3). *Q. faginea* presentó valores intermedios. Al mediodía, *A. unedo* y *Q. ilex* registraron valores mayores de  $F_v/F_m_{md}$  mientras que *R. alaternus* y *Q. faginea*, mostraron valores intermedios. Tanto al alba como al mediodía, los menores valores de  $F_v/F_m$  fueron observados en *F. ornus* y *A. granatense* manifestando mayor fotoinhibición y menor adaptación al ambiente lumínico en estas parcelas (Cuadrp 3.2.3).

La dinámica anual de  $F_v/F_m$  mostró periodos específicos donde los plantones marcaron diferencias entre especies en mayo, agosto y noviembre del 2011 (Recurso en línea 3.2.2). Estas diferencias reflejarían distintas capacidades de adaptación y aclimatación en función de las características morfofuncionales de las especies, como se ha comentado anteriormente. La densidad de pinar también reflejó diferencias a lo largo de diferentes épocas del año. Las parcelas de MD mostraron valores bajos (similares a BD) o intermedios. Las especies caracterizadas como menos tolerantes a la sombra, *R. alaternus*, *A. unedo* y *Q. ilex*, mostraron los valores mayores de  $F_v/F_m$  tanto al alba como al mediodía, lo que indicó menos procesos de fotoinhibición y posiblemente menos daños en el sistema fotosintético (Morales *et al.*, 2006; Vilagrosa *et al.*, 2010). Resultados similares pero con valores inferiores debido a procesos más importantes de fotoinhibición se observaron en  $F_v/F_m-md$  (Recurso en línea 3.2.2).

#### **Intercambio de gases en el experimento en invernadero**

En condiciones de vivero, los valores más altos de  $G_s$  fueron observados en condiciones de escasa disponibilidad de luz (EDL), mientras que los menores fueron registrados en condiciones de alta disponibilidad de luz (TC). En MDL se observaron valores intermedios ( $p < 0.05$ ; Tabla 4). Por el contrario, la tasa fotosintética  $A$  mostró valores significativamente mayores en el TC, seguido de los tratamientos MDL y EDL ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.4). En relación al  $IWUE$ , los plantones en el TC también mostraron valores más altos en comparación con los plantones en MDL y en EDL, encontrándose los valores más bajos en este último tratamiento ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.4).

Cuadro 3.2.4. Variables fisiológicas medidas en experimento en vivero. Resultados ANOVA bifactorial; media±error estándar; N=6; *test a posteriori de Tukey* (DHS de Tukey); valor seguido de la misma letra indica que no existen diferencias significativas. Abreviaturas: Conductancia de estomas (Gs), Fotosíntesis (A), Eficiencia en el Uso del Agua (IWUE); tratamiento control (TC), media densidad de luz (MDL), escasa densidad de luz (EDL).

Efecto de los factores e interacciones	Intercambio de gases		
	Gs (mol m <sup>2</sup> s <sup>-1</sup> )	A (μmol m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )	IWUE (μmol CO <sub>2</sub> m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> / mol H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> s <sup>-1</sup> )
Especie (Sp)			
<i>A. unedo</i>	0.15±0.03ab	5.4±0.7ab	49.5± 7.3ab
<i>R. alaternus</i>	0.22±0.04a	7.0±1.3a	37.9±6.1b
<i>Q. ilex</i>	0.17±0.00ab	7.7±1.0a	46.1±6.0ab
<i>Q. faginea</i>	0.12±0.01b	3.6±0.9b	33.8±10.4b
<i>F. ornus</i>	0.12±0.01b	6.1±0.8ab	51.8±5.9ab
<i>A. granatense</i>	0.12±0.01b	6.5±0.8a	59.5±8.2a
<b>valor F</b>	<b>3.411 **</b>	<b>4.878 ***</b>	<b>3.408 *</b>
Tratamiento (Tr)			
TC	0.12±0.01b	8.2±0.7a	76.6±4.8a
MDL	0.16±0.02ab	7.5±0.6a	46.0±3.3b
EDL	0.17±0.01a	2.6±0.3b	17.1±1.9c
<b>valor F</b>	<b>3.615 *</b>	<b>40.454 ***</b>	<b>75.517 ***</b>
Interacción Sp x Tr			
<b>valor F</b>	<b>0.841</b>	<b>2.362*</b>	<b>0.633</b>

La respuesta de las especies en Gs en vivero difirió de la observada en condiciones de campo. En vivero, los valores más altos de Gs se observaron en EDL ( $p < 0.05$ ; Cuadro 3.2.4) probablemente porque a plena luz (TC), y a pesar del riego, para alto vpd en las condiciones del vivero, se debió producir regulación estomática de las pérdidas de agua; mientras que en campo se obtuvieron en condiciones de mayor disponibilidad de luz (BD y MD;  $p < 0.05$ ; Cuadro 3.2.4). En A sí se observó un patrón similar. Los plantones en BD ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3) y TC ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.4), alcanzaron los mayores valores. Los plantones en TC mostraron mayor IWUE ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.4) que en EDL. En condiciones de campo, solo se observó una tendencia ( $p < 0.1$ ) a una respuesta similar a la observada en el vivero. Las especies mediterráneas han desarrollado mecanismos para afrontar tanto condiciones de estrés hídrico, como de alta iluminación (Gómez-Aparicio *et al.*, 2006; Mc Dowell *et al.*, 2013). En nuestro estudio en condiciones de campo, las plantas podrían haber ajustado su

rehidratación durante la noche (Valladares & Pearcy, 2002) con más agua disponible para mantener el alto intercambio de gases observado y así, el uso eficiente del agua en respuesta a la alta radiación, mientras que en vivero, la disponibilidad de agua no fue el factor limitante. En este caso, los resultados indicarían que los factores que definieron la respuesta en el intercambio de gases en campo fueron la cantidad de luz, el VPD asociado a la temperatura y la disponibilidad hídrica ( $SWC:FC$ ).

En general, las especies caducifolias *F. ornus* y *A. granatense* y la especie semicaducifolia *Q. faginea*, mostraron tasas de  $G_s$  inferiores a las especies perennifolias *A. unedo*, *R. alaternus* y *Q. ilex* ( $p < 0.01$ ; Cuadro 3.2.4). Respecto a  $A$ , las mayores tasas se encontraron en *Q. ilex*, *R. alaternus* y *A. granatense* ( $p < 0.001$ ; Cuadro 3.2.4) registrándose los menores valores en *Q. faginea*. *A. unedo* y *F. ornus* mostraron valores intermedios. Los valores de  $A_{max}$  en *R. alaternus* ( $15 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) y *Q. ilex* ( $16 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), fueron casi la mitad de los valores obtenidos por Gulías *et al.*, (2002). *A. granatense* y *F. ornus* obtuvieron mayores valores de  $IWUE$ , *Q. faginea* tuvo el valor menor y las demás especies mostraron valores intermedios ( $p < 0.05$ ; Cuadro 4). Se ha reportado que las especies caducifolias de individuos adultos en condiciones naturales, presentan mayores tasas de intercambio de gases (Mediavilla & Escudero, 2003) y son capaces de aprovechar con intensidad los pocos pulsos predecibles de agua, manifestando mayores tasas fotosintéticas (Hasselquist *et al.*, 2010). En este estudio, las especies caducifolias tuvieron intercambio de gases con valores inferiores, con mayor eficiencia en el uso del agua. Probablemente, las especies caducifolias fueron mucho más sensibles a la demanda hídrica atmosférica en las condiciones climáticas generadas en el vivero debido a las condiciones ambientales del mismo (temperatura, demanda hídrica atmosférica) que fueron menos favorables para las especies caducifolias, como ocurría en las parcelas de campo de baja densidad de arbolado.

El análisis de la respuesta de las especies por tratamiento sólo reveló diferencias en  $G_s$  en dos especies. *A. unedo* presentó mayor  $G_s$  en EDL que en TC, mientras que *F. ornus* mostró mayores valores de  $G_s$  en MDL respecto a TC ( $p < 0.05$ ; Figura 3.2.1). La mayoría de las especies (*R. alaternus*, *Q. ilex*, *F. ornus* y *A. granatense*) registraron menores valores de  $A$  en el tratamiento con menor disponibilidad de luz (EDL;  $p < 0.05$ ; Figura 3.2.1), no observándose diferencias entre MDL y TC. En contraste, los mayores valores en  $IWUE$  se reportaron en la mayoría de las especies en el tratamiento de máxima disponibilidad de luz

(TC) y los menores valores en EDL ( $p < 0.05$ ; Figura 3.2.1). Estos resultados podrían indicar que intensidades lumínicas muy bajas serían perjudiciales para cualquier especie, debido a que la fijación de carbono estaría comprometida, en especial por los bajos valores de *IWUE* que también se observaron en condiciones de EDL.

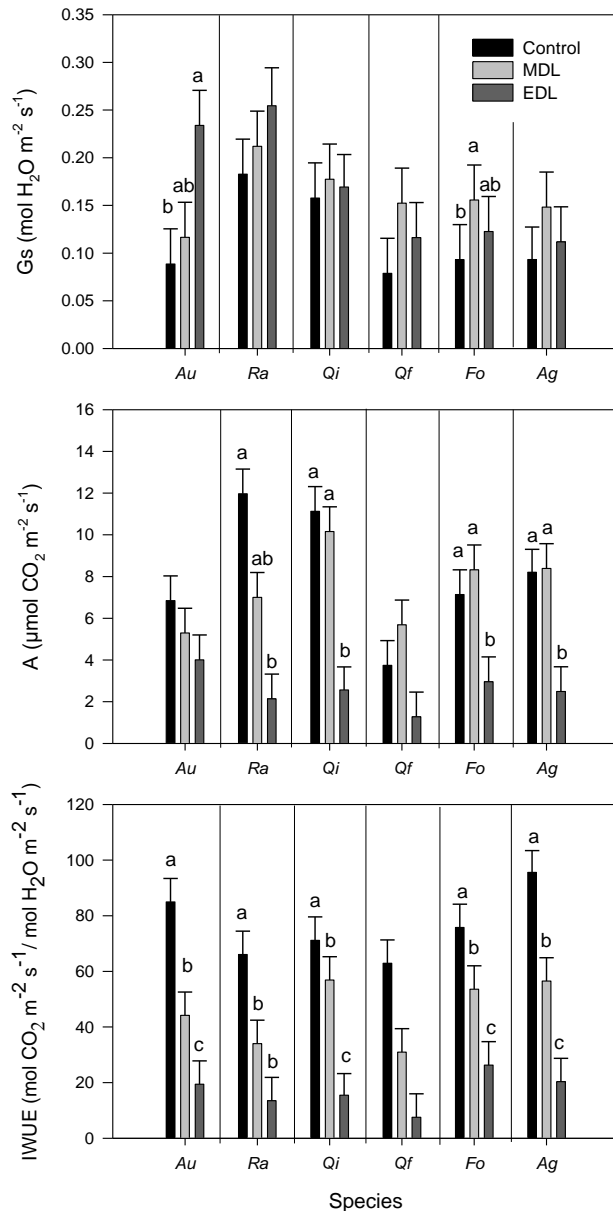


Figura 3.2.1. Conductancia de estomas (*G<sub>s</sub>*), fotosíntesis (*A*), y de eficiencia en el uso del agua (*IWUE*) de las especies bajo diferentes tratamientos de disponibilidad de luz: Control (TC), media densidad de luz (MDL) y escasa densidad de luz (EDL). Resultados ANOVA de un factor. Medias ± error estándar, N = 6. Letras diferentes indican diferencias estadísticas entre tratamientos al nivel  $P < 0.05$  *test a posteriori de Tukey* (DHS de Tukey).

Cuadro 3.2.5. Resultados Curvas de Luz por tratamiento. Resultados ANOVA de un factor; media±error estándar; N=3; *test a posteriori Diferencia Honestamente Significativa de Tukey* (DHS de Tukey); valor seguido de la misma letra indica que no existen diferencias significativas. Abreviaturas: Fotosíntesis máxima ( $A_{max}$ ), Punto de Saturación Lumínica ( $LSP$ ) y Punto de Compensación de Luz ( $LCP$ ); significación \*  $p < 0.05$ , <sup>(1)</sup>. - tendencia  $p < 0.1$ ).

Especie	$A_{max}$	$LSP$	$LCP$
	( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )	( $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )
<b>Máxima disponibilidad de luz (TC)</b>			
<i>Arbutus unedo</i>	5.5±2.5	110.2±81.1b	24.0±11.4ab
<i>Rhamnus alaternus</i>	14.5±2.5	397.0±81.1ab	28.9±11.4ab
<i>Quercus ilex</i>	15.7±2.5	554.0±81.0a	64.1±11.4a
<i>Quercus faginea</i>	8.5±2.5	276.0±57.0ab	57.7±8.1a
<i>Fraxinus ornus</i>	7.1±2.0	184.0±66.2b	28.1±9.3ab
<i>Acer granatense</i>	9.1±2.0	240.7±66.2ab	12.3±9.3b
Valor F	2.8954	<b>4.0671*</b>	<b>4.3819*</b>
<b>Media disponibilidad de luz (MDL)</b>			
<i>Arbutus unedo</i>	6.5±1.8	103.0±33.7b	10.5±4.0b
<i>Rhamnus alaternus</i>	6.6±1.8	211.5±33.7ab	18.2±4.0ab
<i>Quercus ilex</i>	9.6±1.8	299.0±33.7a	29.2±4.0ab
<i>Quercus faginea</i>	7.3±1.5	215.3±27.5ab	33.3±3.2a
<i>Fraxinus ornus</i>	3.2±2.6	83.2±47.6b	9.8±5.6b
<i>Acer granatense</i>	12.0±1.8	264.5±33.7ab	10.6±4.0b
Valor F	2.0743	<b>5.3586*</b>	<b>7.4340*</b>
<b>Escasa disponibilidad de luz (EDL)</b>			
<i>Arbutus unedo</i>	8.4±1.5	148.3±60.1	14.8±2.6
<i>Rhamnus alaternus</i>	10.2±1.8	232.5±73.6	15.0±3.4
<i>Quercus ilex</i>	12.2±1.3	340.5±52.0	76.8±58.7
<i>Quercus faginea</i>	5.5±1.5	306.3±60.1	75.6±50.2
<i>Fraxinus ornus</i>	7.9±1.5	154.9±60.1	14.6±3.0
<i>Acer granatense</i>	10.4±1.5	190.0±60.1	13.1±4.6
Valor F	2.8444 <sup>(1)</sup>	1.9893	0.6954

El punto de saturación lumínica (LSP) también fue notablemente bajo al compararlo con valores reportados por otros autores en diferentes especies mediterráneas (Cuadro 3.2.5). Filippou *et al.*, (2007) registraron valores de LSP en hojas de *Olea europea* con valores de CO<sub>2</sub> de 1682 (μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>); mientras que el valor máximo en nuestro estudio fue en *Q. ilex* (554.0±81.0 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). Tanto en las condiciones del TC (p=0.029) como en MDL (p=0.032), *Q. ilex* fue la especie que registró los mayores valores de LSP, seguida de *R. alaternus*, *Q. faginea* y *A. granatense*. Los menores valores fueron observados en *A. unedo* y *F. ornus* (Cuadro 3.3.5). Por otro lado, encontramos que las plantas tuvieron valores de saturación en rangos similares a los encontrados por Gómez-Aparicio *et al.*, (2006) en especies del monte Mediterráneo *Acer granatense*, *Quercus pirenaica*, *Quercus ilex* y *Pinus nigra*, cuyos valores de LSP fueron, respectivamente, 249±2, 304±16, 234±60 y 320±40 (μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). En conjunto, las especies caducifolias *F. ornus* y *A. granatense* saturaron a valores menores 184.00±35.9 y 198.20±60.2 (μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup>) que las especies esclerófilas *R. alaternus*, *Q. ilex* y *Q. faginea* que saturaron a 397.0±54.00, 554.0±88.0 y 276.0±81.8 (μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>). Lo que concuerda con el hecho de que las plantas que crecen en ambientes con sombra generalmente presentan puntos de saturación más tempranos y valores de fotosíntesis máxima más bajos, mientras que las que crecen en áreas más expuestas al sol, los muestran más altos y saturan a valores mayores de radiación (Salisbury & Ross 1992; Bacon, 2009 ).

El punto de compensación de luz (LCP) al igual que las variables  $A_{max}$  y LSP, en condiciones de EDL no mostraron diferencias entre especies, mientras que en TC y MDL fueron diferentes (Cuadro 3.2.5). El punto de compensación de luz define la intensidad luminosa en la que se considera se equilibran el CO<sub>2</sub> requerido para la fotosíntesis con el producido en la respiración, de modo que el intercambio de gases sería cero, y a partir del cual se produce una ganancia de carbono para la planta. Este valor es característico de las especies, genotipo, tipo de hoja (las hojas de sombra tienen puntos de compensación más bajos que las hojas de sol (Rabinowitch, 1951), edad de la hoja (las hojas jóvenes tienen puntos de compensación más altos que las hojas viejas), concentración de CO<sub>2</sub> y temperatura (Kozlowski *et al.*, 1991). En nuestro estudio, en condiciones de máxima disponibilidad de luz, las especies del género *Quercus* (especie esclerófila), fueron las que mostraron mayores valores de LCP (p<0.023, Cuadro 3.2.5) y los menores valores se encontraron en *A. granatense* (especie decidua). Las demás especies (*R. alaternus*, *F.*



*ornus* y *A. unedo*) reflejaron valores intermedios. En condiciones de MDL, sólo *Q. faginea* mostró los mayores valores ( $p=0.015$ ), seguida de *Q. ilex* y *R. alaternus*. *F. ornus*, *A. unedo* y *A. granatense* presentaron los menores valores de *LCP* (Tabla 5). En general, las plantas mostraron signos de aclimatación a los distintos tratamientos, lo que corresponde con lo reportado para las especies arbóreas adaptadas a intensidades altas de luz (con altos valores de *LSP* y *LCP*) y a bajas intensidades de luz (con valores menores de *LSP* y *LCP*; Rabinowitch, 1951; Fernández & Tapias, 2005), mientras que las formas arbustivas tuvieron valores intermedios, con diferencias poco claras para confirmar el comportamiento de baja tolerancia a la sombra (Rivas-Martínez, 1987). Es importante tener en cuenta que un período de dos meses en el vivero podría no ser suficiente para que las plantas se aclimataran a las diferentes condiciones de luz.

