



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

MÉTODOS DE ENDURECIMIENTO QUE MODIFICAN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS EN PLÁNTULAS DE PINO PRODUCIDAS EN VIVERO

MARÍA LUISA ÁVILA ANGULO

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTORA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2015

La presente tesis titulada: **MÉTODOS DE ENDURECIMIENTO QUE MODIFICAN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS EN PLÁNTULAS DE PINO PRODUCIDAS EN VIVERO** realizada por la alumna: **MARÍA LUISA ÁVILA ANGULO** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS
POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES**

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



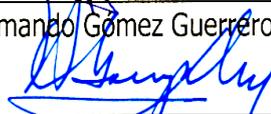
Dr. Arnulfo Aldrete

ASESOR



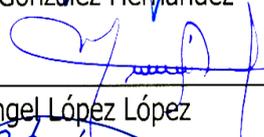
Dr. Armando Gómez Guerrero

ASESOR



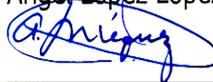
Dr. Víctor A. González Hernández

ASESOR



Dr. Miguel Ángel López López

ASESOR



Dr. Alejandro Velázquez Martínez

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para obtener mis estudios de doctorado y hacer posible la realización de este trabajo

Al Postgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados y su personal académico y administrativo por su orientación y formación en mis estudios de postgrado.

Al Dr. Arnulfo Aldrete por su dirección, asesoría y consejos atinados para llevar a buen término la tesis.

Al Dr. Jesús Vargas Hernández por su valioso apoyo, asesoría y consejos durante el desarrollo de la investigación.

Al Dr. Armando Gómez Guerrero por su asesoría y aportación para el trabajo de investigación.

Al Dr. Víctor A. González Hernández por su apoyo incondicional y asesoría en la etapa de pruebas de laboratorio.

Al Dr. Alejandro Velázquez Martínez por su asesoría durante la investigación.

Al Dr. Miguel Ángel López López por su apoyo y revisión del documento final.

Al Dr. Juan Oliet por su orientación y atinadas observaciones en el análisis de los datos para el tema de endurecimiento mediante fertilización.

Al Dr. Javier López Upton por todas las facilidades, apoyo y asesoría durante la etapa de vivero.

Al M. en C. Iván Ramírez Ramírez por su apoyo, orientación y asesoría en la etapa de laboratorio.

Al personal del laboratorio de Ciencias Ambientales del Postgrado en Hidrociencias del Colegio de Postgraduados por las facilidades para llevar a cabo la etapa de laboratorio, en especial al Sr. Cruz Frutero.

Al personal responsable del Banco de Germoplasma el Vergel de la CONAFOR por la donación de la semilla de *Pinus oaxacana* y *Pinus rudis*.

A la empresa INOVACIONES INDUSTRIALES Y FORESTALES S. A. de C. V. y sus representantes: Carlos Alberto Núñez Hornedo, Rodolfo Octavio Núñez Hornedo y Julio César Núñez Hornedo, por las donaciones de contenedores y materiales para realizar esta tesis.

Al M. en C. Cirilo Rodríguez Méndez por su valioso apoyo incondicional y empeño para el cuidado del experimento, toma de datos y llevar a buen término el mismo.

Al M. en C. Hotón Sánchez por su apoyo en el cuidado del experimento y en la toma de datos del experimento.

A todos aquellos que me apoyaron en la etapa de experimentación y que por cuestiones de olvido omita.

DEDICATORIA

A Dios por impulsarme a superarme cada día, por darme la vida y la inteligencia.

A mis dos grandes amores mis hijos Germán y Mariana quienes son el motor de mi vida, y me impulsan a lograr mis metas. Y cada día me enseñan algo nuevo.

A Cirilo Rodríguez Méndez por tu amor y paciencia en esta etapa importante de mi vida, por enseñarme a ser mejor cada día, a confiar y tener esperanza.

A la memoria de mi padre Ing. Mario H. Ávila Hernández por su ejemplo de fortaleza, dedicación, y gran ser humano.

A mi madre Clara Angulo Basto por su amor, enseñanzas, y apoyo a lo largo de toda mi vida, tanto en los momentos buenos como en los malos.

A mi amigo Hotón Sánchez por tu amistad, gracias por escuchar y apoyarme.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
RESUMEN	
ABSTRAC	
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO	4
2.2. ETAPAS DE VIVERO EN LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES FORESTALES	7
2.3. CALIDAD DE PLANTA.....	10
CAPÍTULO III. ENDURECIMIENTO EN VIVERO DE PLÁNTULAS DE <i>Pinus</i> <i>oaxacana</i> Mirov CON MANEJO DEL RIEGO	12
3.1. RESUMEN.....	12
3.2. INTRODUCCIÓN	13
3.3. MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.3.1. Etapa de vivero	15
3.3.1.1. Evaluación de características morfológicas.....	16
3.3.1.2. Potencial de crecimiento de raíz.....	17
3.3.1.3. Tolerancia de la raíz a la deshidratación	18
3.3.2. Diseño experimental y análisis estadístico	18
3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	19
3.4.1. Análisis de varianza	19
3.4.2. Morfología	20
3.4.3. Potencial de crecimiento de raíz (PCR).....	23
3.4.4. Tolerancia de la raíz a la deshidratación.....	25
3.5. CONCLUSIONES	27
CAPÍTULO IV. EL ENDURECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE <i>Pinus rudis</i> Endl. POR ESTRÉS HÍDRICO Y DE LUZ MEJORA LA SUPERVIVENCIA Y EL CRECIMIENTO EN SITIOS DEGRADADOS	28
4.1 RESUMEN.....	28
4.2. INTRODUCCIÓN	29

4.3. MATERIALES Y MÉTODOS	32
4.3.1. Área de estudio	32
4.3.2. Etapa de vivero	33
4.3.2.1. Tratamientos de endurecimiento	34
4.3.2.3. Tasa de crecimiento relativo durante el endurecimiento	36
4.3.2.4. Evaluación del potencial de crecimiento de la raíz	36
4.3.2.5. Evaluación de la tolerancia de la raíz a la deshidratación	37
4.3.2.6. Diseño experimental y análisis estadístico	38
4.3.3. Etapa de plantación	38
4.3.3.1. Supervivencia, incremento en altura y diámetro, y tasa relativa de crecimiento	38
4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.4.1. Etapa de vivero	40
4.4.1.1. Morfología y tasa de crecimiento relativo de plantas.....	42
4.4.1.2. Potencial de crecimiento de raíz (PCR).....	45
4.4.1.3. Daño a la raíces por desecación.....	47
4.4.2. Etapa de plantación	48
4.4.2.1. Análisis de varianza.....	48
4.4.2.2. Supervivencia, tasa de crecimiento relativo e incremento en altura y diámetro.....	49
4.5. CONCLUSIONES	52
CAPÍTULO V. EL ENDURECIMIENTO CON P Y K AUMENTA LA SUPERVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE <i>Pinus rudis</i> Endl. EN CAMPO?	53
5.1. RESUMEN.....	53
5.2. INTRODUCCIÓN	54
5.3. MATERIALES Y MÉTODOS	58
5.3.1. Ubicación del experimento	58
5.3.2. Etapa de vivero	58
5.3.2.1. Tratamientos de fertilización en la etapa de endurecimiento	59
5.3.2.2. Evaluación de las características morfológicas	61
5.3.2.3. Evaluación del potencial de crecimiento de raíz	61
5.3.2.4. Evaluación de la tolerancia de la raíz a la deshidratación	62
5.3.2.5. Análisis nutrimental.....	63

5.3.3. Etapa de plantación	65
5.3.3.1 Supervivencia y tasa de crecimiento relativo en dos sitios de plantación	66
5.3.4. Análisis estadísticos	66
5.4. RESULTADOS	68
5.4.1. Etapa de vivero	68
5.4.1.1. Morfología	69
5.4.1.2. Potencial de crecimiento de raíz (PCR).....	70
5.4.1.3. Tolerancia de la raíz a la deshidratación	71
5.4.1.4. Análisis nutrimental.....	71
5.4.1.5. Análisis de vectores	73
5.4.2. Etapa de plantación	79
5.4.2.1. Supervivencia y crecimiento relativo en dos sitios de plantación	82
5.4.2.2. Supervivencia y crecimiento sitio restrictivo	83
5.4.2.3. Supervivencia y crecimiento en el sitio favorable.....	85
5.5. DISCUSIÓN	87
5.6. CONCLUSIONES	94
CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA	95
ANEXO FOTOGRÁFICO	116

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3. 1. Valores promedio de las características morfológicas de plantas de <i>Pinus oaxacana</i> Mirov sometidas a distintos niveles de riego como tratamientos de endurecimiento.	22
Cuadro 4. 1 Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para las variables morfológicas en la etapa de vivero para <i>Pinus rudis</i> Endl.....	40
Cuadro 4. 2. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para las variables fisiológicas en la etapa de vivero para <i>Pinus rudis</i> Endl.	41
Cuadro 4. 3. Variables morfológicas después del proceso de endurecimiento de <i>Pinus rudis</i> Endl.	43
Cuadro 4. 4. Temperaturas y humedad relativa promedio del periodo de endurecimiento en plántulas de <i>Pinus rudis</i> Endl.	45
Cuadro 4. 5. Número de raíces iniciales, finales y peso seco generado en la prueba de potencial de crecimiento de raíz.	46
Cuadro 4. 6. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para los diferentes sitios, supervivencia y tasa de crecimiento relativo.....	48
Cuadro 4. 7. Porcentaje de supervivencia y tasa de crecimiento relativo de la plantación de <i>Pinus rudis</i> Endl. en dos sitios.....	51
Cuadro 5. 1. Dosis de fertilización para los tratamientos de endurecimiento en <i>Pinus rudis</i> Endl.	60
Cuadro 5. 2. Interpretación de vectores y posible diagnostico nutrimental para plantas.	64
Cuadro 5. 3. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para los distintos tratamientos de fertilización para las variables medidas al final de la etapa de vivero para <i>Pinus rudis</i> Endl.	68
Cuadro 5. 4. Valores medios de las variables morfológicas después del proceso de producción en plántulas de <i>Pinus rudis</i> Endl.	69
Cuadro 5. 5. Raíces iniciales, finales y peso seco de raíces generadas en la prueba potencial de crecimiento de raíz.	70

Cuadro 5. 6. Concentración de N, P y K en follaje al final de los tratamientos de endurecimiento mediante fertilización en <i>Pinus rudis</i> Endl.....	72
Cuadro 5. 7. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para la supervivencia y tasas de crecimiento relativo.	79
Cuadro 5.8. Valor de significancia (P) de los contrastes para los cuatro muestreos de supervivencia en el sitio de plantación restrictivo.....	79
Cuadro 5. 9. Valor de significancia (P) de los contrastes para las variables de crecimiento en el sitio de plantación restrictivo durante el primer periodo de crecimiento	80
Cuadro 5. 10. Valores de significancia (P) de los contrastes para las variables de supervivencia y crecimiento para el sitio de plantación de condiciones favorables.	81
Cuadro 5. 11. Porcentaje de supervivencia y tasas de crecimiento relativo de <i>Pinus rudis</i> Endl. después del primer ciclo de crecimiento en dos sitios de plantación.....	82
Cuadro 5. 12. Variables relacionadas al crecimiento en plantación después de un ciclo de crecimiento en <i>Pinus rudis</i> Endl. en el sitio de condiciones restrictivas.....	85
Cuadro 5. 13. Variables relacionadas al crecimiento después de un ciclo de crecimiento en <i>Pinus rudis</i> Endl. en el sitio de condiciones favorables.	86

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3. 1. Valores promedios de la producción de raíces en plantas de <i>Pinus oaxacana</i> Mirov con distintos niveles de riego	23
Figura 3. 2. Pérdida de solutos en la prueba de tolerancia de la raíz a la deshidratación en <i>Pinus oaxacana</i> Mirov.	27
Figura 4. 1. Tasa relativa de crecimiento (TCR) en altura (cm semana ⁻¹) y diametro del tallo (mm semana ⁻¹) para plantas de <i>Pinus rudis</i> Endl. durante la etapa de endurecimiento en vivero	44
Figura 4. 2. Daño a la membrana en raíces de <i>Pinus rudis</i> Endl. inducido por desecación en plántulas sometidas a dos tipos de endurecimiento..	47
Figura 5. 1. Nomograma de la respuesta relativa en biomasa, contenido de nutriente y concentración de nutriente. Modificada de Mead <i>et al.</i> , 2010.	64
Figura 5. 2. Daño a la membrana de las raíces por desecación de <i>Pinus rudis</i> Endl. endurecido con distintas dosis de fósforo, potasio y Peters Professional®. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).	71
Figura 5. 3 a-c. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, aérea y radical, contenido relativo de N y concentración relativa de N.	74
Figura 5. 4 a-c. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, aérea y radical, contenido relativo de P y concentración relativa de P.....	75
Figura 5. 5. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, aérea y radical, contenido relativo de K y concentración relativa de K.	76
Figura 5. 6. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, contenido relativo y concentración relativa tratamientos P+, K+ y PT+.	77
Figura 5. 7. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa aérea, contenido relativo y concentración relativa de nutrimentos tratamientos P++, K++ y PT++.	78

MÉTODOS DE ENDURECIMIENTO QUE MODIFICAN LAS CARACTERÍSTICAS MORFOFISIOLÓGICAS EN PLÁNTULAS DE PINO PRODUCIDAS EN VIVERO

RESUMEN

Los procesos de degradación de los bosques han generado grandes áreas con disturbios intensos y recurrentes, por consecuencia la vegetación no recupera su estado original de forma natural, y es necesario realizar reforestaciones. En el proceso de producción en vivero es importante la resistencia de las plantas a factores ambientales de estrés (sequía y heladas) para asegurar la supervivencia de las plantaciones; dicha resistencia se produce principalmente durante la etapa de endurecimiento. Para las especies de pinos en México no se tiene claro el efecto del endurecimiento, por lo cual la presente investigación tuvo como finalidad evaluar tres técnicas convencionales de endurecimiento (reducción del riego, exposición a condiciones ambientales y reducción de la fertilización nitrogenada) en plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov y *Pinus rudis* Endl. En la etapa de vivero se evaluó la morfología y la fisiología por medio del potencial de crecimiento de raíz y daño por desecación de la raíz. Durante la plantación se evaluó la supervivencia y el crecimiento durante el primer año. El endurecimiento por reducción del riego y exposición a condiciones ambientales modificaron la morfología y fisiología de las especies estudiadas. El endurecimiento mediante reducción de la fertilización nitrogenada no tuvo efecto en la supervivencia en un sitio de condiciones restrictivas. Las condiciones físico ambientales del sitio de plantación tiene un efecto marcado en la supervivencia y crecimiento de *Pinus rudis* Endl. En un sitio de condiciones favorables el endurecimiento no tiene efecto en la supervivencia y crecimiento de *Pinus rudis* Endl.

Palabras clave: Estrés hídrico, potencial de crecimiento de raíz, calidad de planta.

HARDENING METHODS TO MODIFY THE CHARACTERISTICS MORPHOPHYSIOLOGICAL PRODUCED IN PINE SEEDLINGS IN NURSERY

ABSTRAC

The processes of forest degradation have generated large areas with severe and recurrent disturbances, consequently the vegetation does not recover its original state naturally, and reforestation is needed. In the production process nursery resistance of plants to environmental stresses (drought and frost) to ensure the survival of plantations is important; said resistance occurs primarily during the hardening step. For species of pines in Mexico there is no clear effect of hardening, so this research aimed to evaluate three conventional hardening techniques (reduction of irrigation, exposure to environmental conditions and reduction of nitrogen fertilization) in seedlings *Pinus oaxacana* Mirov and *Pinus rudis* Endl. In the nursery stage morphology and physiology through root growth potential and damage by drying the root was evaluated. When planting survival and growth was assessed during the first year. The hardening reduction of irrigation and exposure to environmental conditions changed the morphology and physiology of the species studied. The hardening by reduction of nitrogen fertilization had no effect on survival in a restrictive site conditions. Environmental physical conditions of the planting site has a marked effect on survival and growth of *Pinus rudis* Endl. In a favorable site hardening has no effect on the survival and growth of *Pinus rudis* Endl.

Key words: Water stress, root growth potential, plant quality.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El uso del bosque a lo largo de la historia se ha vinculado con la deforestación, el desarrollo socioeconómico y la degradación de los recursos forestales (FAO, 2011). Aunque México es un país con alta diversidad biológica, enfrentamos problemas de degradación de recursos naturales, contaminación, pérdida de biodiversidad, erosión y deforestación que han sido causados en parte por la mala gestión de los recursos naturales (Céspedes y Moreno, 2010) o por la falta de generación de conocimiento.

La degradación de los bosques ha generado grandes áreas con disturbios intensos y recurrentes, lo cual ha traído fragilidad a los ecosistemas y eliminado cualquier posibilidad de que la vegetación recupere su estado original por medios naturales (Vilagrosa *et al.*, 2005), por lo cual es indispensable aplicar prácticas como la forestación, reforestación y conservación de suelos (CONAFOR, 2010).

El éxito o fracaso de las reforestaciones depende de varios factores, como las condiciones ambientales del sitio, la especie, la procedencia, la calidad de la planta, la preparación del terreno, la fecha de siembra, el manejo de la plantación entre otros (Vilagrosa *et al.*, 2005; Palacios *et al.*, 2009; Villar *et al.*, 2012).