### **3.2.4. Conclusiones**

La respuesta de las especies estudiadas en las condiciones de campo reflejó la interacción existente entre humedad del suelo y luz para las plantas, condicionada por la densidad del pinar. En campo, las especies esclerófilas perennifolias como *Arbutus unedo*, *Rhamnus alaternus* o *Quercus ilex* tuvieron mayor capacidad de aclimatación a las condiciones ambientales que las especies caducifolias. Las condiciones abióticas, debidas a la cubierta arbórea, pueden ser determinantes en la respuesta de las especies estudiadas, de acuerdo con su estrategia funcional (perennifolias y caducifolias). En condiciones óptimas de vivero, las especies se comportaron con patrones estándar de respuesta al factor disponibilidad de luz.

### **Agradecimientos**

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad español a través del proyecto Survive-2 (CGL2015-69773-C2-2-P MINECO / FEDER) y la Unión Europea, proyecto FUME (EU FP7-Environment, GA. 243888). CEAM recibe el apoyo y la financiación de la Generalitat Valenciana.

## Referencias

- Ackerly, D. (2004). Functional strategies of chaparral shrubs in relation to seasonal water deficit and disturbance. *Ecological Monographs*, 74(1), 25-44.  
<https://doi.org/10.1890/03-4022>
- Aerts, R. (1995). The advantages of being evergreen. *Trends in Ecology and Evolution*, 10: 402-415. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21237084>
- Bacon, M. (Ed.). (2009). *Water use efficiency in plant biology*. John Wiley & Sons.
- Baeza, M. J., Valdecantos, A., Alloza, J. A., & Vallejo, V. R. (2007). Human disturbance and environmental factors as drivers of long-term post-fire regeneration patterns in Mediterranean forests. *Journal of Vegetation Science*, 18(2), 243-252.  
[doi.org/10.1111/j.1654-1103.2007.tb02535.x](https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2007.tb02535.x)
- Björkman, O., & Demmig. B. (1987). Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence at 77k among vascular plants of diverse origins. *Planta* 170: 489-504.  
doi: 10.1007/BF00402983
- Bolte, A., Ammer, C., Löf, M., Madsen, P., Nabuurs, G. J., Schall, P., & Rock, J. (2009). Adaptive forest management in central Europe: climate change impacts, strategies and integrative concept. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 24(6), 473-482.  
[doi.org/10.1080/02827580903418224](https://doi.org/10.1080/02827580903418224)
- Chabot, B. F., & Hicks, D. J. (1982). The ecology of leaf life spans. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13: 229-259. [doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.001305](https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.001305)  
<https://trove.nla.gov.au/work/9808239?q&versionId=11387139>
- Fernández, M. & Tapias, M. (2005). Influencia de la intensidad luminosa sobre la tasa fotosintética de plantas de una savia de pinos españoles. *Cuad. Soc. Esp. Cie, For.* 20:73-78. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2982575>
- Filippou, M., Fasseas, C., & Karabourniotis, G. (2007). Photosynthetic characteristics of olive tree (*Olea europaea*) bark. *Tree Physiology*, 27(7) 977-984.  
[doi.org/10.1093/treephys/27.7.977](https://doi.org/10.1093/treephys/27.7.977)

- Forner, S. A., Aranda, I., Granier, A. & Valladares, F. (2014). Differential Impact of the most extreme drought event the last half century on growth and sap flow in two coexisting Mediterranean trees. *Plant Ecology*, 1-17. doi.org/10.1007/s11258-014-0351-x
- García de la Serrana, R., Vilagrosa, A., & Alloza, J. A. (2015). Pine mortality in southeast Spain after an extreme dry and warm year: interactions among drought stress, carbohydrates and bark beetle attack. *Trees*, 29: 1791–1804. doi.org/10.1007/s00468-015-1261-9
- Gavinet, J., Vilagrosa, A., Chirino, E., Granados, M. E., Vallejo, V. R., & Prévosto, B. (2015). Hardwood seedling establishment below Aleppo pine depends on thinning intensity in two Mediterranean sites. *Annals of Forest Science*, 72: 999-1008. <http://80.24.165.149/webproduccion/PDFs/15ART10.PDF> .
- Givnish, T.J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole plant perspective. *Austr. J. Plant Physiol.* 15, 63-92. doi.org/10.1071/PP9880063
- Gómez-Aparicio, L., Valladares, F. & Zamora, R. (2006). Differential Light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiol.* 26: 947-958. doi.org/10.1093/treephys/26.7.947
- Granados, M. E., Vilagrosa, A., Chirino, E., & Vallejo, V. R. (2016). Reforestation with resprouter species to increase diversity and resilience in Mediterranean pine forests. *Forest Ecology and Management*, 362: 231-240. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.12.020>
- Gulías, J., Flexas, J., Abadía, A., & Medrano, H. (2002). Photosynthetic responses to water deficit in six Mediterranean sclerophyll species: possible factors explaining the declining distribution of *Rhamnus ludovici-salvatoris*, an endemic Balearic species. *Tree Physiology*, 22: 87-97. <http://doi.org/10.1093/treephys/22.10.687>
- Hasselquist, N.J., Allen, M.F. & Santiago, L.S. (2010). Water relations of evergreen and drought-deciduous trees along a seasonally dry tropical forest chronosequence. *Oecologia*, 164: 881-890. <http://doi.org/10.1007/s00442-010-1725-y>
- Hernández, E.I., Vilagrosa, A., Pausas, J.G & Bellot, J. (2010). Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, 207:233-244. <http://doi.org/10.1007/s11258-009-9668-2>

- Hernández, L. & Romero, F. (2008). Manuales de desarrollo sostenible: 6. Criterios de restauración de zonas incendiadas. Fundación Banco Santander. 54 pp.
- Herranz-Sanz, J. M. (2000). Aspectos botánicos y ecológicos del pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.). *Cuad. Soc. Esp. Cien. For.* 10: 13-17. Retrieved from [http://9207-9204-1-PB%20\(1\).pdf](http://9207-9204-1-PB%20(1).pdf)
- IPCC, (2014): Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Core Writing Team, R.K. Pachauri and L.A. Meyer (eds.)]. IPCC, Geneva, Switzerland, 151 pp. Retrieved from: [http://www.ersilia.org/canvi\\_climatic/documents/IPPC/IPCC\\_Whoiswho.pdf](http://www.ersilia.org/canvi_climatic/documents/IPPC/IPCC_Whoiswho.pdf)
- Jacobs, D. F., Oliet, J. A., Aronson, J., Bolte, A., Bullock, J. M., Donoso, P. J., & Weber, J. C. (2015). Restoring forests: What constitutes success in the twenty-first century? *New Forests*, 46(5-6), 601–614. doi: 10.1007/s11056-015-9513-5
- Kozłowski, T. T., Kramer, P. J. & Pallardy, S. G. (1991). The physiological ecology of woody plants. Academic Press. Toronto.
- Larcher, W. (1980). Physiological plant ecology. Springer-Verlag. Berlin.
- Le Houérou, H. N. (1973). Fire and Vegetation in the Mediterranean Basin. Tall Timbers Fire Ecology Conference 13:237-277. En Papio, C. (1988). Respuesta al fuego de las principales especies de la vegetación de Garraf (Barcelona). *Orsis*, 3: 87-103. Retrieved from: <http://ArtPDFRed.jsp?Cve=24121-89249-1-PB.pdf>
- Long, S. P., S. Humphries, & Falkowski, P. G. (1994). Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 633-662. <http://doi.org/10.1146/annurev.pp.45.060194.003221>
- Maestre, F. T. & Cortina J. (2004). Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, 27: S331–S333. <http://doi: 10.1098/rsbl.2004.0181>
- Martín-Sanz, R. C. Callejas-Díaz, M. Tonnabel, J. & Climent, J. M. (2017). Maintenance costs of serotiny in a variably serotinous pine: The role of water supply. *PLoS ONE* 12(7): e0181648. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0181648>

- McDowell, N.G., Fisher, R.A., Xu, C., Domec, J.C., Hölttä, T., Mackay, D.S., Sperry, J.S., Boutz, A., Dickman, L., Gehres, N., Limousin, J.M., Macalady, A., Martínez-Vilalta, J., Mencuccini, M., Plaut, J.A., Ogée, J., Pangle, R.E., Rasse, D.P., Ryan, M.G., Sevanto, S., Waring, R.H., Williams, A.P., Yopez, E.A., & Pockman, W.T. (2013). Evaluating theories of drought-induced vegetation mortality using a multimodel experiment framework. *New Phytol* 200(2): 304-32. <http://doi.org/10.1111/nph.12465>
- Mediavilla, S., & Escudero, A. (2003). Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. *Forest Ecology and Management*. 187, 281-294.
- doi:10.1016/j.foreco.2003.07.006
- Morales, F., Abadía, A., Abadía, J., 2006. Photoinhibition and photoprotection under nutrient deficiencies, drought, and salinity. In: Demmig-Adams, B., Adams III, W.W., Mattoo, A.K. (Eds.), *Photoprotection, Photoinhibition, Gene Regulation and Environment*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, pp 65-85. Retrieved from: <https://www.springer.com/la/book/9781402035647>
- Naveh, Z. (1990). Fire in the Mediterranean: A Landscape Ecological Perspective. IN: Goldammer J.F., Jenkins M.J. (Eds.) *Fire in Ecosystems Dynamics*. Proceedings of the third International Symposium in Freiburg, Frg. (1989). *SPB Academic Publishing* by the Hague, the Netherlands, pp. 1–20.
- Pausas, J. G. & Vallejo, V. R. (1999). The role of fire in Europe Mediterranean ecosystems. In 'Remote Sensing of Large Wildfires in Europe Mediterranean Bssin'. (Ed. E Chuvieco) pp. 3-16. *Springer* Berlin. Retrieved from: <https://www.uv.es/jgpausas/papers/PausasVallejo1999.pdf>
- Pérez-Cueva, A. (1994). Atlas climático de la Comunidad Valenciana. Valencia: Generalitat Valenciana. pp. 205. <https://www.llig.gva.es/es/383-9788448203108.html>
- Quézel, P. (2000). Taxonomy and Biogeography of Mediterranean Pines (*Pinus halepensis* and *P. brutia*). Ecology, Biogeography and Management of *Pinus halepensis* and *P. brutia*. *Forests Ecosystems in the Mediterranean Basin*. Backhuys Publishers, Leiden.
- Rabinowitch, E. I. (1951). Spectroscopy and fluorescence of photosynthetic pigments; kinetics of photosynthesis. *Interscience Publishers INC.*, New York.

- Rivas, M. S. (1987). Memorias del Mapa de Series de Vegetación. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Retrieved from [https://floramontiberica.files.wordpress.com/2012/09/mapa\\_series\\_vegetacion\\_1987.pdf](https://floramontiberica.files.wordpress.com/2012/09/mapa_series_vegetacion_1987.pdf)
- Rodríguez-Calcerrada, J., Li M., López, R., Cano, F. J., Oleksyn, J., Atkin, OK, Pita, P., Aranda, I. & Gil L. (2016). Drought-induced shoot dieback starts with massive root xylem embolism and variable depletion of nonstructural carbohydrates in seedlings of two tree species. *New Phytologist*. [http://doi: 10.1111/nph.14150](http://doi:10.1111/nph.14150)
- Rodríguez-Rodríguez, M.C., Jordano, P., & Valido, A. (2015). Hotspots of damage by antagonists shape the spatial structure of plant–pollinator interactions. *Ecology*, 96(8), pp. 2181–2191. <http://doi.org/10.6084/m9.figshare.c.3307887.v1>
- Salisbury, F. B. & Ross, C. W. (1992). Plant Physiology. 4<sup>th</sup> Ed. California.
- Sánchez-Salguero, R., Cerrillo, N. R. M., Camero, J. J. & Cancino, F. A. (2012). Selective drought-induced decline of pine species in southeastern Spain. *Climatic Change*, 113:767–785. [http://doi 10.1007/s10584-011-0372-6](http://doi:10.1007/s10584-011-0372-6)
- Tardieu, F., & Simonneau. (1998). Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* 49: 419-432. [http://doi.org/10.1093/jxb/49.Special\\_Issue.419](http://doi.org/10.1093/jxb/49.Special_Issue.419)
- Urli, M., Porté, A. J., Cochard, H., Guengant, Y., Burrett, R., & Delzon, S. (2013). Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiol* 33 (7):672-683. [http://doi: 10.1093/treephys/tpt030](http://doi:10.1093/treephys/tpt030)
- Valladares, F. & Pearcy, E. F. (2002). Drought can be more critical in the shade than in the sun: a field study of carbon gain and photo-inhibition in a Californian shrub during a dry El Niño year. *Plant Cell and Environmental*, 25. <http://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00856.x>
- Valladares, F., & Sánchez-Gómez, D. (2006) Ecophysiological traits associated with drought in Mediterranean tree seedlings: Individual responses versus interspecific trends in eleven species. *Plant Biology*, (8)5: 688–697. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924107>

- Valladares, F., Aranda I. & Sánchez-Gómez, D. (2004). La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. *Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante*. Pp. 335-369. Ministerio del Medio Ambiente EGRAF. Madrid. ISBN: 84-8014-552-8.
- Vallejo, V. R. & Alloza, J. A. (1998). The restoration of burned lands: the case of eastern Spain En: *Large Forest Fires*. (Moreno J.M. Ed) Bachkuys publ., Lieden pp. 91-108. Retrieved from: <https://www.researchgate.net/publication/233560360>
- Vilagrosa, A., Hernández, E. I., Luis, V. C., Cochard, H., & Pausas J. G. (2014). Physiological differences explain the co-existence of different regeneration strategies in Mediterranean ecosystems. *New Phytologist* 201(4):1277-1288. <http://doi.org/10.1111/nph.12584>
- Vilagrosa, A., J. Bellot, Vallejo, V. R., & Gil-Pelegrin, E. (2003). Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal of Experimental Botany* 54: 2015-2024. <http://doi.org/10.1093/jxb/erg221>
- Wright, I.J., Reich, P. B., Westoby, M., Ackerly, D. D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., F. Chapin, S., Cornelissen, J. H. C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P. K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B. B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J. J., Navas, M. L., Niinemets, Ü., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V., Roumet, I. C., Thomas, S. C., Tjoelker, M. G., Veneklaas, E. J., & Villar. R. (2004). *The world-wide leaf economics spectrum*. *Nature* 428: 821-827. Retrieved from: <https://www.nature.com/articles/nature02403>

Recurso en línea 3.2.1. Conductancia estomática (Gs), Fotosíntesis (A), Eficiencia en el Uso del Agua (IWUE) en cada campaña de medición en las parcelas experimentales en campo. Resultados ANOVA bifactorial; media±error estándar; N=6; *test a posteriori Diferencia Honestamente Significativa de Tukey* (DHS de Tukey); valor seguido de la misma letra indica que no existen diferencias significativas.

Variable fisiológica	Factor	Período			
		Mayo 2011	Julio 2011	Noviembre 2011	Junio 2012
<b>Gs (mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>)</b>					
Especie	<i>Au</i>	0.10±0.01	0.07±0.01	0.15±0.03ab	0.03±0.00b
	<i>Ra</i>	0.08±0.02	0.08±0.01	0.22±0.04 <sup>a</sup>	0.04±0.00ab
	<i>Qi</i>	0.08±0.02	0.08±0.01	0.15±0.02ab	0.05±0.00a
	<i>Qf</i>	0.05±0.01	0.07±0.01	0.13±0.02ab	0.04±0.00ab
	<i>Fo</i>	0.14±0.02	0.06±0.01	0.10±0.02b	0.03±0.00b
	<i>Ag</i>	0.10±0.01	0.08±0.01	0.10±0.02b	0.03±0.00b
Valor F		1.8942	1.0464	<b>2.5788*</b>	<b>3.5248**</b>
Valor p		0.10188	0.39479	0.03095	0.00559
Tratamiento	AD	0.07±0.01	0.07±0.00	0.11±0.02	0.03±0.00b
	MD	0.09±0.02	0.08±0.00	0.17±0.02	0.03±0.00b
	BD	0.11±0.02	0.07±0.00	0.14±0.02	0.05±0.00a
Valor F		1.9992	0.5130	0.07196	<b>6.1390**</b>
Valor p		0.14061	0.60019	2.7014	0.00301
Tratamiento x Especies					
Valor F		0.5036	0.7552	0.6953	0.42615
Valor p		0.88333	0.67092	0.72620	0.1288
<b>A (μmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>)</b>					
Especie	<i>Au</i>	4.84±1.15	5.24±0.57	6.56±1.17b	3.50±0.55
	<i>Ra</i>	4.27±1.18	6.41±1.38	10.18±1.20 <sup>a</sup>	4.25±0.57
	<i>Qi</i>	3.63±1.15	4.19±0.43	7.82±1.17ab	4.85±0.55
	<i>Qf</i>	2.72±1.15	3.77±0.57	6.11±1.17b	3.72±0.55
	<i>Fo</i>	6.44±1.15	4.84±0.57	5.44±1.20b	3.91±0.55
	<i>Ag</i>	6.84±1.15	5.37±0.67	5.28±1.24b	3.49±0.55
Valor F		1.9376	1.5347	<b>2.3515*</b>	0.50698
Valor p		0.09460	0.18572	0.04652	0.8657
Tratamiento	AD	3.62±0.08	4.67±0.45	5.30±0.83	3.01±0.36b
	MD	5.00±0.08	5.28±0.67	7.65±0.83	3.67±0.36b
	BD	5.84±0.08	4.92±0.48	7.90±0.88	5.22±0.37a
Valor F		1.8319	0.72564	2.8642	<b>9.4263***</b>
Valor p		0.16523	0.3217	0.06167	0.00017
Tratamiento x Especies					



VALOR F	0.2298	0.5180	1.0116	0.55319
Valor p	0.99264	0.87334	0.44054	0.8818

---

**IWUE ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2}\text{s}^{-1}$  /mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>)**

		<i>Au</i>		46.76±5.63ab	84.65±7.48
Especie	<i>Ra</i>	33.59±5.79b	80.50±7.69	54.09±10.14	111.36±9.36
	<i>Qi</i>	34.20±5.63b	61.34±7.48	56.45±9.85	86.16±9.09
	<i>Qf</i>	28.28±5.63b	64.06±7.48	64.16±9.85	93.13±9.09
	<i>Fo</i>	49.26±5.63ab	90.90±7.48	72.24±10.14	117.66±9.09
	<i>Ag</i>	61.73±5.63a	72.21±7.48	60.16±10.45	106.56±9.09
VALOR F		<b>4.9141***</b>	2.4561	0.4300	1.7643
Valor p		0.00045	0.03824	0.82673	0.12697
Tratamiento	AD	38.48±4.33	76.43±5.51	55.20±6.90	90.95±6.41b
	MD	46.81±4.33	75.21±5.51	61.36±6.90	109.94±6.41a
	BD	41.85±4.40	75.05±5.59	66.14±7.31	112.10±6.50a
VALOR F		0.9324	0.0185	0.5973	<b>3.2728*</b>
Valor p		0.39685	0.98165	0.55221	0.04184
Tratamiento x Especies					
Valor F		0.6765	0.7089	0.7726	0.2359
Valor p		0.74339	0.71390	0.65457	0.99183

---

Recurso en línea 3.2.2. Fluorescencia al alba (*Fv/Fm pd*) cada campaña de medición en las parcelas experimentales en campo. Resultados ANOVA bifactorial; media±error estándar; N=6; *test a posteriori Diferencia Honestamente Significativa de Tukey* (DHS de Tukey); valor seguido de la misma letra indica que no existen diferencias significativas.

		Período				
		Mayo 2011	Julio 2011	Ago 2011	Nov 2011	Junio 2012
<b>Fv/Fm PD</b>						
Especie	<i>Au</i>	0.76±0.01a	0.76±0.00	0.79±0.01a	0.74±0.04a	0.80±0.00
	<i>Ra</i>	0.73±0.01a	0.75±0.00	0.79±0.01a	0.75±0.04a	0.80±0.00
	<i>Qi</i>	0.76±0.01a	0.76±0.00	0.78±0.01a	0.75±0.04a	0.80±0.00
	<i>Qf</i>	0.68± 0.01b	0.75±0.00	0.78±0.01ab	0.67±0.04ab	0.82±0.00
	<i>Fo</i>	0.67±0.01b	0.76±0.00	0.72±0.01b	0.57±0.04ab	0.80±0.00
	<i>Ag</i>	0.73±0.01a	0.74±0.00	0.72±0.01b	0.53±0.04b	0.79±0.00
Valor F		<b>9.2786***</b>	0.8422	<b>2.7618*</b>	<b>4.5018***</b>	1.5881
Valor p		0.00000	0.52287	0.02217	0.00097	0.17020
Tratamiento	AD	0.75±0.01a	0.76±0.00	0.80±0.01a	0.70±0.03	0.81±0.00
	MD	0.72±0.01ab	0.75±0.00	0.74±0.01b	0.66±0.03	0.80±0.00
	BD	0.70±0.01b	0.75±0.00	0.75±0.01b	0.65±0.03	0.80±0.00
Valor F		<b>4.7811*</b>	1.6550	<b>4.8166**</b>	0.5380	2.9471
Valor p		0.01032	0.19608	0.00999	0.58555	0.05689
Tratamiento x Especies						
Valor F		1.27	1.7460	0.3651	1.1553	0.6194
Valor p		0.12694	0.08269	0.95843	0.33196	0.79361



### **3.3. Posibles interacciones de competencia/facilitación entre los pinos y las especies introducidas bajo el pinar**

Manuscrito en preparación para ser enviado a la revista Forest Ecology Managment

## Posibles interacciones de competencia/facilitación entre los pinos y las especies introducidas bajo el pinar

### Resumen

En ecosistemas mediterráneos las especies se encuentran limitadas a la disponibilidad de agua durante el verano cuando la temperatura y la luz son máximas, lo que promueve procesos de competencia o facilitación para el establecimiento de nuevas especies. En estas condiciones se plantaron quinientas plantas rebrotadoras de *Arbutus unedo*, *Rhamnus alaternus*, *Quercus ilex*, *Quercus faginea*, *Fraxinus ornus* y *Acer granatense*, en tres sitios con tres densidades de pinar: alta (AD), media (MD) y baja (BD) en Valencia, España. El objetivo fue evaluar el efecto de la proximidad de los pinos sobre el crecimiento (RGR) y el área específica foliar (SLA) de los plantones, para determinar la interacción de facilitación o competencia entre cada especie y el pino más cercano, en las condiciones micro climáticas generadas por cada densidad de pinar. Se analizó la tasa de crecimiento relativo (RGR) en altura y diámetro a través de tres clases de distancia, determinadas de acuerdo con la cercanía de las plantas a los pinos: 0-1.4, 1.5-3 y >3 m. La RGR en altura fue similar en las tres clases de distancia, mientras que RGR en diámetro fue mayor en la clase de distancia 3 para *A. unedo* y *R. alaternus*, seguida de *F. ornus* y *A. granatense*, finalmente *Q. ilex* y *Q. fagunea*. La cercanía de los pinos facilitó el crecimiento en altura de plantas mientras que la distancia a estos, promovió el crecimiento de la raíz para mayor absorción de agua y nutrientes. El área específica foliar (SLA) fue regulada por la densidad de pinar y por las clases de distancia. De manera genérica, las especies caducifolias desarrollaron mayor SLA que las perennifolias en las tres clases de distancia.

Palabras clave: competencia o facilitación, área específica foliar, especies forestales, distancia al pino.

### 3.3.1 Introducción

Los bosques homogéneos con poca diversidad de especies que se encuentran bajo severas condiciones climáticas y alto riesgo de fuegos forestales, pueden ser considerados como altamente vulnerables al cambio climático (Vallejo & Alloza 1998; Pausas & Vallejo 1999). De acuerdo con las proyecciones de cambio climático muchas regiones del mundo, incluyendo la Cuenca Mediterránea, experimentarán severas sequías y cambios en el régimen de fuegos forestales, como consecuencia de un incremento en la sequía y eventos extremos como olas de calor (IPCC 2012). En el sureste de España se prevé la reducción de la precipitación con un cambio en los patrones de precipitación anual y la disponibilidad de agua para las plantas (Brunet *et al.* 2009; Bladé & Castro Diez 2010). En la Cuenca Mediterránea, uno de los ecosistemas más comunes son los bosques de pino carrasco (*Pinus halepensis* Mill.). En España, y en particular en la región Valenciana, prevalecen las comunidades monoespecíficas de pino carrasco (Maestre & Cortina 2004). Para aumentar la resiliencia de estos bosques de pino carrasco monoespecíficos, se han establecido diferentes programas para la mejora de la cubierta vegetal (Ortuño 1990; Lloret & Vilá 2003; Maestre & Cortina, 2004).

El pino carrasco es una especie adaptada al fuego que se regenera por medio de semillas; la germinación de sus semillas y el establecimiento precoz de las plántulas después del fuego son condiciones que favorecen su adaptación al mismo (Daskalaku & Thanos 1996). Por otro lado, algunas especies tienen la capacidad de sobrevivir después del fuego a través de rebrote (Keely & Bond 1997), ya sea por la presencia de una corteza protectora que lo puede favorecer (Vines, 1968) o por la protección que ofrece el suelo a rizomas, bulbos o raíces (McLean, 1968; Flinn & Wein 1977). La presencia de especies arbustivas y arbóreas rebrotadoras en masas monoespecíficas de pino carrasco, incrementará la resiliencia de estas comunidades a fuegos recurrentes (Ferran *et al.* 1992; Kelly *et al.* 2012; Vallejo & Alloza 2015). Así mismo, se ha propuesto que la introducción de especies forestales nativas podrán facilitar la sucesión en áreas degradadas por incendios forestales (Vallejo, 2009; Gavinet *et al.* 2015; Granados *et al.* 2016).

Las especies mediterráneas han desarrollado estrategias para responder de manera diferenciada a la escasez de agua, alta radiación solar y alta temperatura durante el verano, lo que en conjunto resulta ser trascendental en la estructura y dinámica de estas comunidades (Castro *et al.* 2004; Gómez-Aparicio *et al.* 2004). En los ecosistemas, la luz y

el agua varían e interactúan simultáneamente, por lo que la respuesta de las plantas a la luz y su tolerancia a la sombra dependerá de la disponibilidad de agua. Por lo tanto, las estrategias de las plantas para hacer frente a condiciones de sombra y de sequía pueden producir compensaciones morfológicas y fisiológicas como respuesta a estas variaciones (Smith & Huston 1989; Valladares 2004). Esta hipótesis sostiene que las plantas conforman compensaciones entre la tolerancia a la sombra y la tolerancia a la sequía. Sin embargo, en ambientes semiáridos la sombra puede favorecer una relación de facilitación, bajo condiciones de restricción de agua (Pugnaire et al 1996; Castro et al 2004).

Desde esta perspectiva, se ha observado que la sombra tiene un efecto positivo sobre las plantas en áreas mediterráneas (Cuesta et al. 2010; Andivia et al. 2017); aunque también se ha observado un efecto de competencia (Tielborger & Kadmon 2000; Maestre & Cortina 2004; Maestre et al. 2005). El incremento en el crecimiento o la supervivencia de las plantas bajo la sombra, es un fenómeno general en el cual el efecto de la facilitación puede ser más importante en sitios y en años secos (Soliveres & Maestre 2014). Algunas de las principales funciones que en condiciones de estrés pueden verse afectadas por la sombra son: 1) la transpiración que disminuye con el aumento del déficit de presión de vapor, y que por efecto de la sombra se puede ver atenuada; 2) la disponibilidad de agua en el suelo que aumenta con la disminución de la evaporación directa del suelo; 3) se mejoran las condiciones en el crecimiento de la raíz al ayudar a estabilizar la estructura del suelo por un aumento en la humedad y una disminución de su temperatura y 4) la luz tiene una función importante en la regulación estomática y en el flujo de agua y por lo tanto el estrés por agua (Holmgren et al. 1997; Fagundes et al. 2018). Por otro lado, la sensibilidad de los estomas a los cambios en el déficit de presión de vapor y el potencial de agua en el suelo en ambientes de alta iluminación, permite que las plantas tengan un mayor control en la pérdida de agua por transpiración, que en ambientes de sombra (Mendes et al. 2001). En la mayoría de los ambientes, la alta radiación puede causar fotoinhibición y sobrecalentamiento de la superficie foliar, comprometiendo la supervivencia de la planta (Rodríguez-Calcerrada et al. 2008). Por lo tanto, la presencia de un dosel que reduzca la radiación directa puede favorecer el establecimiento de las plantas. Sin embargo, los árboles pueden competir por recursos como agua y nutrientes con las plántulas introducidas.

En general, los posibles patrones de respuesta que han sido descritos como respuesta a la interacción entre sombra y sequía son: 1) bajo cubierta las plantas son más susceptibles a

la sequía ya que desarrollan hojas menos adaptadas a una regulación estomática eficiente (Smith & Huston 1989); las plantas con hojas grandes con frecuencia pueden regular con menor eficiencia la pérdida de agua y, si las condiciones de sequía aumentan en tiempo o intensidad pueden verse afectadas debido al fenómeno denominado “sombra seca” (Valladares, 2001); 2) bajo cubierta las plantas son menos susceptibles a la sequía en un marco conceptual que indica que la facilitación aumenta homogéneamente con el nivel de estrés, y que se conoce como hipótesis del gradiente de estrés (SGH; Bertenss & Callaway, 1994). La hipótesis predice que la interacción de facilitación o competencia, cambia a través del gradiente de estrés. Sin embargo, algunos estudios sugieren que en condiciones muy estresantes, la competencia puede ser la interacción dominante para las plantas (Maestre & Cortina 2005; Koyama & Tzuyuzaki 2013). En última instancia, la respuesta de la interacción entre plantas a los cambios ambientales es debida a diferentes factores tales como el estado ontogénico de las especies interactuantes (Soliveres et al. 2010); los requerimientos ecológicos de las especies interactuantes (Liancourt et al. 2005); y la presencia de diferentes factores de estrés (Baumeister & Callaway 2006; Soliveres et al. 2012). Todos estos atributos modulan la interacción planta-planta a través de gradientes ambientales.

En este contexto, es importante conocer la respuesta de especies forestales rebrotadoras, que han sido introducidas bajo el dosel de pinares con radiación, temperatura, evapotranspiración y humedad diferentes ocasionadas por el gradiente de densidad de los árboles. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la proximidad de los pinos sobre el crecimiento y la supervivencia de los plantones, para determinar la interacción de facilitación o competencia que prevalece entre cada especie y el pino más cercano, en las condiciones micro climáticas generadas por cada densidad de pinar.

### **3.3.2. Materiales y Métodos**

#### **Área experimental**

El área experimental corresponde a una repoblación antigua de pino carrasco localizada en La Hunde, Valencia, a 30° 7' N; 1° 13' W y 39° 6' N; 1° 11' W (Sureste de España) en clima seco Meso Mediterráneo. La precipitación promedio es de 480 mm anuales que se registran fundamentalmente durante primavera y otoño, la temperatura media es de 13.7°C (Pérez-Cueva 1994) a 600 m. Los suelos son francos calizos poco profundos con pedregosidad



entre 27 y 49 por ciento. La vegetación del sotobosque está compuesta por especies de arbustos esclerófilos como *Rosmarinus officinalis* L., *Juniperus oxycedrus* L. y *Ulex parviflorus* Pour., también se encuentran especies de *Brachypodium retusum* Pers. Beauv., *Lagurus ovatus* L. y *Thymus vulgaris* L.; en algunas áreas hay individuos dispersos de *Quercus ilex* L. subsp. *ballota*.

### **Diseño experimental**

Los tratamientos experimentales se basaron en la densidad de pinos: alta (AD), media (MD) y baja (BD). Se delimitaron nueve parcelas experimentales en tres sitios diferentes: El Aljibe (39 ° 09 'N; 1 ° 18' W), El Lobo (39 ° 12 'N, 1 ° 23' O) y El Mojón (39 ° 12 'N, 1 ° 22' O). Quince plántulas de especies nativas rebrotadoras de madroño (*Arbutus unedo* L.), aladierno (*Rhamnus alaternus* L.), carrasca (*Quercus ilex ballota* L.), quejigo (*Quercus faginea* L.), fresno (*Fraxinus ornus* L.) y arce (*Acer granatense* Boiss.) se plantaron en cada parcela experimental en febrero de 2011, en hoyos de 40X40X40 cm hechos con una pequeña retroexcavadora.

### **VARIABLES AMBIENTALES**

La precipitación diaria (mm) y la temperatura diaria del aire (°C) se registraron en la estación meteorológica del vivero La Hunde (Monte U.P.154 "La Hunde" T.M. Ayora Generalitat Valenciana). Una descripción detallada de las condiciones micro climáticas de las parcelas experimentales como déficit de presión de vapor (VPD, KPa) calculada a partir de los datos de temperatura (T,°C) y humedad relativa (H,%), la humedad del suelo (%), el contenido volumétrico de agua (relación SM: FC) y la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) se pueden obtener en Gavinet et al. (2015) y Granados et al. (2016).

### **Relación de las especies introducidas y la proximidad de los pinos**

Para determinar el papel de los procesos de competencia o facilitación, se evaluó el efecto de la cercanía de los pinos a cada plántula de cada especie en las parcelas de AD, MD y BD. La distancia de las plantas a cada pino se definió en 3 clases de distancia: clase 1 (distancia entre 0 - 1.5 m), clase 2 (1.51 - 3 m) y clase 3 (> 3.01 m).

### **Crecimiento de las especies**

El crecimiento de las plantas se monitoreó en relación con la distancia de los pinos, en función de las clases de distancia. Se eligieron 10 plantas por especie, clase de distancia y

sitio, en total 510 plantas distribuidas en las parcelas de AD, MD y BD. La tasa de crecimiento relativo (RGR:  $(\ln P2 - \ln P1) / (t2 - t1)$ ) en altura y diámetro del tallo (Hunt et al. 2002), se registró en el verano de 2016. El área específica foliar (SLA) se determinó en las mismas plantas en el verano de 2012. El área de las hojas se determinó mediante fotografía sobre papel milimetrado, posteriormente, de la misma hoja se colectaron tres discos con ayuda de un sacabocados, se secaron en un horno a 65°C por dos días y se pesaron en balanza de precisión. El área específica foliar se estimó como el cociente del área de la hoja y el peso seco de tres discos de hoja, considerando el tamaño del diámetro de cada disco de hoja (0.7 mm).

### 3.3.3. Resultados

#### **Efecto de la densidad del pinar en el crecimiento de las plantas desde su implantación**

El análisis de la tasa de crecimiento relativo (RGR) tanto en altura como en diámetro basal de las plantas se realizó al final del período de estudio, tras 5 años en campo. El análisis de RGR en altura por tratamiento mostró diferencias significativas entre densidades ( $F = 9.2164$ ,  $p < 0.001$ ), siendo mayor en las parcelas MD y AD, y menor en las parcelas BD (Tabla 3.3.1). También se encontraron diferencias significativas entre las especies en la RGR en altura, ( $F = 17.289$ ,  $p < 0.001$ ). En promedio las especies con mayor RGRalt fueron *R. alaternus*, *F. ornus* y *A. granatense*, mientras que para *A. unedo*, *Q. ilex* y *Q. faginea* los valores obtenidos fueron menores (Tabla 3.3.1). El análisis de RGR en diámetro también se vio afectado por la densidad del pinar con diferencias significativas, ( $F = 11.807$ ,  $p < 0.001$ ), siendo mayor en las parcelas BD y MD que en las parcelas AD (Tabla 3.3.1). El análisis de RGR en diámetro por especie mostró de nuevo diferencias significativas entre especies ( $F = 22.824$ ,  $p < 0.001$ ), con un mayor crecimiento en promedio en *R. alaternus* y *F. ornus*, y el más bajo fue *Q. faginea* (Tabla 3.3.1).

Tabla 3.3.1. RGR en altura y diámetro basal por densidades de pino y tratamientos de especies. Media  $\pm$  SE. Resultados ANOVA HSD de Tukey; \*  $p < 0.05$ , \*\*  $p < 0.01$ , \*\*\*  $p < 0.001$ ; los valores seguidos de la misma letra no son significativamente diferentes en  $p < 0.05$ . Abreviaturas: BD, parcelas de baja densidad; MD, parcelas de densidad media; AD, parcelas de alta densidad.