La calidad de la planta está vinculada con la producción en vivero, etapa cuya finalidad es conferir características morfológicas y fisiológicas para aumentar la resistencia de las plantas a factores de estrés ambiental, como son temperaturas bajas y sequía, y así aumentar el porcentaje de supervivencia en campo (Dureya, 1985; Birchler *et al.*, 1998; Villar, 2003).

En la etapa de producción en el vivero se le puede conferir resistencia a las plantas mediante tratamientos de endurecimiento que se aplican durante las cuatro a seis semanas finales de la producción. Los métodos de endurecimientos son por reducción

del riego, exposición a condiciones ambientales adversas y por manejo nutricional (Vilagrosa *et al.*, 2006; Landis, 2013).

En México existe escasa información sobre la morfología y fisiología de las plántulas de varias especies silvestres de pino cuando se someten al endurecimiento, y de su efecto en relación con el desempeño posterior en campo. Es importante mejorar la calidad de la planta producida en vivero para aumentar la supervivencia en las plantaciones de reforestación, cuyas tasas de supervivencia actuales son menores de 60% (CONAFOR, 2009).

Por lo tanto, el objetivo general del presente trabajo de investigación fue evaluar el endurecimiento mediante las tres técnicas convencionales (reducción del riego, exposición a condiciones ambientales adversas y reducción de la fertilización nitrogenada), en plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov y *Pinus rudis* Endl. producidas en vivero.

Los resultados de la investigación se muestran a partir del Capítulo III donde se muestra el efecto del endurecimiento mediante distintos niveles de riego en la morfología y fisiología de plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov En el Capítulo IV se analiza el efecto del endurecimiento con ambientes contrastantes en plántulas de *Pinus rudis* Endl. En el Capítulo V se presenta el efecto del endurecimiento mediante fertilización con P, K y fertilizante soluble (Peters Professional®) en plántulas de *Pinus rudis* Endl.

CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. DESCRIPCIÓN DE LAS ESPECIES DE ESTUDIO

En México, la familia de especies forestales que cuenta con mayor presencia es la Pinaceae, y el género más diverso de esta familia es el *Pinus* con aproximadamente 45 especies (Price *et al.*, 1998). Los otros dos géneros presentes son *Picea* y *Abies*.

La mayoría de las coníferas se encuentran adaptadas a las condiciones climáticas de zonas frías ya que son capaces de soportar las bajas temperaturas durante el invierno que superan muchas veces los -40 °C. También se han adaptado a la poca disponibilidad de agua, a los duros fríos de invierno y a la corta duración de la época vegetativa (Colombo *et al.*, 2001).

Entre las especies de pinos recomendadas para actividades de reforestación y restauración de ambientes degradados en el centro de México se encuentran *Pinus montezumae*, *Pinus hartwegii*, *Pinus patula*, *Pinus greggii*, *Pinus oaxacana* y *Pinus rudis* (CONAFOR, 2008).

***Pinus oaxacana* Mirov**

Pertenece a la familia *Pinaceae*. El nombre común por el que se le conoce es Pino calamite. Es un árbol que mide entre 25 y hasta 40 metros de altura. Su tronco llega a medir un metro de diámetro. La copa es más o menos redondeada, la corteza café grisácea con fisuras profundas. Las hojas se distribuyen en grupos de cinco o seis y alcanzan los 30 centímetros de largo (CONAFOR, 2008).

Los conillos masculinos están solitarios o en grupos de dos a cuatro, cerca de las puntas de las ramas. Los conos femeninos son robustos y miden hasta 14 centímetros de largo, de color café o café amarillento. Las semillas miden 2.5 milímetros de largo. Es una especie perennifolia. Las flores se producen de febrero a mayo, mientras que los frutos de noviembre a febrero (Perry, 1991).

Es un árbol considerado de crecimiento de medio a rápido. Le favorecen los sitios soleados. Nativo de México, específicamente de la Sierra Madre del Sur. Se encuentra en los estados de Guerrero, Oaxaca, Chiapas, Estado de México, Puebla, Veracruz y Tlaxcala (Perry, 1991). Es una especie que ha funcionado en la protección y recuperación de suelos delgados en la Cuenca del México (Arias *et al.*, 1990).

Esta especie crece en altitudes que van desde 1,500 a 3,200 m. Presenta su mejor crecimiento en las regiones templadas a climas más cálidos en virtud de las precipitaciones promedio de 1500 mm al año. Prefiere temperaturas entre los 14 y los 19 °C, como máxima los 23 °C. A pesar de que crece en laderas de pendientes mayores al 40% y sitios áridos, tiene un crecimiento óptimo en suelos profundos, arenosos.. Se encuentra asociada a las siguientes especies *P. rudis*, *P. pseudostrobus*, *P. patula var. longepedunculata*, *P. douglasiana*, y *P. nubicola* (Perry, 1991).

Se recomienda para establecer plantaciones comerciales de este árbol, cuyo objetivo sea la producción de madera aserrada. También es utilizado para la restauración de suelos degradados (CONAFOR, 2008).

Pinus rudis Endl.

Pertenece a la familia de las *Pinaceae*. Su nombre común es Pino ocote (Distrito Federal, Estado de México); pino amarillo, pino chino (Durango); ocote blanco (Puebla). Es un árbol monoico con alturas de 8 a 25 m y diámetros de 60 a 75 cm; fuste

recto, cilíndrico, libre de ramas hasta un 60% de su altura; copa angosta, redondeada, ramas fuertes, cortas, extendidas horizontalmente y torcidas. Corteza de color grisáceo oscura a negruzca, áspera, fisurada horizontal y verticalmente, dividida en grandes placas escamosas. Las hojas son acículas de color verde en fascículos de cuatro a cinco, de 10 a 18.5 cm de largo y 1.5 mm de ancho (Salazar y Soihet, 2001).

Árbol perenne, la producción de conos requiere de dos años. La floración ocurre en las primeras semanas de abril y la fecundación ocurre en las primeras semanas de abril y mayo del segundo año. Los conos inician su apertura entre noviembre y diciembre. Las poblaciones de esta especie presentan su máxima producción de conos cada 5 años (Perry, 1991).

Es nativo de México y se distribuye desde los 26°N hasta los 12°N en Guatemala, América Central. Su distribución altitudinal varía de 2200 a 4000 m, con precipitaciones mayores de 1000 mm. El clima donde se establece es templado frío, se encuentra bien representado en pendientes inclinadas. Es una de las especies que alcanzan las últimas asociaciones arbóreas, cerca de los límites máximos altitudinales. Crece en sitios de bajas a muy bajas temperaturas con pendientes moderadas. Forma rodales puros y se encuentra asociado también con *Pinus montezumae*, *Pinus hartwegii*, *Pinus pseudostrobus* y *Abies religiosa*. Crece en suelos pobres y rocosos. Los contenidos de Calcio, Potasio, Fósforo y Nitrógeno son bajos, y altos en Magnesio. La madera se emplea en la industria de la pulpa para papel y de aserrío. En algunas regiones se usa para muebles, durmientes, cercas y leña (Salazar y Soihet, 2001; CONAFOR, 2007).

2.2. ETAPAS DE VIVERO EN LA PRODUCCIÓN DE ESPECIES FORESTALES

En la producción de plántulas es necesario comprender las etapas o fases de desarrollo. Para especies forestales de clima templado el desarrollo puede ser dividido en tres fases: crecimiento inicial (establecimiento), crecimiento rápido (desarrollo) y endurecimiento. En cada una de estas fases, las plantas tienen requerimientos diferentes de luz, agua, espacio en el vivero, tipo de atención y trabajos necesarios para mantenerlas vigorosas (Dumroese *et al.*, 2013).

La etapa de crecimiento inicial comienza con la siembra de las semillas, pasando por la germinación, emergencia y desarrollo de las primeras hojas verdaderas o de las acículas primarias. La duración de esta etapa es de pocas semanas, y depende de la especie. El objetivo de esta etapa es incrementar la germinación uniforme y la supervivencia (Landis *et al.*, 1989; Dumroese *et al.*, 2013).

La etapa de crecimiento rápido inicia desde la emergencia de hojas verdaderas hasta el momento en que la plántula se acerca a la altura objetivo. En esta etapa se presenta un aumento rápido en tamaño, particularmente en el brote terminal. El objetivo en esta fase es reducir el estrés e incentivar el crecimiento aéreo y radical, además de mantener las condiciones ambientales en niveles óptimos (Landis *et al.*, 1989; Dumroese *et al.*, 2013).

La etapa de endurecimiento según Vilagrosa *et al.* (2006) la definen como la fase en la que se potencian determinados mecanismos de la biología de las plantas relacionados con la resistencia a factores de estrés, especialmente al estrés hídrico, térmico, nutricional y mecánico.