Densidad de pinos	RGR Altura año-1	RGR Diámetro año -1
AD	0.049 $\pm$ 0.002a	0.033 $\pm$ 0.001b
MD	0.053 $\pm$ 0.002a	0.042 $\pm$ 0.002a
BD	0.039 $\pm$ 0.001b	0.043 $\pm$ 0.001a
Valor F	9.2164**	11.807***
Especies	RGR Altura año-1	RGR Diámetro año-1
A. unedo	0.044 $\pm$ 0.002b	0.052 $\pm$ 0.002a
R. alaternus	0.059 $\pm$ 0.002a	0.050 $\pm$ 0.002a
Q. ilex	0.039 $\pm$ 0.002b	0.028 $\pm$ 0.002b
Q. faginea	0.023 $\pm$ 0.003c	0.026 $\pm$ 0.003b
F. ornus	0.058 $\pm$ 0.002a	0.034 $\pm$ 0.002b
A. granatense	0.050 $\pm$ 0.003ab	0.031 $\pm$ 0.003b
Valor F	17.289***	22.8.24***

### **Análisis del crecimiento y SLA en procesos de competencia y/o facilitación según la cercanía al pino más cercano.**

El análisis para la RGR en altura en cada densidad de pino y las clases de distancia, mostró que en ninguna densidad de pinos hay diferencias entre las clases de distancia (Figura 3.3.1). Por lo tanto, la RGR en altura no se vio afectada por la cercanía de los pinos. Del mismo modo es importante notar que en el caso de las parcelas de AD, no hay plantas en la clase de distancia 3. Por otro lado, aunque no hay diferencias significativas, en cada densidad y las clases de distancia, se podría sugerir que las plantas que se encuentran en MD en la clase de distancia 3 recibieron cierto beneficio de estar más alejadas del pino, sin embargo la variabilidad de los resultados es alta y el test estadístico no discrimina diferencias significativas.

Tabla 3.3.2. Valor F y significancia estadística de la RGR en altura, RGR en diámetro basal y SLA por cada densidad de pinos e interacción con las tres clases de distancia. AD = Alta Densidad; MD = Media Densidad; BD = Baja. DHS de Tukey, \*P < 0.05, \*\*P < 0.01, \*\*\*P < 0.001. <sup>(1)</sup>Tendencia (P < 0.1).

Factor	RGR Altura año <sup>-1</sup>	RGR Diámetro año <sup>-1</sup>	SLA cm <sup>2</sup> g <sup>-1</sup>
<b>Densidad</b>			
AD			
Valor F	0.0738	0.2158	0.9729
MD			
Valor F	1.9934	0.0731	2.9422 <sup>(1)</sup>
BD			
Valor F	0.3594	0.6295	0.6589
<b>Especie</b>			
<i>Arbutus unedo</i>			
Valor F	1.9603	0.1126	4.7971*
<i>Rhamnus alaternus</i>			
Valor F	2.5441	0.0549	4.1457*
<i>Quercus ilex</i>			
Valor F	2.9673 <sup>(1)</sup>	1.8658	5.2035**
<i>Quercus faginea</i>			
Valor F	2.0744	3,7827*	1.6376
<i>Fraxinus ornus</i>			
Valor F	2.6911	0.1463	8.0787***
<i>Acer granatense</i>			
Valor F	1.9361	4.1649	5.5451**

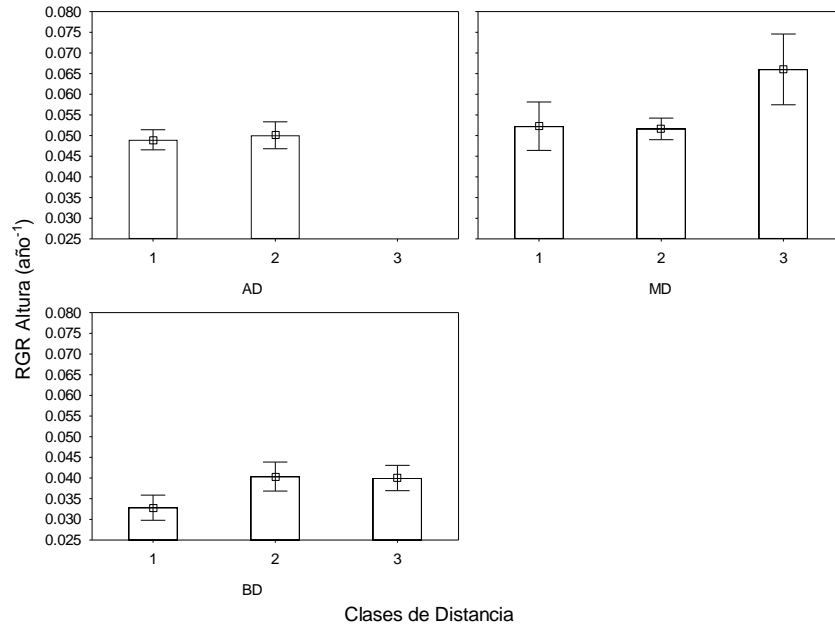


Figura 3.3.1. ANOVA de un factor para la tasa de crecimiento en altura (RGR Altura) en función de la cercanía de los pinos. 1 = Clase de Distancia 1; 2 = Clase de Distancia 2; 3 = Clase de Distancia 3. AD = Alta Densidad; MD = Media Densidad; BD = Baja Densidad. Las barras indican el error estándar de la media.

El análisis de la RGR en diámetro tampoco mostró diferencias entre las clases de distancia y la densidad de los pinos (Figura 3.3.2). Del mismo modo que el RGR en altura, es posible afirmar que en general para cada densidad, el crecimiento en diámetro de las especies está afectado de manera similar, independientemente del pino más cercano al que se encontraba cada planta.

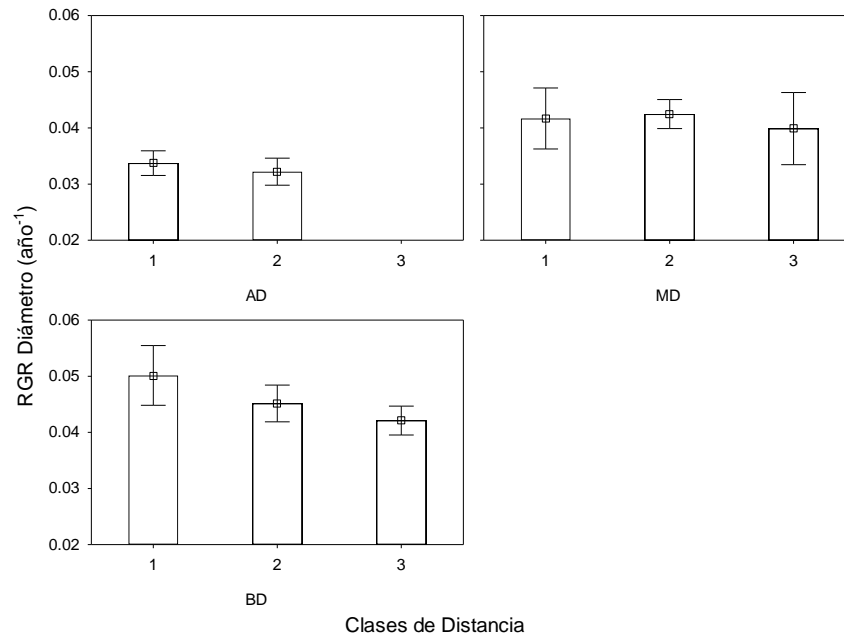


Figura 3.3.2. ANOVA de un factor para la tasa de crecimiento en diámetro (RGR Diámetro) en función de la cercanía de los pinos. 1 = Clase de Distancia 1; 2 = Clase de Distancia 2; 3 = Clase de Distancia 3. AD = Alta Densidad; MD = Media Densidad; BD = Baja Densidad. Las barras indican el error estándar de la media.

El análisis de la RGR en altura para cada especie y la distancia al pino más cercano, reveló que la cercanía de los pinos afectó a cada especie de forma similar. No se observaron diferencias entre las especie y las clases de distancia en: *A. unedo*; *Q. faginea*; *A. granatense*. En el caso de *Q. ilex*, se muestra cierta tendencia a una mayor RGR en la altura de la especie en la clase de distancia 1, con respecto a las clases de distancia 3 y 2 (Figura 3.3.3). Este efecto cualitativo también ocurre con *R. alaternus* y *F. ornus* que sin llegar a ser significativo parece mostrar una tendencia a tener una mayor altura con la proximidad al pino en el caso de *R. alaternus* y el efecto contrario en el caso de *F. ornus* (Figura 3.3.3).

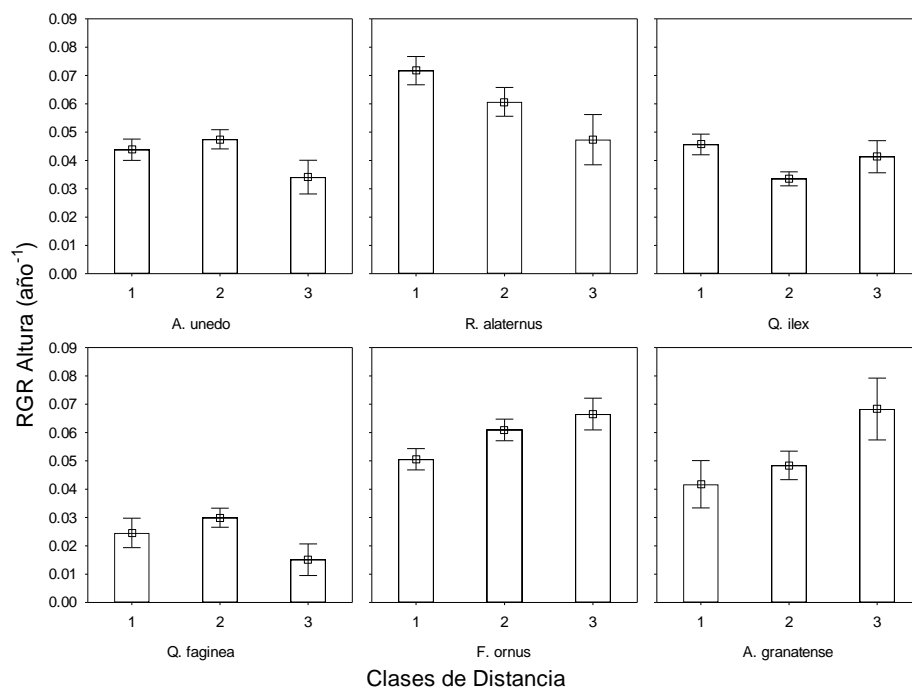


Figura 3.3.3. ANOVA de un factor para la tasa de crecimiento en altura (RGR Altura) de las especies en función de la cercanía de los pinos. Las barras indican el error estándar de la media. 1 = Clase de Distancia 1; 2 = Clase de Distancia 2; 3 = Clase de Distancia 3.

Para la RGR en diámetro, las especies más sensibles a la cercanía de los árboles fueron *Q. faginea* y *A. granatense* con menor RGR en la clase de distancia 1 y mayor en la clase de distancia 3 en ambos casos, con diferencias significativas ( $F = 3.7827$ ,  $p < 0.05$ ) y ( $F = 4.1649$ ,  $p < 0.05$ ), respectivamente (Figura 3.3.4). En ambas especies es posible que las plantas más cercanas a los pinos hayan experimentado competencia por el agua, los nutrientes o ambos.

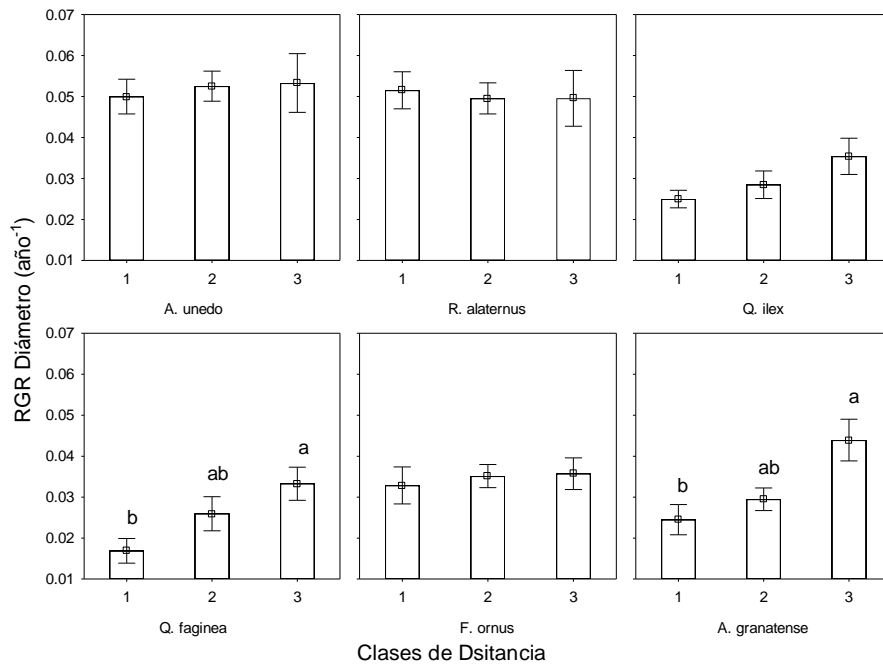


Figura 3.3.4. ANOVA de un factor para la tasa de crecimiento en diámetro (RGR Diámetro) de las especies en función de la cercanía de los pinos. 1 = Clase de Distancia 1; 2 = Clase de Distancia 2; 3 = Clase de Distancia 3. Las letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (HDS de Tukey,  $p < 0.05$ ) Las barras indican el error estándar de la media.

El análisis del SLA para cada densidad y clases de distancia no reveló diferencias significativas para ninguna clase de distancia en BD (Figura 3.3.5), lo que indicaría que la distancia a los pinos no afectó de manera significativa el desarrollo del SLA de las especies globalmente. Sin embargo, en las parcelas de MD existe una tendencia hacia diferencias marginales entre la clase de distancia 3 con la 1 y 2, sugiriendo un posible efecto positivo para el desarrollo de las hojas de las especies en las parcelas con media densidad de pinos.



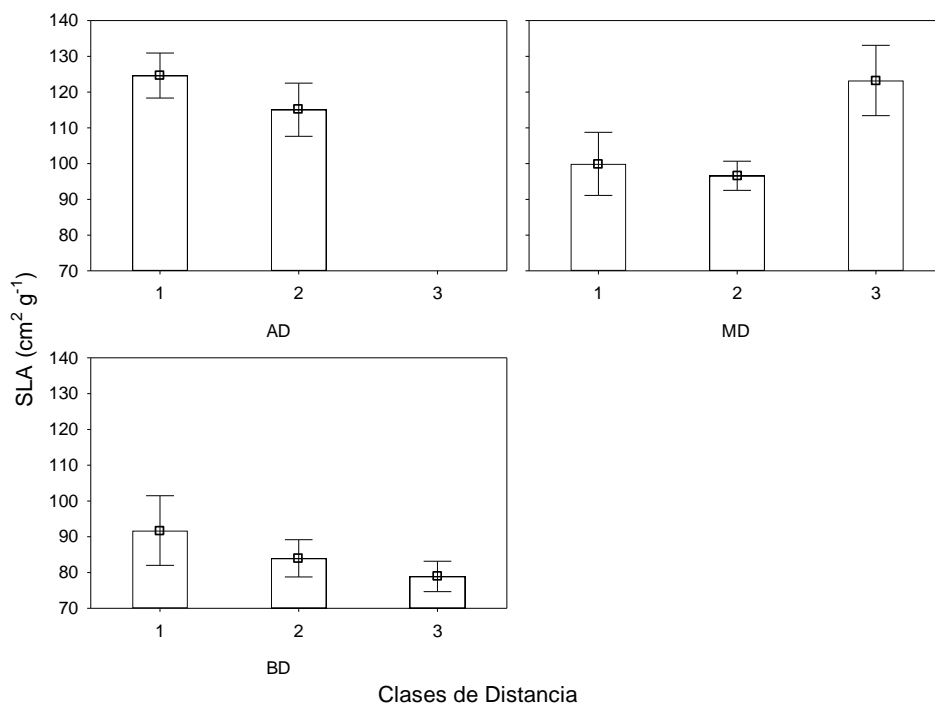


Figura 3.3.5. ANOVA de un factor para el área específica foliar (SLA) para cada densidad en función de la cercanía de los pinos. 1 = Clase de distancia 1; 2 = Clase de distancia 2; 3 = Clase de distancia 3. AD = Alta Densidad; MD = Media Densidad; BD = Baja Densidad. Las barras indican el error estándar de la media.

El área específica foliar de todas las especies, excepto *Q. faginea*, se vio afectada por la distancia a los pinos. De forma general, la proximidad al pino produjo mayores valores de SLA (Figura 3.3.6). *A. unedo* mostró diferencias significativas entre la clase de distancia 1 y las clases de distancia 2 y 3. *R. alaternus* tuvo diferencias en las tres clases de distancia. *Q. ilex*, *F. ornus* y *A. granatense* tuvieron diferencias significativas entre la clase de distancia 1 con la 2 y la 3 (Figura 3.3.6).

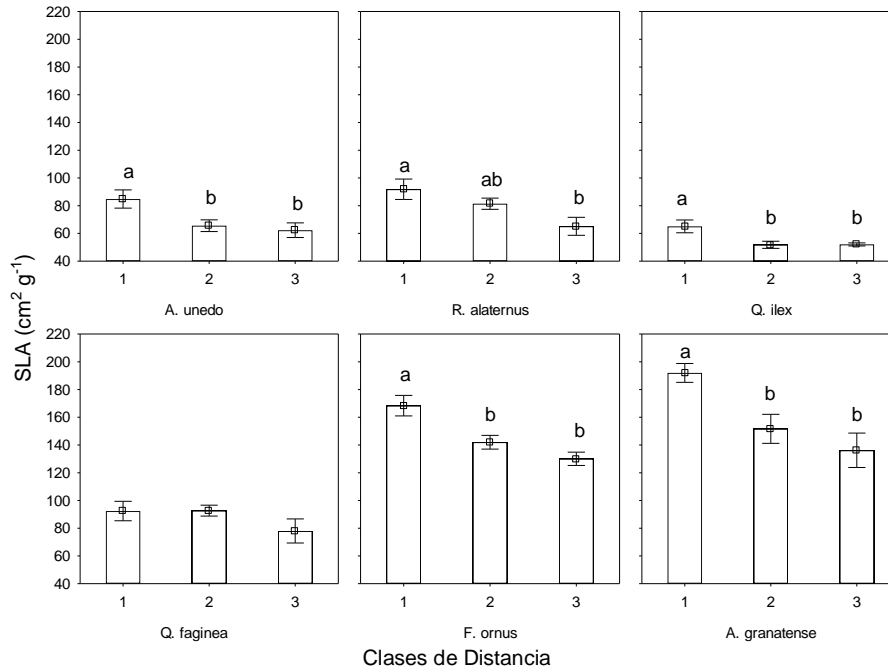


Figura 3.3.6. ANOVA de un factor para el área específica foliar (SLA) de las especies en función de la cercanía de los pinos. 1 = Clase de Distancia 1; 2 = Clase de Distancia 2; 3 = Clase de Distancia 3. Las letras distintas indican diferencias estadísticas entre tratamientos (HDS de Tukey,  $p < 0.05$ ). Las barras indican el error estándar de la media.

### 3.3.4. Discusión

En el clima mediterráneo, las respuestas de las plantas a la luz y a la sombra están limitadas por las condiciones hídricas, por lo que podemos esperar compromisos estratégicos de las plantas para operar en estos ambientes. En estudios anteriores en estos mismos bosques (Granados et al. 2016) se observó que la densidad del pinar modificó las condiciones microclimáticas de las parcelas experimentales (p. ej., radiación solar, humedad del suelo, VPD). En los ecosistemas mediterráneos, las plántulas introducidas bajo el dosel de las comunidades forestales podrían verse afectadas por la disponibilidad de agua y de sombra, cuya interacción afectaría a la supervivencia y desarrollo de las plantas introducidas (Valladares, 2005; Gómez-Aparicio et al. 2005; Callaway, 2007; Rodríguez-Calcerrada et al. 2008; Gavinet et al. 2015). Después de cinco años de haber sido introducidas, los resultados de este estudio muestran que las plantas resultaron beneficiadas de manera diferenciada por las condiciones microclimáticas creadas por el dosel denso de los árboles

pero pocos efectos se observan por la proximidad al pino más cercano con el que se podrían desarrollar relaciones más específicas de competencia/facilitación.

El análisis de la RGR de las especies al final del período de estudio cinco años tras la plantación (julio de 2016), mostró que en general la RGRalt bajo diferentes densidades de dosel fue mayor en MD y AD que en BD. La tendencia de la respuesta fue similar a la observada previamente en 2013 (Granados et al., 2016), ya que en este período el mayor crecimiento registrado fue en las parcelas de AD y las diferencias también se encontraron con las parcelas de BD. El resultado registrado estará relacionado con un alargamiento del tallo, fenómeno que ocurre en condiciones de poca iluminación para hacer eficiente la captura de luz y el balance de carbono (Valladares et al. 2008). Para el periodo 2011-2016, las plantas mostraron una tendencia hacia una mayor RGR en altura en las parcelas de MD, sin embargo no se encontraron diferencias significativas entre MD y AD, lo que podría sugerir procesos de adaptación al gradiente de sombra registrado en las diferentes densidades de pino, en función de la densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )  $135.4 \pm 9.4$  (AD),  $300.3 \pm 17.4$  ( MD) y  $547.5 \pm 27.7$  (BD) y de humedad en estas parcelas.

El análisis de la RGRdiam registrado en el periodo 2011-2016 mostró también la misma respuesta que durante el período de crecimiento en 2011-2013 (Granados et al., 2016). En este caso, la mayor RGR se encontró en las parcelas de BD, con diferencias significativas sólo entre BD y AD. El mayor crecimiento en diámetro en condiciones de baja densidad de árboles (parcelas BD), puede ser el resultado de un mayor desarrollo de la raíz que resulta crucial para asegurar el abastecimiento de agua, y que se ha observado previamente como una respuesta de las plantas en condiciones de déficit hídrico (Chirino et al. 2008; Grossnickle, 2012).

En relación con el efecto de la distancia al pino más cercano, la RGRalt y el RGRdiam no mostraron diferencias significativas entre clases de distancia para cada una de las densidades analizadas. Sin embargo, los plantones en las parcelas de MD mostrarían una muy ligera tendencia a un mayor RGRalt en la clase de distancia 3, y crecieron menos en todas las clases de distancia en BD. Es posible que en las parcelas de MD, las plantas en la clase de distancia 3, experimentaron el efecto positivo de la sombra del dosel, sin la competencia por luz como parece ser la tendencia en las parcelas de AD. En el caso de la

RGRdiam, las especies perennifolias *A. unedo* y *R. alaternus* y en menor grado *Q. ilex* alcanzaron altas tasas de crecimiento en las tres clases de distancia; lo que podría estar relacionado con el hecho de que las especies tolerantes a la sequía típicamente asignan una gran fracción de su biomasa a las raíces, como ha sido reportado para plántulas de *Q. suber* creciendo en condiciones controladas en invernadero (Aranda et al. 2007) y para plántulas de *Fagus sylvatica* en el claro de los bosques de Hayedo del Montejo (Robson et al. 2009). Sin embargo, la variabilidad entre especies no permitió observar un efecto genérico significativo en ninguna de las dos variables estudiadas en función de la densidad del pinar.

Cuando los datos se analizaron por especies, la RGRalt fue de nuevo similar para cada clase de distancia a la que se encontraban. Sin embargo, se observó una cierta tendencia en algunas especies. En el caso de *Q. ilex*, se observó una tendencia a una mayor RGRalt en la clase de distancia 1, lo que podría sugerir una cierta disposición de la especie a estar favorecida por la cercanía de los pinos. *R. alaternus* tuvo valores algo más altos en la clase de distancia 1. En *F. ornus* y *A. granatense* ocurrió algo similar pero en la clase de distancia 3. La especie que parece que se vio favorecida por la proximidad del pino fue *R. alaternus*, una especie arbustiva bien adaptada a vivir en espacios abiertos. Por el contrario, la respuesta observada en *F. ornus* y *A. granatense*, con un mayor crecimiento en la clase 3, señalaría un efecto importante de competencia con la proximidad del pino y, por tanto, menor crecimiento en la clase 1. Del mismo modo, Fagundes et al. (2018) en un ecosistema forestal tropical, no encontraron evidencia de que el dosel proporcionara facilitación en el crecimiento de las especies blanco de su estudio; por otro lado, Soliveres & Maestre (2014) mostró que aun cuando se crea una mejoría en el microclima proporcionada por el dosel, no es posible predecir un efecto de facilitación.

En el caso del área específica foliar SLA, Los resultados muestran un efecto de proximidad al pino claramente significativo en todas las especies menos en *Q. faginea*. Los valores de SLA fueron más altos en la clase de distancia 1 y el efecto desapareció en la clase 2 y 3. Entre densidades de pinar también se observó un efecto de la cubierta vegetal, con valores claramente superiores a  $120 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$  en AD para disminuir a valores no superiores a  $90 \text{ cm}^2 \text{ g}^{-1}$  en BD, en las plantas de la clase 1. De hecho, las especies mediterráneas tienen un alto grado de respuesta fenotípica a la escasez de recursos, estas muestran cambios morfológicos y fisiológicos para adaptarse a diferentes hábitats (Cornelissen et al. 1996,

1998; Antúnez et al. 2001). El área foliar específica de las especies esclerófilas suele ser relativamente baja, porque es gruesa y densa (Turner 1994; Castro-Díez et al 2000; Ruíz-Robledo 2002). De acuerdo con ello, los resultados de este trabajo muestran un gradiente de esclerofilia, desde los valores más bajos en *Q. ilex*, que es una especie perenne, típicamente esclerófila hasta *A. granatense* y *F. ornus* que son especies de hoja caduca claramente no esclerófilas. Además, en ambientes mediterráneos, las hojas formadas en una alta intensidad lumínica tienen en general una mayor capacidad fotosintética en comparación con las hojas de ambientes sombreados, ya que en la sombra las plantas tienen que optimizar la captación de luz y, por lo tanto, minimizan el espesor foliar (Givinish 1998; Granados et al., 2019). En ambientes expuestos a alta radiación solar y con elevadas limitaciones hídricas durante largos períodos del año, las plantas suelen desarrollar hojas pequeñas y muy esclerófilas con una eficiente regulación estomática para minimizar las pérdidas de agua (Valladares et al., 2004). Sin embargo, las plantas con hojas grandes, adaptadas a la sombra, con frecuencia suelen tener menor regulación en la pérdida de agua y si las condiciones de sequía aumentan en el tiempo o intensidad pueden verse perjudicadas debido al fenómeno denominado “sombra seca” (Valladares, 2001). Esta sombra seca ocurriría en ambientes mediterráneos con largos periodos de sequía, y afectaría a las especies que se desarrollan en ambientes sombreados ya que son menos capaces de regular las pérdidas de agua y, por lo tanto, en condiciones de estrés hídrico acentuadas podrían ver más comprometida su supervivencia que especies que se desarrollan a pleno sol.

### **3.3.5. Conclusiones**

La interacción que se estableció entre los pinos y las plantas que fueron introducidas y monitoreadas durante cinco años ha mostrado algunas relaciones tanto de procesos de facilitación como de competencia en este estudio. Sin embargo, la respuesta observada no ha sido especialmente intensa lo que no permite establecer una distancia óptima para realizar los trabajos de reforestación en estos ambientes. En general se puede concluir que el efecto más significativo ha sido la densidad de pinar, más que la distancia al pino que ha mostrado efectos difusos.

En este sentido, la respuesta de las plantas dependiente de la cercanía de los pinos distribuidas en las tres clases de distancia, mostró una cierta interacción en el crecimiento en altura para la clase de distancia 3, especialmente en las parcelas de MD en relación con

las otras densidades de pinar y clases de distancia. También se observó un efecto de competencia en el crecimiento en diámetro para las clases más cercanas a los pinos, pero esto únicamente observado en dos especies: *Q. faginea* y *A. granatense*.

El área específica foliar (SLA) fue claramente modulada por la densidad de pinar y por las clases de distancia. En el caso de las distancias al pinar, únicamente la clase 1 sería significativa respecto a las otras dos clases, indicando que el efecto del pino se produjo en las distancias muy cercanas. De manera genérica, las especies caducifolias desarrollaron mayor SLA que las perennifolias en las tres clases de distancia.

## Referencias Bibliográficas

- Andivia, E., Villar-Salvador, P., Tovar, L., Rabasa, S. and Rey Benayas, J.M. 2017. Multiscale assessment of woody species recruitment in Mediterranean shrublands: facilitation and beyond. *Journal of Vegetation Science*, Doi: 10.1111/jvs.12520
- Antúnez, I., E. C. Retamosa, y R. Villar. 2001. Relative growth rate in phylogenetically related deciduous and evergreen woody species. *Oecologia* 128:172-180.
- Aranda I, Castro L, Pardos M, Gil L, Pardos JA. 2005. Effects of the interaction between drought and shade on water relations, gas exchange and morphological traits in cork oak *Quercus suber* L. seedlings. *For Ecol Manag* 210:117–129
- Baumeister D, Callaway RM. . 2006. Facilitation by *Pinus flexilis* during succession: A hierarchy of mechanisms benefits other plant species. *Ecology*; 87:1816–1830.
- Bertness MD, Callaway R. 1994. Positive interactions in communities. *Trends in Ecology and Evolution* 9: 191–193.
- Bladé, I. & Castro Díez, Y. (2010). Atmospheric trends in the Iberian Peninsula during the instrumental period in the context of natural variability. En: Pérez F. F, Boscolo R (eds) *Climate in Spain: Past, Present and Future*. 25-41.
- Brunet, M., Casado, M.J., de Castro, M., Galán, P., López, JA. Martín, JM., Pastor, A., Petisco, E., Ramos, P., Ribalaygua, J., Rodríguez, E., Sanz, I. & Torres, L. (2009). Generación de escenarios regionalizados de cambio climático para España. AEMET. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Madrid. España. 165 pp.
- Callaway, R.M. (2007) *Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Castro J., Zamora, R., Hódar, J.A. & Gómez, J.M. (2004). Seedling establishment of a boreal tree species (*Pinus sylvestris*) at its southernmost distribution limit: consequences of being in a marginal, Mediterranean habitat. *Journal of Ecology* 92: 266–277.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Hernández, E.I., Matos, A. and Vallejo, V.R. 2008. Effects of a deep container on morpho-functional characteristics and root colonization in *Quercus suber* L. seedlings for reforestation in Mediterranean climate. *Forest Ecology and Management*, 256: 779-785.
- Cornelissen, J. H. C., P. Castro-Díez y A. C. Carnelli. 1998. Variation in relative growth rate among woody species: scaling up. Páginas 363-392 en: H. Lambers, H. Poorter y M. van Vuuren (editores). *Inherent Variation in Plant Growth. Physiological mechanisms and ecological consequences*. Backhuys Publishers, Leiden, Países Bajos.

- Cuesta, B., Villar-Salvador, P., Puértolas, J., Rey Benayas, J.M. and Michalet, R. (2010). Facilitation of *Quercus ilex* in Mediterranean shrubland is explained by both direct and indirect interactions mediated by herbs. *Journal of Ecology*, n. 98, pp. 687-696, which has been published in final form at [Link to final article using the DOI: 10.1111/j.1365-2745.2010.01655.x
- Daskalidou, E & Thanos, C. 1996. Aleppo pine (*Pinus halepensis*) Postfire Regeneration: the Role of Canopy and Soil Seed Banks. *International Journal of Wildland Fire*. DOI: 10.1071/WF9960059
- Fagundes, M., Weisser, W. & Ganade G. 2018. The role of nurse successional stages on species-specific facilitation in drylands: Nurse traits and facilitation skills. *Ecology and Evolution*. 1-12
- Ferran A, Serrasolsas I, Vallejo V.R. 1992. Soil evolution after fire in *Quercus ilex* and *Pinus halepensis* forests. In: Teller A, Mathy P, Jeffers JNR (eds) Responses of forest ecosystems to environmental changes. Elsevier, London, pp 397–405.
- Gavinete, J., Vilagrosa, A., Chirino, E., Granados, M. E., Vallejo, V. R., & Prévosto, B. (2015). Hardwood seedling establishment below Aleppo pine depends on thinning intensity in two Mediterranean sites. *Annals of Forest Science*, 72: 999-1008.
- Givnish, T.J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole plant perspective. *Austr. J. Plant Physiol.* 15, 63-92. doi.org/10.1071/PP9880063
- Gómez-Aparicio L, Zamora R, Gómez J.M, Hódar JA, Castro J, Baraza E. 2004. Applying plant facilitation to forest restoration: a meta-analysis of the use of shrubs as nurse plants. *Ecological Applications* 14: 1128–1138
- Granados, M. E., Vilagrosa, A., Chirino, E., & Vallejo, V. R. (2016). Reforestation with resprouter species to increase diversity and resilience in Mediterranean pine forests. *Forest Ecology and Management*, 362, 231–240.
- Granados, M.E. Chirino, E., Gandia, C., Vallejo, V & Vilagrosa, A. 2019. Effect of light and soil moisture on physiological variables in six Mediterranean forest species planted under a pine forest canopy. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 25(3), 461-476. doi: 10.5154/r.rchscfa.2018.12.090
- Grossnickle, S.C., 2012. Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forest*. 43, 711–738.
- Holmgren, M., Scheffer, M. y Huston, M.A. 1977. The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology*, 78(7): 1966-1975.



- Hunt, R., D. R. Causton, B. Shipley, y A. P. Askew. 2002. A modern tool for classical growth analysis. *Annals of Botany* 90: 485-488.
- IPCC 2012. Field CB, Barros V, Stocker TF, Qin D, Dokken DJ, Ebi KL, Mastrandrea MD, Mach KJ, Plattner GK, Allen SK, Tignor M, Midgley PM, (eds). *Managing the Risks of Extreme Events and Disasters to Advance Climate Change Adaptation. A Special Report of Working Groups I and II of the Intergovernmental Panel on Climate Change.* Cambridge, UK & New York, NY, USA: Cambridge University Press.
- Keeley, J.E., Bond, W.J., 1997. Convergent seed germination in South African fynbos and Californian chaparral. *Plant Ecology* 133, 153–167.
- Keeley, J.E., Bond, W.J., Bradstock, R.A., Pausas, J.G., Rundel, P.W. (Eds.), 2012. *Fire in Mediterranean Ecosystems. Ecology, Evolution and Management.* Cambridge University Press, New York, NY, USA.
- Koyama, A. & Tsuyuzaki, S. 2013. Facilitation by tussock-forming species on seedling establishment collapses in an extreme drought year in a post-mined Sphagnum peatland. *Journal of Vegetation Science* 24: 473–483.
- Le Bagousse-Pinguet, Y., Börger L, Quero, J., García-Gómez, M., Soriano, S., Maestre, F. & Gross, N. (2015). Traits of neighbouring plants and space limitation determine intraspecific trait variability in semi-arid shrublands. *Journal of Ecology*. doi: 10.1111/1365-2745.12480
- Liancourt P, Callaway RM, Michalet R. 2005. Stress tolerance and competitive-response ability determine the outcome of biotic interactions. *Ecology*; 86:1611–1618.
- Lloret, F. & M. Vilà. (2003). Diversity patterns of plant functional types in relation to fire regime and previous land use in Mediterranean woodlands. *J. Vegetation Science* 14: 387-398.
- Maestre, F. T. & Cortina, J. (2004). Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 271: S331–S333.
- Maestre, F.T., Cortina, J., (2005). Remnant shrubs in Mediterranean semi-arid steppes: effects of shrub size, abiotic factors and species identity on understorey richness and occurrence. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology* 27, 161e169.
- Maestre, F.T., Valladares, F. & Reynolds, J.F. 2005. Is the change of plant–plant interactions with abiotic stress predictable? A meta-analysis of field results in arid environments. *Journal of Ecology* 93: 748–757.

- Mendes M.M., Gazarini, L.C., and Rodrigues M.L. 2001. Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Env. Exp.Bot.* 45: 165-178.
- Molinas, M. L. & Verdaguer, D. (1993). Lignotuber ontogeny in the cork-oak (*Quercus suber*; *Fagaceae*). I. Late embryo. *American journal of Botany*, N° 80, 172- 181.
- Ortuño F. 1990. El plan para la repoblación forestal de España del año 1939. Análisis y comentarios. *Ecología, Fuera de Serie* 1: 373-392.
- Pausas, J.G. (1997). Resprouting of *Quercus suber* in NE Spain after fire. *Journal of Vegetation Science* 8: 703-706.
- Pausas, J. G. & Vallejo, V. R. (1999). The role of fire in Europe Mediterranean ecosystems. In 'Remote Sensing of Large Wildfires in Europe Mediterranean Bssin'. (Ed. E Chuvieco) pp. 3-16. Springer Berlin.
- Pugnaire, F. I., Haase, P. & Puigdefábregas, J. (1996). Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* 77: 1420-1426.
- Rodríguez-Calcerrada J., Pardos J.A., Gil, L. and Aranda, I. 2008. Ability to avoid water stress in seedlings of two oak species is lower in a dense forest
- Ruíz-Robledo, J. 2002. Ecofisiología de especies caducifolias y perennifolias relacionadas filogenéticamente. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba, España.
- Smith T. and Huston M. 1989. A theory of spatial and temporal dynamics of plant communities. *Plant Ecology*. 83, 1-2, 49-69.
- Soliveres S, Desoto L, Maestre FT, Olano JM. 2010. Spatio-temporal heterogeneity in abiotic factors modulate multiple ontogenetic shifts between competition and facilitation. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*; 12:227–234.
- Soliveres S, Eldridge DJ, Hemmings F, Maestre FT. (2012) Nurse plant effects on plant species richness in drylands: The role of grazing, rainfall and species specificity. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*; 14:402–410.
- Soliveres, S. & Maestre, F.T. (2014). Plant-plant interactions, environmental gradients and plant diversity: a global synthesis of community-level studies. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics*, 16, 154–163.
- Tielborger, K. y R. Kadmon. (2000). Temporal environmental variation tips the balance between facilitation and interference in desert plants. *Ecology* 81: 1544-1553.