Durante el endurecimiento la energía es redirigida hacia el crecimiento de la raíz en detrimento de la parte aérea. El diámetro del cuello y las raíces alcanzan las especificaciones deseadas (Dumroese *et al.*, 2013), y se fijan los brotes laterales (Landis, 2013). Además que, las plantas también se preparan gradualmente para soportar el estrés de transporte y plantación (Landis, 2013). Otro de los objetivos del endurecimiento es de generar reservas de energía para sobrevivir y crecer después de ser plantadas (Dumroese *et al.*, 2013). Se pueden identificar dos procesos fisiológicos en esta etapa la dormancia (latencia) y el acondicionamiento al estrés.

Existen tres métodos principales para realizar el endurecimiento en el vivero: el endurecimiento por reducción del riego, la reducción del aporte de fertilizante (endurecimiento nutricional) y el endurecimiento por bajas temperaturas (Vilagrosa *et al.*, 2006; Grossnickle, 2012; Landis, 2013).

El endurecimiento por reducción del riego tiene por objeto someter a la planta a un determinado grado de sequía para detener el crecimiento y activar los mecanismos de resistencia a condiciones de déficit hídrico (Vilagrosa *et al.*, 2006; Lamhamedi *et al.*, 2003; Landis, 2013). Existen distintas respuestas de las plantas al estrés hídrico, por ejemplo en la morfología de *Pinus pinea* L. se redujo el crecimiento aéreo (Villar *et al.*, 2013) cuando se sometió a un estrés hídrico como una estrategia de la especie a la tolerancia por sequía; en *Eucalyptus globulus* Labill. a mayor estrés hídrico menor crecimiento aéreo y generación de biomasa total (Pita y Pardos, 2001; Coopman *et al.*, 2010).

Algunas respuestas fisiológicas de la planta por efecto del endurecimiento por estrés hídrico son mayor incremento en los azúcares de reservas destinado a las raíces con

respecto a los brotes, ajustes osmóticos (Cannell, 1985), no existe reducción en la concentración de nutrimentos minerales (Villar *et al.*, 1997), y el aumento de la fotosíntesis a bajos potenciales hídricos (Seiler y Johnson, 1988).

El método de endurecimiento nutricional en algunas coníferas puede presentar distintas y contradictorias respuestas, dentro de éstas se encuentra la reducción del crecimiento aéreo, y la transpiración (Vilagrosa *et al.*, 2003), menor consumo de agua (Trubat *et al.*, 2004), y aumenta la expansión de las raíces laterales y la capacidad de mantener la turgencia celular en condiciones de sequía (Tan y Hogan, 1997).

El tercer método de endurecimiento es por el efecto de bajas temperaturas, y este solo se puede aplicar a plantas producidas en invernadero; el efecto es la reducción del crecimiento, el aumento del diámetro y la inducción del letargo de las yemas (Landis, 2013).

La temperatura es un factor ambiental determinante en la regulación de procesos fisiológicos ligados al crecimiento de las plantas. Es un proceso que no es controlado por el viverista y viene impuesto por una reducción de la temperatura durante el cambio de estación del verano al otoño e invierno (Vilagrosa *et al.*, 2006). La reducción de la temperatura, en conjunto con el cambio de fotoperiodo, aumenta la resistencia de los brinzales a temperaturas bajas y la sequía (Burdett, 1990; Bigras *et al.*, 2001; Vilagrosa *et al.*, 2006).

El manejo de la temperatura se relaciona con la velocidad del viento sobre el follaje y el contenido de agua en las plantas, lo cual afecta la transpiración de las plantas. Además interviene el efecto de la temperatura nocturna sobre el proceso de respiración de las plantas. Con el manejo de las temperaturas diurnas el crecimiento y reservas

acumuladas son manejados, el crecimiento aéreo disminuye y los azúcares de reservas son aumentados (Escobar, 2012).

El efecto del endurecimiento por el manejo de la temperatura en el crecimiento depende de la temperatura, tiempo de exposición y sensibilidad de la especie (Roberts y Zwiazek, 1999). Por ejemplo en *Picea glauca* el efecto de las bajas temperaturas redujo la altura de las plantas, aumento la resistencia a bajas temperatura y sequia (Mortazavi *et al.*, 2004); en *Pinus radiata* el endurecimiento disminuyó la tasa de crecimiento relativo mientras que la acumulación de almidón y azúcares aumentó (Greer *et al.*, 2000); para *Pinus contorta* la supervivencia se incrementó, y en *Pseudotsuga menziesii* incrementó la tasa relativa de crecimiento en plantaciones de sitios secos (van den Driessche 1991).

2.3. CALIDAD DE PLANTA

Las plantas cultivadas en vivero tienen como fin desarrollar una serie de atributos morfológicos y fisiológicos que le den ventaja en el sitio de plantación, para asegurar la supervivencia o disminuir la mortalidad ante factores ambientales limitantes como temperaturas extremas y sequías (Rodríguez, 2008).

El éxito o fracaso de las plantaciones en sitios degradados dependen de varios factores como la especie, el sitio, la calidad de planta, el método de preparación del suelo y el manejo de la plantación (South, 2000; Villar, 2003; Navarro *et al.*, 2006; Vilagrosa *et al.*, 2005).

Duryea (1985) define una planta de calidad como aquella que se establece, crece y desarrolla vigorosamente en el sitio de plantación. La calidad de una planta abarca cuatro componentes: 1) la calidad genética, 2) la morfológica, 3) la fisiológica y 4) la

sanitaria. La calidad morfológica y fisiológica se definen por sus características genéticas y se refiere a los estados que pueden adoptar un conjunto de atributos funcionales relacionados con el estado hídrico y la partición carbono a las distintas partes de la planta (Villar, 2003).

Los atributos que determinan una planta de calidad son particulares para cada especie, procedencia, manejo en el vivero, tecnología de producción, condiciones ambientales y manejo de plantación (Rodríguez, 2008; Villar, 2003).

Para algunas especies de pinos cespitosos se han determinado algunos criterios morfológicos para determinar una planta de calidad, como el diámetro al cuello de la raíz alcanzará valores ≥ 4.4 mm, abundantes acículas secundarias, y pesos secos aéreo y de raíz altos (Barnett, 1984; Rodríguez y Duryea, 2003), y una relación parte aérea/ raíz entre 2 y 3 (Birchler *et al.*, 1998).

CAPÍTULO III. ENDURECIMIENTO EN VIVERO DE PLÁNTULAS DE *Pinus oaxacana* Mirov CON MANEJO DEL RIEGO

3.1. RESUMEN

En la actualidad, las plantaciones forestales para la recuperación de áreas degradadas no tienen el éxito esperado. Para mejorar las posibilidades de supervivencia de los árboles en campo, las plantas deben someterse a un proceso de endurecimiento en el vivero. El propósito de la investigación fue evaluar el efecto de tres niveles de riego en la etapa de endurecimiento sobre algunas variables morfológicas y fisiológicas de *Pinus oaxacana* Mirov. Los tratamientos fueron tres niveles de riego: frecuente (F), medio (M) y escaso (E), más un testigo (T); el riego se realizó cuando los tubetes reducían 30, 40-45 y 45-50 % su peso de saturación; en el testigo, el riego se aplicó cada 2 o 3 d. Los indicadores morfológicos fueron: altura (ALT), diámetro al cuello de la raíz (DCR), peso seco aéreo (PSA), peso seco de raíces (PSR), peso seco total (PST), relación parte aérea/raíz (RPAR), índice de esbeltez (IE) e índice de calidad de Dickson (ICD). Para los indicadores fisiológicos, se realizó la prueba de potencial de crecimiento de raíz (PCR) y la tolerancia a la deshidratación de la raíz (TD). El DCR, PSA y PST mostraron diferencias significativas entre los tratamientos. No se detectó diferencia significativa en ALT, PSR, RPAR, IE e ICD. En PCR no existió diferencia entre tratamientos, pero en todos los niveles de riego se presentó emisión de raíces nuevas. El nivel de riego frecuente (reducción al 30%) obtuvo el mayor diámetro, peso seco aéreo y peso seco total. Todos los tratamientos tienen un ICD cercano a 1. El menor daño por deshidratación a la raíz se presentó en el tratamiento de riego medio. Una reducción del riego entre 30 a 45 % en *Pinus oaxacana* Mirov permite la producción de plantas endurecidas, con mayores posibilidades de éxito al momento de ser trasplantadas en campo.

3.2. INTRODUCCIÓN

El resultado de la reforestación en sitios degradados depende las condiciones ambientales del sitio y de la calidad de las plantas al momento de la plantación (Grossnickle, 2005). Para aumentar la supervivencia de una plantación ubicada en sitios con poca disponibilidad de agua en el suelo, es necesario producir plantas de calidad, capaces de sobrevivir, adaptarse y desarrollarse en el sitio (Dureya, 1985). La calidad de la planta es el resultado de la calidad genética, la morfología, la fisiología y el estado sanitario de los propágulos utilizados en la reforestación (Birchler *et al.*, 1998). La planta debe cumplir con valores mínimos de altura y diámetro, características que varían entre sitios de plantación y entre especies (Pinto, 2011).