- Turner IM. 1994. A quantitative analysis of leaf form in woody plants from the world's major broadleaved forest types. *Journal of Biogeography*; 21: 413–419.
- Valladares, F. (2001). Luz y evolución vegetal. *Investigación y Ciencia*. 73-79.
- Valladares, F., Aranda I. & Sánchez-Gómez, D. (2004). La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. *Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante*. Pp. 335-369. Ministerio del Medio Ambiente EGRAF. Madrid. ISBN: 84-8014-552-8.
- Valladares F, Zaragoza-Castells J, Sánchez-Gómez D, Matesanz S, Alonso B, Portsmouth A, Delgado A, Atkin OK (2008) Is shade beneficial for Mediterranean shrubs experiencing periods of extreme drought and late-winter frosts? *Ann Bot Lond* 102:923–933
- Vallejo V.R. and Alloza J.A. 1998. The restoration of burned lands: The case of Eastern Spain. En: Moreno, J.M. (Ed.). *Large Forest Fires*, pp: 91-108. Backbuys Pub. The Netherlands.
- Vallejo, V.R. 2009. Problems and perspectives of dryland restoration. In: Bautista S, Aronson J, Vallejo VR (eds) *Land restoration to combat desertification. Innovative approaches, quality control and project evaluation*, Fundació n CEAM, Valencia, pp 13–22.
- Vallejo, V. R. & Alloza, J. A., 2015. Postfire Ecosystem Restoration. In: Paton, D., (eds.). *Wildfire hazards, risks, and disasters*. 229-246. Elsevier
- Zammit, C. A. & P. H. Zedler. 1988. The influence of dominant shrubs, fire and time since fire on soil seed banks in mixed chaparral. *Vegetatio* 75: 175-187.



#### **4. Discusión general**

Estudiar los factores ambientales en plantaciones de pino carrasco del sureste de la Península Ibérica sobre el establecimiento de especies forestales nativas, rebrotadoras, plantadas bajo cubierta de pinar adulto fue el objetivo del presente trabajo de tesis doctoral. Investigamos la respuesta de las especies desde un punto de vista de capacidad de instalación, crecimiento y funcional para aprovechar su utilización en estos ecosistemas que se podrían enfrentar un futuro incierto en la disponibilidad de sus recursos.

##### **Resultados del estudio de campo**

Según nuestros resultados, para unas condiciones climáticas relativamente secas (zona de ombroclima seco), durante los años de experimentación de marzo de 2011 a diciembre de 2016, la plantación de leñosas rebrotadoras bajo cubierta del pinar brindó respuestas relacionadas con las características de las especies introducidas y la densidad de árboles existentes en cada parcela experimental. En cada densidad de pinar se crearon condiciones micro-climáticas específicas, y que contrastantes a lo largo del año. En el caso de la precipitación encontramos que la cantidad de agua de lluvia estimada por transcolación fue mayor en baja densidad (BD), seguida de media densidad (MD) y finalmente alta densidad (AD). En general el agua acumulada por transcolación fue de 76% para BD, 72% para MD y 62% para AD. Este contraste en la cantidad de agua que llegó a cada parcela, trajo como consecuencia diferencias en la humedad del suelo, en especial a 40 cm de profundidad, que también fue mayor en BD. Así mismo, la disponibilidad hídrica promedio encontrada entre marzo de 2011 y octubre de 2013, estuvo condicionada por cada densidad de pinar que fue de  $0.53\pm 0.1\%$  en AD;  $0.55\pm 0.1\%$  en MD y  $0.63\pm 0.0\%$  en BD (proporción entre la humedad del suelo y capacidad de campo SWC:FC). Sin embargo, durante el verano, la baja precipitación provocó baja humedad del suelo (sobre un 5%), y que similar en todas las densidades, lo que condicionó los resultados obtenidos en términos de supervivencia.

La luz disponible para las plantas, medida como densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD) interceptada por el dosel de los árboles en las parcelas de AD ocasionó la disminución del 80% de la radiación solar, con respecto a la recibida a plena luz a mediodía; en las parcelas de MD la disminución fue del 56% y del 25% en las parcelas de BD. En promedio la temperatura ambiente fue de 21°C en AD, de 22°C y de 23°C en

BD; el déficit de presión de vapor (VPD) fue menor en las parcelas de AD (1.94 KPa), que en MD (2.15 KPa) y en BD (2.20 KPa). Estas condiciones fueron más intensas durante el verano, lo que también fue reportado por Rodríguez-Calcerrada *et al.* (2007) en Montejo de la Sierra en el centro de España y por Gavinet *et al.* (2015) en el sur de Francia, quienes encontraron que la temperatura máxima en verano fue significativamente inferior en el tratamiento de AD, lo que favoreció valores de VPD menores.

Con estos resultados es posible predecir que la sombra generada bajo el dosel de los pinos puede tener un efecto indirecto sobre el sotobosque al reducir la temperatura del aire y del suelo y el déficit de presión de vapor (Larcher 2003), disminuyendo así mismo el impacto del estrés hídrico (Holmgren 2011). En estas condiciones es factible que se favorezca el crecimiento y la supervivencia de las plantas que se hallan expuestas tanto a estrés térmico como hídrico y lumínico (Holmgren *et al.* 1997; Callaway 2007; Gavinet *et al.* 2015; Granados *et al.* 2016). De acuerdo con lo anterior, en ambientes con bajas tasas de radiación, las plantas deben optimizar la abertura estomática para captar el CO<sub>2</sub>. Por otro lado, las plantas que crecen en ambientes bien iluminados tienen un mayor control de la pérdidas de agua por transpiración y responden mejor a las variaciones del déficit de presión de vapor o del potencial hídrico del suelo, que las plantas que crecen en condiciones de sombra (Mendes *et al.* 2001).

El factor con mayor variación entre tratamientos fue la radiación solar expresada como densidad de flujo de fotones fotosintéticos (PPFD). Las parcelas de BD recibieron en verano una radiación mayor de 2000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , con una reducción en las parcelas de AD a 500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . En invierno la radiación solar se redujeron a 1000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en BD y hasta 50  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en AD. Con esta cantidad de radiación solar en las parcelas de AD, se podría esperar un menor rendimiento en la supervivencia y crecimiento de las plantas debido a que, a lo largo del año se requieren proporciones de saturación fotosintética mayores a 600  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Gulias *et al.* 2002). Sin embargo, fue en las parcelas de AD donde se encontró el mayor porcentaje de supervivencia. En general, encontramos que la supervivencia de las especies introducidas después de tres años fue del 85.0% en AD, del 75.2% en MD y del 73.7% en BD. En este sentido, se ha reportado que la supervivencia de las plantas es mayor bajo la protección del dosel que en áreas abiertas (Callaway 2007). El alto valor de supervivencia en AD podría atribuirse al efecto conjunto de las condiciones micro-climáticas derivadas de la foto-protección del dosel, la atenuación de la temperatura

y al VPD, relativamente menor que en MD y BD. Sin embargo, en otros ecosistemas Mediterráneos con condiciones de mayor humedad, en alta densidad de pinos se produjeron mayores tasas de mortandad de las especies introducidas (Gavinet 2015). En estos ecosistemas, la falta de luz en alta densidad y unas condiciones más benignas en cuanto a precipitaciones y disponibilidad hídrica en las parcelas de baja densidad debieron ser mucho más relevantes para la supervivencia de las especies.

En cuanto a la supervivencia inter-específica, en promedio encontramos respuestas asociadas a dos grupos. En el primero se hallan las especies resistentes a la sequía, *A. unedo*, *Q. ilex* y *R. alaternus*, las cuales son típicas de ecosistemas mediterráneos más áridos (Valladares & Sánchez-Gómez, 2006; Vilagrosa *et al.* 2010), con valores de supervivencia mayores a 85%. *F. ornus* tuvo valores de supervivencia de 83.5%, por lo que podría ser considerada dentro del primer grupo, aunque es una especie de hábito caducifolio. Esta respuesta de *F. ornus* podría explicarse por la baja tasa de intercambio de gases, lo que dio como resultado altos valores en la eficiencia del uso del agua (*IWUE*). En el segundo grupo se encuentran *Q. faginea* con 61.2% y *A. granatense* con 60.8% de supervivencia. Estas son especies semi-caducifolia la primera y caducifolia la segunda, por lo que cabría esperar alta supervivencia en condiciones de sombra. Sin embargo no se observaron valores en AD respecto a los otros tratamientos MD y BD.

La diferencia de factores abióticos entre tratamientos también explicaría la diferencia en el crecimiento de las plantas. La tasa de crecimiento relativo (RGR) en altura fue mayor en las parcelas de AD y MD. Este hallazgo podría estar relacionado con el hecho de que la baja intensidad de luz promueve el alargamiento del tallo para obtener luz de mayor calidad para el proceso de la fotosíntesis (Valladares *et al.* 2008). Así mismo, encontramos que el volumen del tallo fue similar en las tres densidades, lo que sugiere que la altura de la planta no se produjo como una respuesta de crecimiento, sino de alargamiento para la captura de luz. Sin embargo, encontramos diferencias significativas entre especies con valores mayores del volumen del tallo en todos los tratamientos en *A. unedo* y *F. ornus*., lo que podría afirmar que hubo un mayor crecimiento de estas especies. Por otro lado, la RGR en diámetro fue significativamente mayor en las parcelas de BD, con respecto a MD y AD. El aumento en el diámetro del tallo en BD indicaría un mayor desarrollo de la raíz para asegurar la absorción de agua y nutrientes, en especial en condiciones de sequía, como lo sugieren Chirino *et al.* (2008) y Grossnickle (2012). Es evidente que el micro-ambiente

resultó adecuado en mayor o menor medida para el establecimiento de las plantas y su posterior desarrollo, lo que fue posible constatar después de cinco años de que estas fueron plantadas. De acuerdo a esto, encontramos que cada especie respondió en función de distintos mecanismos de adaptación morfo-fisiológicas, fenológicas y funcionales para adaptarse a las condiciones combinadas de sequía y de sombra creadas en las parcelas experimentales.

En el caso de la respuesta al estrés hídrico que logran soportar las especies, se ha reportado que en climas secos y semiáridos pueden coexistir especies con diferentes estrategias y niveles de vulnerabilidad a la sequía (Forner *et al.* 2014; Vilagrosa *et al.* 2014). Las especies evitadoras logran mantener la hidratación de sus tejidos con el cierre de estomas en condiciones de sequía para evitar la excesiva tensión del xilema (Pausas *et al.* 2017). Sin embargo, esto limita la asimilación del carbono y aumenta la posibilidad de muerte por inanición (Galiano *et al.* 2011). Las especies tolerantes admiten cierto grado de estrés en sus tejidos con la abertura de estomas y potenciales hídricos muy bajos, lo que favorece un balance de carbono positivo; sin embargo arriesgan el funcionamiento del sistema hidráulico (Urli *et al.* 2013; Pausas *et al.* 2016) y un aumento en la cavitación (McDowell 2011). En nuestro estudio, *Q. faginea* y *A. granatense* presentaron un estrés hídrico relativamente bajo, sin embargo, ambas especies fueron las que mostraron menor supervivencia, mostrando una tendencia hacia mayor sensibilidad a la sequía. Desde esta perspectiva, algunas especies mediterráneas han sido consideradas como conservadoras con respecto a la eficiencia en el uso del agua, es decir, muestran un comportamiento orientado a evitar el estrés hídrico disminuyendo el consumo de agua (Vilagrosa *et al.* 2003; Hernández *et al.* 2010). Del mismo modo, se ha encontrado que la longitud y superficie de sus raíces es menor con respecto a las especies tolerantes (Erades 2011; Chirino *et al.* 2008). Por otro lado, *F. ornus* mostró alto estrés hídrico al mediodía ( $\Psi_{md}$ ), seguido de *Q. ilex* y, con valores intermedios, *A. unedo* y *R. alaternus*; las tres últimas especies son consideradas como tolerantes. Como se mencionó antes, las especies tolerantes logran mantener sus estomas abiertos durante la sequía, y soportan potenciales hídricos muy bajos. Así mismo, estas especies pueden mejorar la absorción de agua y nutrientes, al presentar raíces de mayor diámetro con mayor superficie de absorción, lo que podría explicar la mayor tasa de supervivencia (Erades 2011; Chirino *et al.* 2013).



Como ya se dijo anteriormente, la PPF fue el factor que más varió a lo largo del año, siendo mayor en verano y con valores superiores a  $600 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en primavera y otoño en BD y MD. El efecto de la radiación solar asociado a una mayor disponibilidad hídrica en estas parcelas, podrían haber provocado que en el intercambio de gases, la fotosíntesis ( $A$ ) y la conductancia estomática ( $G_s$ ) en los plantones fuera mayor. Del mismo modo en las parcelas de AD, al haber menor radiación solar y menor recurso hídrico, se observaron valores menores en ambos parámetros de intercambio de gases. Las especies *R. alaternus*, *A. unedo* y *Q. ilex* mostraron valores altos en ambos parámetros, lo que coincide con el hecho de que las especies tolerantes en climas secos y semiáridos pueden mantener los estomas abiertos en condiciones de sequía (Forner *et al.* 2014; Vilagrosa *et al.* 2014).

En este estudio los resultados con isotopos y intercambio de gases sugieren que la radiación solar fue el factor que reguló el intercambio de gases, lo que concuerda con Gómez-Aparicio *et al.* (2006). Estos autores encontraron que la intensidad de luz restringiría el establecimiento de las especies en bosques del sur de la península. En este sentido, se observó cierta tendencia a que los plantones bajo cubierta de BD presentaran una mayor eficiencia en el uso del agua ( $IWUE$ ) respecto a MD y AD, aunque globalmente no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos. Las especies *F. ornus*, *A. granatense* y *A. unedo* presentaron mayor  $IWUE$ , seguidas de *R. alaternus* y *Q. faginea*. La especie que mostró menor  $IWUE$  fue *Q. ilex*. Las diferencias observadas entre especies pueden relacionarse con algunas estrategias para hacer frente al déficit hídrico mediante mecanismos de ahorro de agua, como se ha reportado para especies conservadoras o isohídricas (Vilagrosa *et al.* 2014; Pausas *et al.* 2017). En este sentido, uno de los temas que actualmente genera mayor interés en los estudios sobre el establecimiento de las plantas de manera natural o después de ser introducidas en el campo, es la interacción entre la luz y la humedad del suelo (Bolte *et al.* 2009; Gavinet 2015).

Estos resultados concuerdan con los observados en relación con el uso de isotopos estables por las plantas,  $\delta^{13}\text{C}$  y  $\delta^{18}\text{O}$ . Las especies caducifolias, en parcelas con limitaciones hídricas, mostraron altos valores de  $\delta^{13}\text{C}$ , indicando una alta eficiencia en el uso del agua, con respecto a las perennes, que desarrollan una estrategia predominantemente tolerante o anisohídrica y puede tener los estomas abiertos con menor disponibilidad hídrica. Del mismo modo, altos valores de  $\delta^{18}\text{O}$  en las especies perennes

podría indicar que estas mantenían bajos valores de  $G_s$  con respecto a las caducifolias. La relación entre los isotopos encontrados en las plantas nos permitió inferir, a partir del modelo propuesto por Scheidegger (2000), la respuesta de las especies en función de los cambios ambientales relacionados con la densidad del arbolado y la disponibilidad hídrica. El modelo indicó que tanto  $A$  como  $G_s$  fueron afectados por la densidad de los pinos y, como consecuencia, por la VPD y la radiación solar. Estos resultados vuelven a sugerir que el factor limitante para el desarrollo de las plantas fue la disponibilidad de luz, asociado a la disponibilidad de agua. De acuerdo con estos resultados y los encontrados por Holmgren *et al.* (2011), Querejeta *et al.* (2008) y Moreno-Gutiérrez *et al.* (2012), es posible sugerir que la protección del dosel puede disminuir el estrés y promover mayor eficiencia en la maquinaria fotosintética, aunque la fijación de carbono podría verse comprometida en los períodos de mayor disponibilidad de agua.

En el mismo sentido, la protección del dosel en las parcelas de AD, promovió que la eficiencia máxima del fotosistema II ( $F_v/F_m$ ) fuera mayor en este tratamiento con respecto a MD y BD. Este hecho está relacionado con valores de PPFD inferiores y, por lo tanto, menos estresantes para todas las especies (Granados *et al.* 2016). Sin embargo, a lo largo del período de estudio se encontraron valores de fluorescencia de 0.78, el cual fue inferior al reportado en condiciones óptimas para las plantas (0.83; Björkman & Demmig, 1987). Estos datos podrían indicar procesos de fotoinhibición de larga duración en todos los tratamientos debido a condiciones estresantes para los plantones (Long *et al.* 1994). La  $F_v/F_m$  fue mayor en *A. unedo*, seguido de *Q. ilex* y *R. alaternus*, lo que indicaría una mejor capacidad para adaptarse y vivir en estos ambientes, *Q. faginea* presentó valores intermedios. Los menores valores de  $F_v/F_m$  fueron observados en *F. ornus* y *A. granatense* manifestando mayor fotoinhibición y menor adaptación al ambiente lumínico en estas parcelas.