Durante la producción de la planta de calidad se definen tres etapas de desarrollo: de establecimiento, de crecimiento rápido y de endurecimiento. La planta se maneja por medio del riego, fertilización y temperatura, con el fin de manipular y controlar características morfológicas como altura y diámetro, y fisiológicas de la planta como el almacenamiento de reservas, inducción al letargo y la resistencia a estrés ambiental (Landis *et al.*, 1992; Birchler *et al.*, 1998; Pinto, 2011).

Cada etapa de desarrollo tiene un objetivo. Así, en la de establecimiento se busca promover el desarrollo de la raíz y de la plántula; en la de rápido crecimiento de la parte aérea se busca que alcance aproximadamente el 80 % del tamaño deseado (Landis *et al.*, 1992); el tamaño se determina por el objetivo de la plantación, las condiciones ambientales del sitio, la época de plantación y la genética de la especie (Pinto, 2011).

El endurecimiento es la fase más importante de la producción en vivero, porque es cuando la planta detiene el crecimiento en altura y en raíces pero aumenta en diámetro. Además, en esta fase se pueden promover varias características fisiológicas favorables,

como mayor acumulación de reservas en las raíces que en la parte aérea, inducción de ajuste osmótico y latencia, aumento de la resistencia al frío y aumento de la tasa de fotosíntesis a bajo potencial hídrico (Landis, 2013).

Existen cuatro formas de manipular el proceso de endurecimiento, que son: reducir la cantidad de nitrógeno amoniacal, reducir la frecuencia de los riegos, reducir el fotoperiodo, y exponer las plantas a temperaturas altas y bajas (Grossnickle, 2012; Landis, 2013). Cuando la planta se somete a un estrés hídrico moderado, se promueve una respuesta de letargo y aclimatación al frío (Lamhamedi *et al.*, 2003), aunque no siempre hay una respuesta favorable al estrés hídrico, ya que en ocasiones la falta de humedad inhibe el estado de latencia en la que entran algunas plantas durante el invierno (Landis, 2013).

Algunas respuesta al estrés hídrico durante el endurecimiento son: incremento en los hidratos de carbono destinado a las raíces en mayor grado que en los brotes, estimular el ajuste osmótico (Cannell, 1985), inducción de latencia (Lavender y Cleary, 1974), iniciación de la resistencia al frío (Blake *et al.*, 1979), y aumento de la fotosíntesis a bajos potenciales hídricos (Seiler y Johnson, 1988).

Para determinar el desempeño en campo ante el estrés hídrico se ha aplicado la prueba de pérdida de electrolitos en *Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco (Harper y O'Reilly, 2000); *Pinus radiata* (Petite *et al.*, 2004); *Fraxinus excelsior* L., *Quercus petraea* Matt., y *Acer pseudoplatanus* L. (Mortazavi *et al.*, 2004); *Quercus rubor* L. (Cabral y O'Reilly, 2005); y *Pinus greggii* Engelm., *P. patula* Schiede ex Schltdl. et. Cham (Hodge *et al.*, 2012). En todos estos estudios se encontró una alta relación entre los resultados de la prueba y la supervivencia en campo.

En México, una de las especies usadas para reforestación de áreas degradadas es *Pinus oaxacana* Mirov, debido a su rusticidad, adaptación y buen desarrollo en terrenos de suelos pobres, escasa precipitación y temperaturas extremas. El objetivo general del presente trabajo fue evaluar el efecto de tres niveles de riego en la etapa de endurecimiento sobre la calidad de la planta de *Pinus oaxacana* Mirov producida en vivero. Los objetivos específicos fueron: a) Determinar la respuesta morfológica de la planta al endurecimiento por manejo del riego, en términos de las variables altura (ALT), diámetro (DCR), acumulación de biomasa e índice de calidad de Dickson; y b) Determinar la respuesta fisiológica de la planta al endurecimiento, mediante las pruebas de potencial de crecimiento de raíz (PCR) y tolerancia a la deshidratación de la raíz (TD).

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.3.1. Etapa de vivero

El estudio se realizó en los invernaderos del Postgrado en Ciencias Forestales, del Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, Estado de México (9° 29' N, 98° 54' O y altitud de 2240 m). Para la siembra se utilizó semilla de *Pinus oaxacana* Mirov, proporcionada por el banco de germoplasma “El Vergel”, ubicado en la ciudad de Puebla, estado de Puebla. La siembra se realizó en la segunda quincena del mes de octubre de 2011.

El sustrato utilizado fue la mezcla convencional de turba de musgo, perlita y vermiculita en proporción 60:20:20 en volumen, a la que se adicionó fertilizante de liberación controlada (Osmocote plus) a una dosis de 7 kg m⁻³ de sustrato. Los envases fueron de color negro con aberturas laterales y volumen de 220 mL.

Antes de aplicar los tratamientos de endurecimiento las plántulas se dejaron crecer por nueve meses. El manejo de planta en vivero incluyó riegos ligeros y diarios durante seis semanas, y luego riegos pesados cada dos días durante la etapa de crecimiento rápido. Se hicieron aplicaciones complementarias a la fertilización de liberación controlada con fertilizante soluble (Peters®) una vez por semana en el agua de riego. En la etapa de crecimiento rápido se utilizó la formulación 20-20-20, en dosis de $70 \mu\text{LL}^{-1}$ de nitrógeno, $62.5 \mu\text{LL}^{-1}$ de fosforo y $77.5 \mu\text{LL}^{-1}$ de potasio.

El efecto del estrés hídrico durante la fase de endurecimiento se evaluó a partir del 2 de julio de 2012, en 1600 plantas. Los tratamientos fueron cuatro niveles de riego: testigo (T), frecuente (F), medio (M) y escaso (E). En el testigo el riego se aplicó cada 48-72 horas, para mantener un contenido de humedad en el sustrato cercano a capacidad de campo; en los tratamientos de riego F, M y E los riegos se aplicaron cada vez que el peso del contenedor se redujo al 30% (F), 40-45% (M) y 46-50% (E) del peso a saturación; los tratamientos se mantuvieron en esa condición durante 8 semanas.

3.3.1.1. Evaluación de características morfológicas

Después del período de endurecimiento, a las 8 semanas de iniciados los tratamientos, se aplicaron dos riegos de recuperación. El 10 de septiembre de 2012 se seleccionó una muestra al azar de 12 plantas por tratamiento por bloque, de la parte central de las parcelas, y en ellas se midió la altura total y el diámetro del cuello de la raíz.

A cada planta se le quitó el sustrato de la raíz con agua corriente en abundancia y con cuidado de no perder raíz. Luego se separó la parte aérea y radical con un corte a la altura del cuello de la raíz; el exceso de humedad se retiró con papel absorbente y se empaquetaron ambas partes en bolsas de papel, debidamente identificadas. Las muestras se colocaron en un horno de secado, a una temperatura de $70 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 72 h, y después

se obtuvo el peso seco de la parte aérea y de la raíz, y el peso seco total de la planta. Con los datos recabados se calculó el índice de esbeltez (relación entre la altura de la planta y el diámetro), la relación vástago /raíz (RPAR), y el índice de calidad de Dickson (ICD) con la siguiente ecuación (Dickson *et al.*, 1960):

$$ICD = \frac{PST}{(altura/diámetro) + (PSA/PSR)}$$

Donde PST corresponde al peso seco total (g), PSA al peso seco aéreo (g), y PSR al peso seco raíz (g); la altura se expresa en centímetros y el diámetro en milímetros.

3.3.1.2. Potencial de crecimiento de raíz

La prueba potencial de crecimiento de raíz (PCR) consistió en colocar una muestra aleatoria de plantas en un ambiente controlado favorable para promover el rápido crecimiento de las raíces. El tamaño de muestra fue de 12 plantas por tratamiento. Las plantas se trasplantaron en macetas con una capacidad de 10 L, en un sustrato de corteza y perlita en una proporción de 70:30, y al momento del trasplante se cortaron todas las raíces blancas. Las plantas se mantuvieron durante 40 días en el invernadero, con la aplicación de riegos diarios. El arreglo de las macetas fue al azar. A los 40 días las plantas se sacaron de las macetas, para lavar con cuidado las raíces y realizar la medición. Las variables medidas fueron: el número total (NTR), la longitud total (LTR) y el peso seco (PSRN) de las raíces nuevas en crecimiento. Las raíces nuevas se identificaron por medio del color blanco y sólo se consideraron aquellas que presentaban una longitud mayor a 1 cm.

3.3.1.3. Tolerancia de la raíz a la deshidratación

La prueba de tolerancia de la raíz a la deshidratación se hizo mediante la pérdida de electrolitos de la raíz (PER) que mide los daños ocasionados a las raíces en crecimiento después de someter el sistema radical a un ambiente deshidratante. El procedimiento se realizó de acuerdo con la técnica descrita por McKay (1998) en una muestra de 12 plantas por tratamiento. Las plantas se sometieron a una temperatura de 35 °C y humedad relativa de 30% durante 3 h seguidas, en una estufa de secado marca Shel Lab® modelo 1675-S. Después, de cada planta se cortaron diez segmentos de 1 cm de los ápices de las raíces en crecimiento del cuarto inferior de la raíz. En tubos de ensaye con 50 mL de agua desionizada se agregaron las raíces extraídas, después de 24h se determinó la conductividad eléctrica de la solución (CEi). Posteriormente, los tubos con las raíces se ingresaron a la autoclave durante 20 min a 120 °C, para matar el tejido y destruir las membranas, y medir nuevamente la conductividad eléctrica (CEf).

La PER se calculó mediante la siguiente ecuación: $(CEi/CEf) (100)$, donde CEi es la conductividad eléctrica de la solución con las raíces recién sumergidas en agua y CEf es la conductividad eléctrica de la solución después de destruir las membranas celulares para liberar a los solutos del citoplasma. La conductividad eléctrica de la solución estima la cantidad de solutos del citoplasma que fueron liberados a la solución y, por lo tanto, estima el daño ocasionado a las membranas celulares durante la deshidratación de la raíz.

3.3.2. Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se estableció en bloques completos al azar, en cuatro camas de crecimiento; cada cama se consideró un bloque. Cada tratamiento constó de 100 plantas por bloque, las cuales se colocaron en cuatro mesas portatubetes. Los datos se

sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el procedimiento PROC GLM con el Programa SAS versión 9.0. Para las variables índice de esbeltez, relación vástago/raíz, índice de Dickson se transformaron con la función arco seno para normalizar los datos. Para las variables del PCR además se aplicó una regresión lineal para encontrar la tendencia de los datos.

El modelo estadístico utilizado para el diseño de bloques completamente al azar fue el siguiente: $y_{ij} = \mu + \beta_i + \tau_j + \epsilon_{ij}$. Donde, y_{ij} = variable respuesta (altura, diámetro, peso seco aéreo, peso seco de raíz, peso seco total, índice de esbeltez, relación parte vástago/raíz, índice de Dickson, número total de raíces nuevas, longitud total de raíces nuevas, peso seco de raíces nuevas y pérdida de electrolitos de la raíz); μ = media general; β_i = efecto del i-ésimo bloque; τ_j = efecto del j-ésimo tratamiento; ϵ_{ij} = error asociado al tratamiento j en el bloque i; i = bloque 1, 2, 3, 4; j = niveles de riego testigo, frecuente, medio, escaso. Las diferencias significativas se consideraron cuando $P \leq 0,05$. La prueba de Tukey se usó para determinar la diferencia mínima significativa entre tratamientos.

3.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1. Análisis de varianza

Los análisis de varianza indicaron diferencias significativas entre los niveles de riego para las variables diámetro, peso seco aéreo, peso seco total, pérdida de electrolitos, pero no en las variables altura, peso seco de raíz, relación vástago/raíz, índice de esbeltez, índice de calidad de Dickson, número total de raíces nuevas, longitud total de raíces nuevas y peso seco de raíces nuevas.

3.4.2. Morfología

Los tratamientos de endurecimiento con distintos niveles de riego presentan diferencias significativas para las variables diámetro, peso seco aéreo y peso seco total, mientras que para el resto de las variables no hubo diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 3. 1).

Los tratamientos testigo y de riego frecuente (reducción de 30 % respecto a saturación) tuvieron los mayores valores en diámetro, peso seco aéreo y total, aunque el riego medio generó valores similares de peso seco aéreo y total. El tratamiento con menores valores de diámetro y peso seco total fue el de riego escaso. En todos los tratamientos hubo valores de ICD cercanos a 1, lo cual indica balance entre la parte aérea y radical de la planta, similar.

La respuesta de las plantas en el vivero a los distintos niveles de riego se relaciona con la disponibilidad de agua para las plantas; a mayor cantidad de agua disponible, mayor diámetro y biomasa pero el crecimiento de la raíz no se reduce, lo cual contradice los resultados de *Pinus pinea* L., en donde la planta registro reducción en el crecimiento (Villar *et al.*, 2013). En estudios con otras especies se han encontrado resultados similares a la respuesta al estrés hídrico severo en peso seco del vástago y el total, pues a mayor estrés hídrico se alcanza menor producción de biomasa total, como en el caso de *Eucalyptus globulus* Labill. (Pita y Pardos, 2001; Coopman *et al.*, 2010). En *Pinus halepensis* Mill. (Royo *et al.*, 2001) y *Quercus ilex* L. (Planelles *et al.*, 2004; Villar *et al.*, 2004) el estrés hídrico tampoco tuvo efecto en la relación parte aérea/raíz.

El tratamiento de riego medio (reducción a 40 %) presentó valores estadísticamente similares de peso total aéreo y total con respecto al tratamiento con riego frecuente y al testigo. Es decir, el desempeño de la planta de estos tratamientos en campo no se puede

predecir con las variables de morfología, por lo que sería necesario evaluar la supervivencia y respuesta de las plantas en campo, en respuesta a los tratamientos aplicados en la etapa de endurecimiento en vivero.

Cuadro 3. 1. Valores promedio de las características morfológicas de plantas de *Pinus oaxacana* Mirov sometidas a distintos niveles de riego como tratamientos de endurecimiento.

Nivel de riego	Característica							ICD [†]
	Altura (cm)	Diámetro (mm)	Vástago	Peso seco (g)		Relación PA/R [†]	Índice de esbeltez	
Frecuente	29.4 ± 2.9	6.5 ± 0.1 a	7.5 ± 0.6 a	2.3 ± 0.1	9.8 ± 0.6 a	3.4 ± 0.2	4.6 ± 0.4	1.3 ± 0.1
Medio	26.7 ± 1.4	6.1 ± 0.2 bc	7.1 ± 0.3 ab	2.0 ± 0.3	9.1 ± 0.6 ab	3.6 ± 0.3	4.5 ± 0.3	1.2 ± 0.1
Escaso	26.4 ± 1.5	5.9 ± 0.2 c	6.4 ± 0.4 b	2.0 ± 0.2	8.4 ± 0.7 b	3.3 ± 0.3	4.6 ± 0.2	1.1 ± 0.2
Testigo	28.9 ± 3.0	6.3 ± 0.2 ab	7.5 ± 0.3 a	2.2 ± 0.2	9.7 ± 0.5 a	3.6 ± 0.3	4.7 ± 0.6	1.2 ± 0.1

[†]RPAR = relación parte vástago/raíz. ICD = índice de calidad de Dickson. Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey p≤0.05)

3.4.3. Potencial de crecimiento de raíz (PCR)

La prueba de PCR no mostró diferencia significativa entre los tratamientos de niveles de riego (Figura 3.1); la correlación entre el nivel de riego y la producción de nuevas raíces es alta, cuando el nivel de riego esta entre menor y escaso disminuye la producción de raíces blancas.

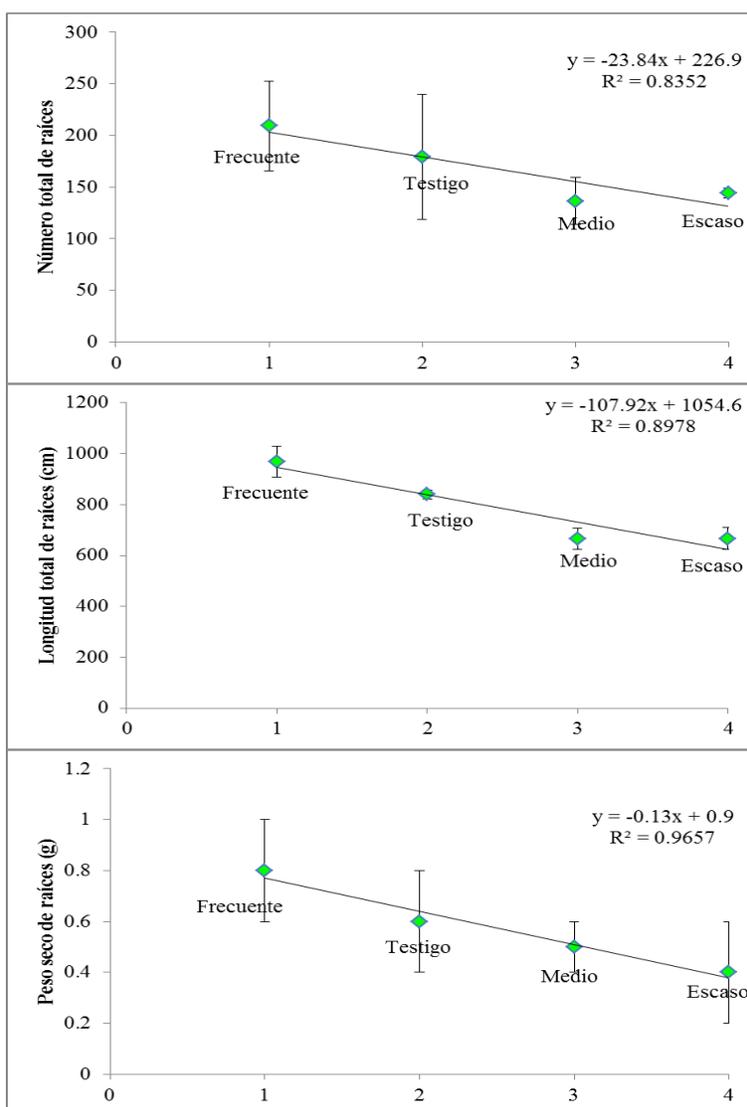


Figura 3. 1. Valores promedios de la producción de raíces en plantas de *Pinus oaxacana* Mirov con distintos niveles de riego. Barras con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