### **Estudio en condiciones óptimas de vivero**

En vivero, el tratamiento de escasa densidad de luz (EDL) estimuló valores más altos de  $G_s$ , probablemente porque a plena luz, en el tratamiento control (TC), el alto VPD pudo provocar la pérdida de agua que las plantas tenían disponible por el riego; mientras que en campo este fenómeno ocurrió en condiciones de mayor disponibilidad de luz (BD y MD). la tasa fotosintética presentó un patrón similar. Los plantones en BD y TC, alcanzaron

los mayores valores. Las especies mediterráneas han desarrollado mecanismos para afrontar tanto condiciones de estrés hídrico como de alta iluminación (Gómez-Aparicio *et al.* 2006; Mc Dowell *et al.* 2013). Los plantones en TC mostraron mayor *IWUE* que en EDL. En condiciones de campo, las plantas podrían haber ajustado su rehidratación durante la noche (Valladares & Pearcy, 2002) con más agua disponible para mantener el alto intercambio de gases observado y así, el uso eficiente del agua en respuesta a una mayor radiación, mientras que en vivero, la humedad del suelo no fue el factor limitante. En este caso, los resultados indicarían que los factores que definieron la respuesta en el intercambio de gases en campo fueron la cantidad de luz, la demanda hídrica atmosférica (VPD) asociado a la temperatura y la disponibilidad hídrica del suelo (SWC:FC).

En general, las especies caducifolias *F. ornus* y *A. granatense* y la especie semicaducifolia *Q. faginea* mostraron tasas de *Gs* inferiores a las especies perennifolias *A. unedo*, *R. alaternus* y *Q. ilex*. Respecto a *A*, las mayores tasas se encontraron en *Q. ilex*, *R. alaternus* y *A. granatense* registrándose los menores valores en *Q. faginea*, *A. unedo* y *F. ornus*. Se ha señalado que las especies caducifolias de individuos adultos en condiciones naturales presentan mayores tasas de intercambio de gases (Mediavilla & Escudero, 2003) y son capaces de aprovechar con intensidad los pocos pulsos predecibles de agua, manifestando mayores tasas fotosintéticas (Hasselquist *et al.* 2010). En este estudio, las especies caducifolias tuvieron intercambio de gases con valores inferiores, pero con mayor eficiencia en el uso del agua, lo que indicaría a una mayor regulación estomática. Es probable que estas especies fueran mucho más sensibles a la VPD en las condiciones climáticas generadas en el vivero (temperatura, demanda hídrica atmosférica) que fueron menos favorables, de manera similar a las parcelas de BD.

### **Respuestas de las especies después de tres años en diferentes ambientes de luz y humedad del suelo.**

#### *Arbutus unedo* L.

El madroño es una especie esclerófila arbustiva considerada como tolerante a la sequía, con un cierre parcial de estomas al mediodía, mostró una alta eficiencia en el uso del agua. Sin embargo, como todas las especies estudiadas, experimentó estrés por fotoinhibición. Fue la especie que tuvo mayor supervivencia, aunque manifestó una RGR relativamente baja en altura. Fue afectada por la radiación debido a que tuvo un 100 por

ciento de supervivencia en AD, pero disminuyó hasta el 78 por ciento en BD, probablemente porque vive en áreas termo y meso-mediterráneas no excesivamente secas de la Comunidad Valenciana, frecuentemente en umbrías. Tiene capacidad de rebrotar tras el fuego o tala, por lo que podría tener un buen rendimiento en programas de reforestación para favorecer la recuperación de ecosistemas afectados por incendios o perturbaciones con radiación solar variable a baja.

*Rhamnus alaternus* L.

Entre las especies esclerófilas tolerantes de este estudio se encuentra esta especie: *Rhamnus alaternus*, o aladierno. Tuvo valores relativamente altos de conductancia estomática, con un uso eficiente del agua relativamente bajo; también experimentó estrés por fotoinhibición. Mostró una alta supervivencia en AD y MD. Se observó una alta RGR, en especial en diámetro, que fue la mayor de todas las especies. Aunque es una especie que se la encuentra en muchos ambientes, excepto en áreas frías de montaña de la Comunidad Valenciana, es afectada por la radiación, ya que su supervivencia disminuyó en BD. Debido a que se ha reportado que rebrota vigorosamente tras el fuego o tala, podría tener buen rendimiento en la reforestación de ecosistemas que hayan experimentado cualquiera de estas perturbaciones.

*Quercus ilex* L.

La encina carrasca representa una de las especies tolerantes del ambiente mediterráneo, sus hojas esclerófilas evitan la excesiva transpiración. En este estudio encontramos un valor intermedio de intercambio de gases, una conductancia estomática mayor que las otras especies y el menor valor en el uso eficiente del agua. Estos datos reforzarían el carácter tolerante de la especie, aunque al igual que las otras especies también experimentó fotoinhibición. La RGR fue relativamente baja tanto en altura como en diámetro. Mostró valores de supervivencia altos en AD que disminuyeron en BD, aunque los menores se encontraron en MD. La especie rebrota después incendio o tala y podría ser eficiente en ambientes con distinta iluminación y baja humedad, considerando que en este trabajo se confirmó que la especie es capaz de tolerar potenciales hídricos bajos y una conductancia estomática alta con una baja eficiencia en el uso del agua.

*Quercus faginea* L.

El quejigo es una especie de hoja semi-esclerófila y semi-caducifolia, con un valor intermedio de intercambio de gases y conductancia estomática baja, tuvo baja eficiencia en el uso del agua, también mostró fotoinhibición. La RGR fue la menor de todas las especies en este estudio, tanto en altura como en diámetro, así como la menor supervivencia en todas las densidades. Debido a que se ha reportado que es capaz de rebrotar tras el fuego o tala, podría tener buen rendimiento en ambientes sub-húmedos y de luz iluminación variable a alta.

*Fraxinus ornus* L.

El fresno es típico de zonas de con elevada humedad y frías, de hoja caducifolia; tuvo valores intermedios de intercambio de gases y baja conductancia estomática y el mayor valor de eficiencia en el uso del agua. Es probable que, por su carácter caducifolio, los valores de fluorescencia fueran los más bajos, indicando también fotoinhibición. La RGR en altura fue la mayor, aunque relativamente baja en diámetro. Un dato interesante fue la supervivencia en AD y BD, relativamente altas. Se ha reportado que la especie tiene buen rebrote después de incendios o tala, por lo que podría rendir eficientemente en condiciones variables de luz, preferentemente húmedas.

*Acer granatense* Boiss.

Especie caducifolia, mostró valores intermedios de intercambio de gases y baja conductancia estomática, lo que resultó en una eficiencia en el uso del agua relativamente alto y. Al igual que *F. ornus*, es probable que, por su carácter caducifolio, los valores de fluorescencia fueron los más bajos, indicando también fotoinhibición. La RGR en altura fue relativamente alta, mientras que en diámetro fue baja. La supervivencia de la especie fue baja en las tres densidades, especialmente en BD. Tiene buen rebrote después de fuego o tala y probablemente tendría buen rendimiento en áreas de umbría y húmedas que se corresponden con su hábitat natural.

## 5. Conclusiones generales

1.- En las condiciones generadas por distintas densidades del pinar cada especie presenta capacidades de crecimiento y funcionamiento específicos. La respuesta diferenciada de las especies podría ofrecer pautas para la selección de estas, con el objetivo último de promover y aumentar la resiliencia del ecosistema y disminuir el efecto de incendios forestales o perturbaciones futuras.

2.- La sombra producida por la alta densidad de pinos fue benéfica para el establecimiento y desarrollo de las especies, especialmente durante el verano de cada período. En general, se encontró que la sombra ocasionada por la alta densidad de pinos, favoreció la supervivencia de todas las especies, principalmente de las perennifolias *Arbutus unedo*, *Quercus ilex* y *Rhamnus alaternus*. Las especies caducifolias *Fraxinus ornus*, *Acer granatense*, *Quercus faginea* registraron porcentajes de supervivencia más bajos en todas las densidades.

3.- En relación con el crecimiento de las especies, en general se observó un crecimiento en las parcelas de AD, específicamente *A. unedo* y *F. ornus* además de crecimiento en altura, mostraron un incremento en el volumen del tallo, favorecido por la sombra de los pinos. Por el contrario, El crecimiento en diámetro predominó en las condiciones de mayor radiación, en las parcelas de BD y MD, como resultado del balance de la asignación de biomasa para el desarrollo de la raíz.

4.- La disponibilidad de luz fue el factor que reguló el intercambio de gases y la dinámica fotosintética y fotoprotección, observando cierta disposición de los plantones bajo cubierta de BD, a presentaran una mayor eficiencia en el uso del agua (*IWUE*) respecto a MD y AD. Las especies perennifolias tuvieron menor fotoinhibición y posiblemente experimentaron menor daño en su sistema fotosintético, aunque tuvieron menor *IWUE*, que las especies caducifolias. En este sentido, se encontró que las especies caducifolias mostraron valores más altos de  $\delta^{13}\text{C}$ , lo que concuerda con una mayor eficiencia en el uso del agua, que las especies de perennifolias.

5.- En condiciones alta disponibilidad hídrica en vivero, las especies se comportaron con patrones estándar de respuesta, con mayor regulación del flujo de agua (*Gs*) y mayores tasas de fotosíntesis (*A*) en condiciones de plena luz y, por lo tanto, una mayor eficiencia

en el uso del agua. Comparando con las condiciones de campo, la respuesta fue diferente reflejando la interacción existente entre disponibilidad de agua y luz para las plantas que estuvo condicionada por la densidad del pinar. En general, las especies esclerófilas perennifolias *A. unedo*, *R. alaternus* y *Q. ilex* mostraron una mayor capacidad de aclimatación a las diferentes condiciones ambientales, que las especies caducifolias.

6.- Las condiciones creadas por la cercanía de los pinos mostró cierta interacción en altura en la clase de distancia 3 y un efecto de competencia en el crecimiento en diámetro para *Q. faginea* y *A. granatense*, probablemente por la captación de agua. En general, las especies caducifolias desarrollaron una mayor SLA en las tres clases de distancia, que las especies perennifolias.

7.- Los resultados encontrados durante el período de estudio, contrastan con la hipótesis de que los pinares de densidades medias tendrían las mejores condiciones para la instalación de nuevas especies, ya que generarían menor competencia por agua y nutrientes y facilitarían el establecimiento de las plántulas debido a las condiciones de sombreado que reduciría el estrés hídrico.

8.- Los resultados de este trabajo de tesis son relevantes para el manejo de los bosques de pino en ecosistemas con clima Mediterráneo y su transformación en comunidades más resilientes que les permita en el futuro, evitar los efectos desfavorables de los incendios y los eventos de sequía.

## 6. Referencias bibliográficas de la introducción y la discusión general

- Aerts, R. & Honnay, O. (2011). Forest restoration, biodiversity and ecosystem functioning. *BMC. Ecol.*, 11: 29.
- Archibold, O.W. (1995). *Ecology of world vegetation*. Chapman & Hall, London. En Zavala, M.A. (2004). Estructura, dinámica y modelos de ensamblaje del bosque mediterráneo entre: la necesidad y la contingencia. Valladares, F. (Ed) *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Páginas 249-277. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, Madrid.
- Arianoutsou, M., Beard, J. S., Ferrés, L., Folch, R. & Trabaud, L. V. (1993). La vida a les formacions escleròfil·les, en *Mediterrànies* (Folch, R. coord.). Barcelona, Edit. MAB, UNESCO, 64-109.
- Aronson, J., Blignaut, J.N., Milton, S.J., & Clewell, A.F. (2006). Natural capital: the limiting factor. *Ecol.* 28:1-5.
- Aronson, J., Milton, S., & Blignaut, J. Eds. (2007). *Restoring natural capital: Science, business, and practice*, Island Press, Washington, D.C.
- Badal, E. (s/a). Bosques, campos y pastos: el potencial económico de la vegetación mediterránea. Universidad de Valencia.
- Baeza, M., Raventós, J., Escarré, A. & Vallejo, V.R. (2003). The effect of shrub clearing on the control of the fire-prone species *Ulex parviflorus*. *Forest Ecol. & Manage* 186: 47-59.
- Baeza, M.J. & Santana, V. M. (2015). Biological significance of dead biomass retention trait in Mediterranean Basin species: an analysis between different successional niches and regeneration strategies as functional groups. 17, 1196-1202.
- Beddington, J., Asaduzzaman, M., Clark, M., Fernández, A., Guillou, M., Jahn, M., Erda, L., Mamo, T., Van Bo, N., Nobre, C., Scholes, R., Sharma, R. & Wakhungu, J. (2012). Achieving food security in the face of climate change. Final report from the Commission on Sustainable Agriculture and Climate Change. Copenhagen, CGIAR Research Program on Climate Change, Agriculture and Food Security (CCAFS).
- Bladé, I. & Castro Díez, Y. (2010). Atmospheric trends in the Iberian Peninsula during the instrumental period in the context of natural variability. En: Pérez F. F, Boscolo R (eds) *Climate in Spain: Past, Present and Future*. 25-41.



- Björkman, O., & Demmig, B. (1987). Photon yield of O<sub>2</sub> evolution and chlorophyll fluorescence at 77k among vascular plants of diverse origins. *Planta*, 170(4), 489–504. doi: 10.1007/BF00402983
- Bolte, A., Ammer, C., Löf, M., Madsen, P., Nabuurs, G. J., Schall, P., & Rock, J. (2009). Adaptive forest management in central Europe: climate change impacts, strategies and integrative concept. *Scandinavian Journal of Forest Research*, 24(6), 473-482. doi.org/10.1080/02827580903418224
- Brunet, M., Casado, MJ., de Castro, M., Galán, P., López, JA. Martín, JM., Pastor, A., Petisco, E., Ramos, P., Ribalaygua, J., Rodríguez, E., Sanz, I. & Torres, L. (2009). Generación de escenarios regionalizados de cambio climático para España. AEMET. Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino. Madrid. España. 165 pp.
- Calatrava, J., Barberá, G.G. & Castillo, V.M. (2011). "Farming practices and policy measures for agricultural soil conservation in semi-arid Mediterranean areas: The case of the Guadalentín basin in southeast Spain". *Land Degradation and Development*, 22(1): 58-69.
- Callaway, R.M., (2007). Positive Interactions and Interdependence in Plant Communities. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Castro J., Zamora, R., Hódar, J.A. & Gómez, J.M. (2004). Seedling establishment of a boreal tree species (*Pinus sylvestris*) at its southernmost distribution limit: consequences of being in a marginal, Mediterranean habitat. *Journal of Ecology* 92: 266–277.
- Chazdon, R.L., Brancalion, P. H. S., Laestadius, L., Bennett-Curry, A., Buckingham, K., Kumar, C., Moll-Rocek, J., Ce'lia Guimara'es Vieira, I. & Jane Wilson S. (2016). When is a forest a forest? Forest concepts and definitions in the era of forest and landscape restoration. *Ambio*, 45:538–550.
- Chirino, E., Vilagrosa, A., Hernandez, E.I., Matos, A. & Vallejo, R. (2008). Effects of a deep container on morpho-functional characteristics and root and root colonization in *Quercus suber* L. seedlings for reforestation in Mediterranean climate. *For. Ecol. Manage.* 256, 779–785.
- Chirino, E., Erades, A., Vilagrosa, A. & Vallejo, V.R. (2013). Dinámica, morfología y topología del sistema radical de seis especies leñosas mediterráneas. En: Martínez-Ruiz, C., Lario Leza, F.J., y Fernández-Santos, B. (Eds.), *Avances en la restauración de sistemas forestales. Técnicas de implantación*. SECF-AEET, Madrid, Spain, pp. 177–182. ISBN: 978-84-937964-6-4.

- Clewell, A. F. & Aronson, J. (2006). Motivations for the restoration of ecosystems. *Conserv. Biol.* 20: 420-428
- Clewell, A. F. & Aronson, J. (2007). *Ecological restoration: Principles, values, and structure of an emerging profession*, Island Press, Washington, DC.
- Díaz-Delgado, R., F. Lloret, y F.X. Pons. (2002). Satellite evidence of decreasing resilience in Mediterranean plant communities after recurrent wildfires. *Ecology* 83: 2293-2303.
- Christensen JH, Hewitson B, Busuioc A, Chen A, Gao X, Held I, Jones R, Kolli RK, Kwon W-T, Laprise R, Rueda VM, Mearns L, Menéndez CG, Räisänen J, Rinke A. & Whetton A.S.P. (2007). Regional climate projections. Contribution of working group I to the fourth assessment report of the intergovernmental panel on climate change. En Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt KB, Tignor M, Miller HL, (eds) *Climate Change (2007): The Physical Science Basis*. Págs. 847-943. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.
- Erades, A., (2011). Dinámica, morfología y topología del sistema radical de seis especies utilizadas para la restauración de ecosistemas secos y semiáridos del mediterráneo español. Thesis-master, Dept. of Ecology, University of Alicante, Spain, p. 50.
- Esteve, M.A. Ferrer, D., Ramírez-Díaz, L., Calvo, J. F. Suárez, M.L. & Yvidal-Abarca, M.R. (1990). Restauración de la vegetación en ecosistemas áridos y semiáridos: algunas reflexiones ecológicas. *Ecología, Fuera de Serie* 1: 497-510.
- Ferran, A., Serrasolsas, I. & Vallejo V.R. (1992). Soil evolution after fire in *Quercus ilex* and *Pinus halepensis* forests. In: Teller A, Mathy P, Jeffers JNR (eds) *Responses of forest ecosystems to environmental changes*. Elsevier, London, pp 397–405.
- Ferran, A. & Vallejo, R. (1992) Litter *dynamics in post-fire successional forests of Quercus ilex*. *Vegetatio*, 100: 239-246.
- Flores, J. & Jurado, E. (2003). Are nurse–prote´ge´ interactions more common among plants from arid environments? *Journal of Vegetation Science* 14, 911–916.
- Forner, S. A., Aranda, I., Granier, A. & Valladares, F. (2014). Differential Impact of the most extreme drought event the last half century on growth and sap flow in two coexisting Mediterranean trees. *Plant Ecology*, 1-17. doi.org/10.1007/s11258-014-0351-x
- Galiano, L., Martínez-Vilalta, J., & Lloret, F. (2011). Carbon reserves and canopy defoliation determine the recovery of Scots pine 4 yr after a drought episode. *New Phytologist*, 190 (3), 750–759. doi: 10.1111/j.1469-8137.2010.03628.x

- Gavinet, J., Vilagrosa, A., Chirino, E., Granados, M. E., Vallejo, V. R., & Prévosto, B. (2015). Hardwood seedling establishment below Aleppo pine depends on thinning intensity in two Mediterranean sites. *Annals of Forest Science*, 72: 999-1008.
- Givnish, T.J. (1988). Adaptation to sun and shade: a whole plant perspective. *Austr. J. Plant Physiol.* 15, 63-92. doi.org/10.1071/PP9880063
- Gómez-Aparicio, L., F. Valladares & R. Zamora. (2006). Differential Light responses of Mediterranean tree saplings: linking ecophysiology with regeneration niche in four co-occurring species. *Tree Physiol.* 26: 947-958
- Granados, M. E., Vilagrosa, A., Chirino, E., & Vallejo, V. R. (2016). Reforestation with resprouter species to increase diversity and resilience in Mediterranean pine forests. *Forest Ecology and Management*, 362: 231-240. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.12.020>
- Grossnickle, S.C. (2012). Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forest.* 43, 711–738.
- Grove, A. T. & Rackham O. (2001). *The nature of Mediterranean Europe*. New Haven & London: Yale University Press.
- Gulías, J., Flexas, J., Abadía, A. & Medrano, H. (2002) Photosynthetic responses to water deficit in six Mediterranean sclerophyll species: possible factors explaining the declining distribution of *Rhamnus ludovici-salvatoris*, an endemic Balearic species. *Tree Physiology*, 22: 87-697.
- Hasselquist, N.J. Allen, M.F. & Santiago, L. S. (2010) Water relations of evergreen and drought-deciduous trees along a seasonally dry tropical forest chronosequence. *Oecologia*, 164: 881-890.
- HLPE. (2017). Una actividad forestal sostenible en favor de la seguridad alimentaria y la nutrición. Un informe del Grupo de alto nivel de expertos en seguridad alimentaria y nutrición del Comité de Seguridad Alimentaria Mundial, Roma.
- Hernández, E.I., Vilagrosa, A., Pausas, J.G & Bellot, J. (2010). Morphological traits and water use strategies in seedlings of Mediterranean coexisting species. *Plant Ecology*, 207:233-244. <http://doi.org/10.1007/s11258-009-9668-2>
- Hernández, L. & Romero F. (2008). Manuales de desarrollo sostenible: 6. Criterios de restauración de zonas incendiadas. Fundación Banco Santander
- Holmgren, M., Scheffer, M. & Huston, M.A. (1977). The interplay of facilitation and competition in plant communities. *Ecology*, 78(7): 1966-1975.