En trabajos similares con otras especies *Quercus ilex* L., la mayor biomasa de raíces se presentó en el testigo, mientras que en los tres niveles de estrés hídrico bajo, medio y severo (40, 45 y 50% de pérdida de peso desde la saturación) no hubo diferencia en el número de raíces emitidas (Villar *et al.*, 2004). En algunas coníferas como *Pinus halepensis* Mill., el promedio de raíces generadas entre tratamientos fue de 30 a 42 raíces por planta, y la longitud de las raíces varió entre 80 y 100 cm, la respuesta al estrés hídrico no presentó diferencias entre tratamientos, excepto en el tratamiento con un estrés severo (Villar *et al.*, 1997). En ambos casos la respuesta en la formación de raíces nuevas al máximo estrés fue negativa.

En contraste los resultados obtenidos la actividad de endurecimiento con estrés hídrico no presenta un efecto en la capacidad de regenerar el sistema radical, una de las causas puede deberse a la intensidad y época de endurecimiento (Grossnickle, 2005), la prueba es una medida de vigor de la planta y nos indica de manera general que los sistema fisiológicos están funcionando correctamente (Villar *et al.*, 2004), además que la emisión de raíces nuevas es sensible a la historia de estrés por sequía experimentada por la plántula (Tinus, 1996). En base a lo anterior podemos inferir que ninguno de los tratamientos causaron estrés hídrico severo en la planta, y no existió diferencia entre los tratamientos y el testigo; sustentando esta hipótesis en *Pinus halepensis* Mill. sometido a un estrés hídrico severo presento una disminución en el número de raíces nuevas (Villar *et al.*, 1997), lo cual nos indica que para la especie *Pinus oaxacana* Mirov requería de una reducción del riego a un nivel mayor para encontrar respuesta negativa

De acuerdo, con los resultados obtenidos la variabilidad entre los datos es alta como se puede observar en la Figura 3.1, por lo tanto no es posible podemos concluir cual es el

tratamiento que promueve una mayor regeneración de raíces. De manera general, en todos los tratamientos el número de raíces emitidas en promedio fue mayor a 100 raíces y se infiere que existió una respuesta positiva en *Pinus oaxacana* Mirov en todos los niveles de riego.

Debido a que la prueba PCR se relaciona directamente con el desempeño en campo, por lo tanto el resultado esperado es a un mayor PCR una mayor capacidad de desarrollo de las plantas en campo. Este supuesto se basa en tres hipótesis, la primera cuando el PCR es elevado se correlaciona con una mayor capacidad de formar raíces en campo y por consecuencia mayor capacidad de evitar el estrés hídrico. La segunda hipótesis relaciona si el PCR es alto indica que la planta está en una máxima resistencia al estrés ambiental; y la última hipótesis menciona que la prueba mide que la plántula presenta integridad funcional y por lo tanto las funciones de absorción de agua y parte aérea están en un estado fisiológico óptimo (Villar *et al.*, 1997). De acuerdo con lo anterior podemos relacionar los datos e inferir que *Pinus oaxacana* Mirov tiene la capacidad de regenerar el sistema radical ante un evento de sequía severo.

3.4.4. Tolerancia de la raíz a la deshidratación

En la prueba de tolerancia de la raíz a la deshidratación se encontró diferencia significativa en la pérdida de electrolitos entre los tratamientos de niveles de riego. El tratamiento de riego medio registro el menor daño a la raíz por deshidratación con 69% y el valor de P igual a 0.02, mientras que los niveles de riego frecuente, escaso y el testigo tuvieron un daño similar por la deshidratación con la liberación de los solutos del citoplasma entre el 84 y 96 % (Figura 3.2); este mismo resultado se obtuvo en *Quercus ilex* L. cuando se aplicó acondicionamiento con estrés hídrico medio (Villar *et al.*, 2004).

La capacidad de las membranas celulares para controlar la velocidad de movimiento de los iones dentro y fuera de las células se utiliza como una prueba de daño a una gran variedad de tejidos (Baji *et al.*, 2001; Masoumi *et al.*, 2010;). Por lo tanto, la prueba mide la capacidad de las membranas del sistema radical para contener iones; cuando las membranas tienden a perder iones y al cuantificar la pérdida de iones nos indica la viabilidad de la raíz (Landis and Ritchie, 2010). Basado en lo anterior el tratamiento con nivel medio respondió con una mayor estabilidad de las membranas celulares por que presentó la menor pérdida de solutos del citoplasma, lo cual es un efecto del ajuste osmótico de las plantas (Villar *et al.*, 2004). Mientras que los niveles de riego frecuente y escaso presentaron una respuesta contraria.

Otra aplicación de la prueba es la predicción de la supervivencia en campo, por la determinación del daño a la membrana celular de las raíces finas, las cuales son importantes por el efecto directo en el establecimiento en campo (Villar *et al.*, 2004). Para un sitio con limitaciones de humedad, se recomienda establecer las plantas con un menor daño en las raíces.

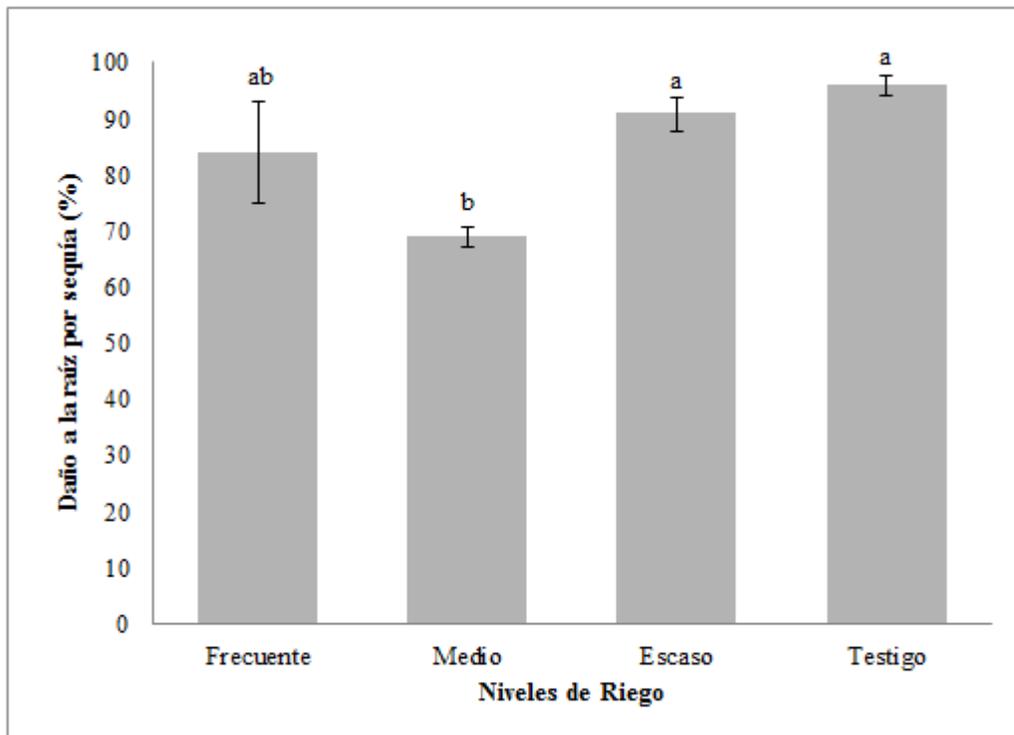


Figura 3. 2. Pérdida de solutos en la prueba de tolerancia de la raíz a la deshidratación en *Pinus oaxacana* Mirov. Barras con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

3.5. CONCLUSIONES

Basados en los resultados concluimos que el endurecimiento con reducción del riego en plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov desarrolló parámetros morfológicos en equilibrio. La reducción del riego genera aumento en el diámetro al cuello de la raíz sin afectar el crecimiento del sistema radical. La especie tolera un nivel del 50% en la reducción del riego sin presentar menor regeneración del sistema radical. Una reducción del riego entre 30 a 45 % en *Pinus oaxacana* Mirov permite la producción de plantas endurecidas, con mayores posibilidades de éxito al momento de ser trasplantadas en campo.