- Holmgren, M., Gómez-Aparicio, L., Quero, J.L. & Valladares, F. (2011). Non-linear effects of drought under shade: reconciling physiological and ecological models in plant communities. *Oecologia* 169, 293–305.
- Hunt, R., D. R. Causton, B. Shipley, A. P. & Askew. (2002). A modern tool for classical growth analysis. *Annals of Botany* 90: 485-488.
- IPCC (2014) Climate Change (2014): Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC, Geneva, Switzerland.  
[http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4\\_syr\\_sp.pdf](http://www.ipcc.ch/pdf/assessment-report/ar4/syr/ar4_syr_sp.pdf). Accessed 03 Aug 2010.
- Keeley, J.E. & Zedler, P.H. (1978). Reproduction of chaparral shrubs after fire: a comparison of sprouting and seedling strategies. *American Middle Naturalist* 99: 142-161.
- Keeley, J.E. et al. (2012). *Fire in Mediterranean Ecosystems: Ecology, Evolution and Management*, Cambridge University Press
- Kirschbaum, M.U.F. (2004). Direct and indirect climate change effects on photosynthesis and transpiration. *Plant Biology* 6: 242-253.
- Larcher, W. (1995). *Physiological plant ecology. Ecophysiology and stress physiology of functional groups*. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg.
- Larcher, W. (2003). *Physiological plant ecology*. 4th ed. Springer, Germany. p. 231.
- Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses*. Academic Press, New York.
- En: Valladares, F. (2004). *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*. Páginas 163-190. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S. A., Madrid. ISBN: 84-8014-552-8.
- Lichtenthaler, H.K. (1996). Vegetation Stress: an Introduction to the Stress Concept in Plants. *Journal of Plant Physiology* 148: 4-14.
- López, G. G. (2007). *Guía de los árboles y arbustos de la península ibérica y baleares*. Ed. Mundiprensa, 896 p.
- Lloret, F. & M. Vilà. (2003). Diversity patterns of plant functional types in relation to fire regime and previous land use in Mediterranean woodlands. *J. Vegetation Science* 14: 387-398.
- Lloret, F. (2004). *Régimen de incendios y regeneración*. En Valladares, F. (Ed.) *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante*, pp: 101-126. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid.

- Lloret, F. (2012). Vulnerabilidad y resiliencia de ecosistemas forestales frente a episodios extremos de sequía. *Ecosistemas, Revista científica de ecología y medio ambiente*. 21, 3: 85-90.
- Long, S., Humphries, S., & Falkowski, P. (1994). Photoinhibition of photosynthesis in nature. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 45, 633–662. doi:10.1146/annurev.pp.45.060194.003221
- Maestre, F. T. & Cortina, J. (2004). Do positive interactions increase with abiotic stress? A test from a semi-arid steppe. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 271: S331–S333.
- Mateo, S. G., & Crespo, V. M. B. (2014). Claves ilustradas para la flora valenciana. Colección Monografías de Flora Montiberica. Jolube Consultor Botánico y Editor, Jaca (Huesca). www.jolube.es
- McDowell, N.G. (2011) Mechanisms linking drought, hydraulics, carbon metabolism, and vegetation mortality. *Plant Physiol* 155(3):1051–1059.
- McDowell, N.G., Fisher, R.A., Xu C., Domec. J.C., Hölttä, T., Mackay, D.S., Sperry, J.S., Boutz, A., Dickman, L., Gehres, N., Limousin, J.M., Macalady, A., Martínez-Vilalta, J., Mencuccini, M., Plaut, J.A., Ogée, J., Pangle, R.E., Rasse, D.P., Ryan, M.G., Sevanto, S., Waring, R.H., Williams, A.P., Yezpe, E.A. & Pockman, W.T. (2013). Evaluating theories of drought-induced vegetation mortality using a multimodel–experiment framework. *New Phytol* 200(2):304–321.
- Mediavilla, S., & Escudero, A. (2003). Stomatal responses to drought of mature trees and seedlings of two co-occurring Mediterranean oaks. *Forest Ecology and Management*, 187(2-3), 281–294. doi: 10.1016/j.foreco.2003.07.006
- Mendes M.M., Gazarini, L.C., & Rodrigues M.L. (2001). Acclimation of *Myrtus communis* to contrasting Mediterranean light environments – effects on structure and chemical composition of foliage and plant water relations. *Env. Exp.Bot.* 45: 165-178.
- Milton, S.J., Aronson, J., & Blignaut, J.N. (2005). Restoring natural capital – shared visions for ecology and economy. *Quest (South African Academy of Science)* 2:39-41.
- Molinas, M. L. & Verdaguer, D. (1993). Lignotuber ontogeny in the cork-oak (*Quercus suber*; *Fagaceae*). I. Late embryo. *American journal of Botany*, Nº 80, 172- 181.
- Montero, G. & Serrada, R. (2013). La situación de los bosques y el sector forestal en España - ISFE 2013. Edit. Sociedad Española de Ciencias Forestales. Lourizán (Pontevedra).

- Montero de Burgos J.L. & Alcanda P. (1993). Reforestación y biodiversidad. Líneas metodológicas de planificación y restauración forestal. *Montes* 33: 57-76.
- Moreno-Gutiérrez, C., Dawson, T.E., Nicolás, E. & Querejeta, J.I. (2012). Isotopes reveal contrasting water use strategies among coexisting plant species in a Mediterranean ecosystem. *New Phytol.* 196, 489–496.
- Naveh, Z. (1991). The role of fire in Mediterranean vegetation. *Botanika Chronika*, No. 10, 386-405.
- Ortuño, F. (1990). El plan para la repoblación forestal de España del año 1939. Análisis y comentarios. *Ecología, Fuera de Serie* 1: 373-392.
- Paula, S., M. Arianoutsou, D. Kazanis, Ç Tavsanoğlu, F. Lloret, C. Buhk, F. Ojeda, B. Luna, J. M. Moreno, A. Rodrigo, J. M. Espelta, S., Palacio, B. & Fernández-Santos, B. (2009). Fire Related for Plant species of the Mediterranean Basin. *Ecology*. 90, 5. 1420
- Pausas, J.G. (1997). Resprouting of *Quercus suber* in NE Spain after fire. *Journal of Vegetation Science* 8: 703-706.
- Pausas, J. G. & Vallejo, V. R. (1999). The role of fire in Europe Mediterranean ecosystems. In 'Remote Sensing of Large Wildfires in Europe Mediterranean Bssin'. (Ed. E Chuvieco) pp. 3-16. Springer Berlin.
- Pausas, J.G.; Ribeiro, E. & Vallejo, V.R. (2004). Post-fire regeneration variability of *Pinus halepensis* in the eastern Iberian Peninsula. *Forest Ecology and Management*. 203: 251-259
- Pausas, J.G. (2004). Changes in fire and climate in the eastern Iberian Peninsula (Mediterranean basin). *Climatic Change*, 63: 337-350
- Pausas, J.G. (2010). Fuego y evolución en el Mediterráneo. *Investigación y Ciencia*. 56-63
- Pausas, J.G, R. Pratt, B, Keeley, J.E., Jacobsen, A.L., Ramirez, A.R., Vilagrosa, A. Paula, S., Lolana, Kaneakua-Pia & Davis, S.D. (2016). Towards understanding resprouting at the global scale. *New Phytologist* 209: 945–954
- Pausas, J.G. & Keeley J. E. (2017). Epicormic Resprouting in Fire-Prone Ecosystems. *Trends in Plant Science*, 22,12.
- Pardo, F. & Gil, L. (2005). The impact of traditional use on woodlands a case study in the Spanish Central System. *Journal of Historical Geography*. 31, 390-408
- Pérez-Cueva, A. (1994). Atlas climático de la Comunidad Valenciana. Valencia: Generalitat Valenciana. pp. 205

- Pugnaire, F. I., Haase, P. & Puigdefábregas, J. (1996). Facilitation between higher plant species in a semiarid environment. *Ecology* 77: 1420-1426.
- Quézel, P. (2000). Taxonomy and Biogeography of Mediterranean Pines (*Pinus halepensis* and *P. brutia*). *Ecology, Biogeography and Management of Pinus halepensis and P. brutia*. Forests Ecosystems in the Mediterranean Basin. Backhuys Publishers, Leiden.
- Querejeta, J.I., Barberá, G.G., Granados, A. & Castillo, V.M. (2008). Afforestation method affects the isotopic composition of planted *Pinus halepensis* in a semiarid region of Spain. *For. Ecol. Manage.* 254, 56–64.
- Reille, M. & Pons, A. (1992). The ecological significance of sclerophyllous oak forests in the western part of the Mediterranean basin: a note on pollen analytical data. *Vegetatio*, 99- 100: 13-17.
- Rodríguez Calcerrada, J. (2007) Influencia de la luz y la sequía estival en la respuesta funcional de brinzales de *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. y *Quercus pirenaica* Willd. : Implicaciones para la regeneración. Tesis Doctoral. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.
- Rojas, B. E., Jovani, S., A.J. & Poveda, L.J.A. (2009). Establecimiento de red de parcelas permanentes en masas coetáneas de *Pinus halepensis* Mill. en la Comunidad Valenciana. 5º Congreso Forestal Español. Sociedad Española de Ciencias Forestales. Ávila.
- Rubio, J. L. (2013). Los procesos de desertificación en un contexto de cambio global. *Mètode*, 34. Disponible en:  
<https://metode.es/revistas-metode/monograficos/los-procesos-de-desertificacion-en-un-contexto-de-cambio-global.html>
- Sack, L. (2004). Responses of temperate woody seedlings to shade and drought: do trait-offs limit potential niche differentiation? *Oikos*. 107:110-127.
- Sánchez-Salguero, R., Ortiz, C., Covelo, F., Ochoa, V., García-Ruiz, R., Seco, J., Carreira, J., Merino, J. & Linares, J. (2015). Regulation of Water Use in the Southernmost European Fir (*Abies pinsapo* Boiss.): Drought Avoidance Matters. *Forests* 6 (6):2241-2260.
- SECF Sociedad Española de Ciencias Forestales. (2010). Informe de la Situación de los Bosques y del Sector Forestal en España. INCA Ingeniería, AGRESTA S. COP.

- Scheidegger, Y., Saurer, M., Bahn, M. & Siegwolf, R. (2000). Linking stable oxygen and carbon isotopes with stomatal conductance and photosynthetic capacity: a conceptual model. *Oecologia* 125, 350–357.
- Society for Ecological Restoration Science & Policy Working Group. (2002). The SER primer on ecological restoration. Retrieved September 1, 2002, from <http://www.ser.org/>
- Smith, T. & Huston, M. (1989). A theory of spatial and temporal dynamics of plant communities. *Plant Ecology*. 83, 1-2, 49-69.
- Thomas, S. C., Halpern, C.B., Falk, D. A., Liguori, D.A. & Austin, K.A. (1999). Plant diversity in managed forests: understory responses to thinning and fertilization. *Ecological Applications*, 9:864–879
- Tielborger, K. & R. Kadmon. (2000). Temporal environmental variation tips the balance between facilitation and interference in desert plants. *Ecology* 81: 1544-1553.
- Trabaud, L. (1987). Fire and survival traits of plants, in: Trabaud, L. (Ed.), *The role of Fire in Ecological Systems*, SPB Academic Publishing, The Hague. pp. 65-89.
- Urli, M., Porté, A.J., Cochard, H., Guengant, Y., Burrell, R. & Delzon, S. (2013) Xylem embolism threshold for catastrophic hydraulic failure in angiosperm trees. *Tree Physiol* 33 (7):672-683.
- Valladares, F., Martínez-Ferri, E., Balaguer, L., Pérez-Corona, E. & Manrique, E. (2000). Low leaf-level response to light and nutrients in Mediterranean evergreen oaks: a conservative resource-use strategy. *New Phytol.* 148: 79-91.
- Valladares, F. (2001). Luz y evolución vegetal. *Investigación y Ciencia*. 73-79.
- Valladares, F. & R. W. Pearcy. (2002). Drought can be more critical in the shade than in the sun: a field study of carbon gain and photoinhibition in a Californian shrub during a dry El Niño year. *Plant Cell and Environment* 25:749-759.
- Valladares, F., Aranda I. & Sánchez-Gómez, D. (2004). La luz como factor ecológico y evolutivo para las plantas y su interacción con el agua. *Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante*. Pp. 335-369. Ministerio del Medio Ambiente EGRAF. Madrid. ISBN: 84-8014-552-8.
- Valladares, F., Arrieta, S., Aranda, I., Lorenzo, D., Sanchez-Gomez, D., Tena, D., Suárez, F., Pardos, J.A., (2005). Shade tolerance, photoinhibition sensitivity and phenotypic plasticity of *Ilex aquifolium* in continental Mediterranean sites. *Tree Physiol.* 25, 1041–1052.



- Valladares, F. & Sánchez-Gómez, D. (2006). Ecophysiological traits associated with drought in Mediterranean tree seedlings: individual responses versus interspecific trends in eleven species. *Plant Biol.* 8 (5), 688–697.
- Valladares, F., Zaragoza-Castells, J., Sánchez-Gómez, D., Matesanz, S., Alonso, B., Portsmouth, A., Delgado, A. & Atkin, O.K. (2008). Is shade beneficial for mediterranean shrubs experiencing periods of extreme drought and latewinter frosts? *Ann. Bot.* 102 (6), 923–933.
- Vallejo, V.R. & Alloza, J. A. (1998). The restoration of burned lands: the case of eastern Spain En: *Large Forest Fires*. (Moreno J.M. Ed) Bachkuys publ., Lieden pp. 91-108.
- Vallejo, V. R., Oliveira, I., Serrasolses, I., Barea, J. M., Cortina, J., Hatzistathis, A., Martins-Louçao, M. A., & Watson, C. (1999). Mitigating desertification through land restauration in Mediterranean areas - The REDMED Project. In: *MEDESERT'99: Synergies dans les processus de désertification en région méditerranéenne*.
- Vallejo, V. R., Cortina, J., Vilagrosa, A., Seva, J. P. & Alloza, J. A. (2003). Problemas y perspectivas de la utilización de leñosas autóctonas en la restauración forestal. In: Rey, J. M., Espigares, T., and Nicolau, J. M., (eds.). *Restauración de ecosistemas mediterráneos*. 11-42. Universidad de Alcalá, Alcalá.
- Vallejo, V.R., Aronson, J., Pausas, J.G. & Cortina, J. (2006). Restoration of Mediterranean woodlands. In: Van Andel J, Aronson J (eds) *Restoration ecology. The new frontier*. Chapter 14, Blackwell Publications, Oxford
- Vallejo, V. R., Bautista, S., & Alloza, J. A. (2009). Restauración de montes quemados en condiciones mediterráneas. *Recursos Rurais*, 5: 55-60.
- Vallejo, V. R. & Alloza, J. A., (2015). Postfire Ecosystem Restoration. In: Paton, D., (eds.). *Wildfire hazards, risks, and disasters*. 229-246. Elsevier
- Vázquez-Yanes C. 1992. La fisiología ecológica de plantas. *Ciencias*. 6:63-68.
- Vélez, M. R. & Montiel M. C. (2003). La Problemática del Monte Mediterráneo. *Investigaciones Geográficas* N° 31. Pp. 121-137. ISSN: 0213-4619. *Investigaciones Geográficas*. Universidad de Alicante, España.
- Vilagrosa, A., J. Bellot, V. R. Vallejo & E. Gil-Pelegrin. (2003). Cavitation, stomatal conductance, and leaf dieback in seedlings of two co-occurring Mediterranean shrubs during an intense drought. *Journal of Experimental Botany* 54: 2015-2024.
- Vilagrosa, A., Morales, F., Abadía, A., Bellot, J., Cochard, H. & Gil-Pelegrin, E. (2010). Are symplast tolerance to intense drought conditions and xylem vulnerability to cavitation coordinated? An integrated analysis of photosynthetic, hydraulic and leaf-level

processes in two Mediterranean drought-resistant species. *Environ. Exp. Bot.* 69, 233–242.

Vilagrosa, A., Hernández, E. I., Luis, V. C., Cochard, H., & Pausas J. G. (2014). Physiological differences explain the co-existence of different regeneration strategies in Mediterranean ecosystems. *New Phytologist* 201(4):1277-1288. <http://doi.org/10.1111/nph.12584>