CAPÍTULO IV. EL ENDURECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Pinus rudis* Endl. POR ESTRÉS HÍDRICO Y DE LUZ MEJORA LA SUPERVIVENCIA Y EL CRECIMIENTO EN SITIOS DEGRADADOS

4.1 RESUMEN

La supervivencia de las reforestaciones se relaciona con múltiples factores pero los relacionados con la producción en vivero son el manejo de la planta y la calidad de planta. La actividad de endurecimiento modifica las características morfológicas y fisiológicas de la plántula, para generar resistencia a factores de estrés ambiental. El siguiente experimento evaluó el efecto de dos tiempos de endurecimiento en dos condiciones de luz en plántulas de *Pinus rudis* Endl. mediante variables morfológicas y fisiológicas, la supervivencia y crecimiento en dos sitios de plantación. En la etapa de vivero las variables morfológicas que presentaron diferencias significativas entre tratamientos fueron el diámetro al cuello de la raíz (DCR), peso seco de raíces y la relación parte área/ raíz (RPAR). El periodo de seis semanas de endurecimiento y a pleno sol registraron los máximos valores del DCR con 6 mm, de biomasa de raíces con 1.35 g y la RPAR de 2.7. Las condiciones ambientales del sitio de plantación influyeron en la supervivencia, en la tasa relativa de crecimiento y los incrementos tanto en altura como el DCR. El sitio de condiciones favorables presentó el 99% de supervivencia, mientras que en el sitio de condiciones restrictivas la supervivencia máxima fue del 32%. La técnica de endurecimiento por exposición a condiciones ambientales naturales en *Pinus rudis* Endl. modificó la morfología y la fisiología de las plantas. Las condiciones físico ambientales del sitio influyen en la supervivencia de reforestaciones.

4.2. INTRODUCCIÓN

La degradación de áreas forestales no solo es consecuencia de la actividad humana, sino también de otros factores naturales como la topografía y los regímenes de temperatura y precipitación, que se relacionan con la pérdida del bosque (McDowell *et al.*, 2008; De Micco y Arone, 2012). La poca o nula adaptación de las especies forestales ante los eventos climáticos extremos produce mortalidad de los bosques, y además afecta las tasas de regeneración de las especies forestales (Kalberer *et al.*, 2006). Lo anterior con frecuencia obliga a implementar reforestaciones tanto en sitios degradados como en áreas bajo manejo forestal.

Además de los factores abióticos y bióticos (Vilagrosa *et al.*, 2005; Villar *et al.*, 2012), la selección de la especie y la calidad de la planta influyen en la supervivencia de las reforestaciones. Mediante la selección de la especie correcta para un sitio de reforestación se disminuye el problema de la mortalidad en el establecimiento, al ser compatible la especie con las características ecológicas del sitio (Villar, 2003; Vilagrosa *et al.*, 2005; Gómez *et al.*, 2012).

En la producción de especies forestales las características deseables de la planta acordes con el sitio de plantación, son determinantes en el éxito o fracaso de las plantaciones. Por ejemplo, mientras los pinos se adaptan a diferentes texturas de suelo, las casuarinas prosperan en texturas gruesas y los fresnos desarrollan bien en suelos arcillosos (Osman, 2013). Existen especies sensibles a inundación. Cuando los sitios presentan condiciones limitantes (sequía y heladas) la planta ideal es la que tenga altas tasas de crecimiento en campo,

desarrolle resistencia a perturbaciones, mejore la fertilidad del suelo y favorezca el desarrollo de horizontes orgánicos (Vilagrosa *et al.*, 2005).

Con respecto a la calidad de los materiales con alta capacidad de supervivencia para las reforestaciones, no existen indicadores morfológicos y fisiológicos estandarizados para cada especie, que permitan determinar la planta ideal específica de cada una; la calidad del material depende de la especie, el sitio y objetivo de la reforestación (Villar, 2003; Grossnickle, 2012; Pinto *et al.*, 2012).

Es entonces importante identificar las características morfo-funcionales óptimas en cada especie y las técnicas para alcanzarlas (Villar *et al.*, 2004; Vilagrosa *et al.*, 2005; Pinto, 2011). Entre las características más comunes que funcionan como predictores de desempeño en campo en especies de pinos cespitosos, está el diámetro al cuello de la raíz. Por ejemplo, *Pinus palustris* Mill. debe alcanzar diámetros ≥ 4 mm (Rodríguez y Duryea, 2003), y *Pinus devoniana* Lindley los diámetros deben ser ≥ 6 mm (Gómez *et al.*, 2012); en ambos casos las plantas también deben presentar tallos lignificados, acículas secundarias y sistema radical abundante. En general, el tamaño de la planta es un predictor confiable del comportamiento en supervivencia y crecimiento (Ramírez y Rodríguez, 2004; Villar *et al.*, 2012).

En México el manejo convencional en vivero para especies de coníferas se compone de tres etapas: de crecimiento inicial (desde la siembra), de desarrollo o rápido crecimiento, y la de endurecimiento. La calidad de planta al final del ciclo de vivero depende del manejo que se aplique durante todo el proceso, pero la etapa de mayor importancia para lograr una

adaptación de las planta a factores de estrés como sequía y temperaturas bajas, es la de endurecimiento (Landis, 2013).

El endurecimiento es un proceso que aparece de manera natural debido a que las plantas en otoño e invierno se someten a cambios de fotoperiodo y a temperaturas bajas que generan una respuesta en su conformación y en su funcionamiento (Vilagrosa *et al.*, 2005; Kalberer *et al.*, 2006).

El objetivo del endurecimiento es reducir el crecimiento de brotes, retraslocar los carbohidratos del meristemo lateral hacia el tallo y raíz para aumentar sus diámetros, desarrollar paredes celulares gruesas y rígidas que sirven como recubrimiento que evita el daño por heladas, aclimatar las plantas al cambio de condiciones ambientales de manera gradual, desarrollar follaje cubierto de cera para soportar el estrés por sequía, y fortalecer la planta para sobrevivir y crecer en condiciones limitantes (Vilagrosa *et al.*, 2006; Landis, 2013).

Existen tres formas comunes de realizar el endurecimiento: mediante la reducción del riego, por exposición a temperaturas bajas o altas, y por reducción de la fertilización nitrogenada (Vilagrosa *et al.*, 2006; Landis, 2013). El periodo de endurecimiento se realiza hacia las últimas semanas de producción (Landis, 2013), periodo que puede variar entre cuatro y ocho semanas dependiendo de la especie y la forma de endurecimiento.

Por ejemplo, en *Quercus ilex* el endurecimiento aplicado por tres meses no tuvo efecto en el tamaño de la planta, pero existe la teoría que un periodo largo de endurecimiento incrementa la tolerancia a la sequía (Villar *et al.*, 2004); en el caso de *Q. suber* el periodo de 3.5 meses de endurecimiento mediante la reducción de la fertilización nitrogenada,

redujo la acumulación de biomasa aérea en 50%, lo cual produjo plántulas adecuadas para sitios secos y fríos (Chirino *et al.*, 2004). El proceso de endurecimiento es importante, pero no está desvinculado a las demás etapas de producción, ya que la calidad de planta se refleja en su estado nutrimental, morfología y funcionalidad de la misma (Villar, 2003).

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la respuesta de plántulas de *Pinus rudis* Endl. al endurecimiento bajo dos condiciones de luminosidad y en dos periodos de tiempo mediante indicadores morfológicos, fisiológicos, y de desempeño en campo por medio de la supervivencia y el crecimiento.

4.3. MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1. Área de estudio

El experimento se realizó en dos etapas: vivero y plantación. La etapa de vivero se llevó a cabo en los invernaderos para producción de especies forestales del tipo denominado dos aguas con aireación lateral en Montecillo, Texcoco, Estado de México (19° 28' 4.26" N, 98° 53' 42.18" O y altitud de 2250 m).

Para la etapa de plantación se seleccionaron dos sitios. El primero fue el Parque Nacional Molino de las Flores Nezahualcóyotl ubicado en Texcoco, Estado de México (19° 30' 30" N, 98° 50' 4" O y altitud de 2300 m), donde predomina un suelo feozem háplico en su fase lítica, en áreas con pendientes pronunciadas se observa la roca madre y tepetates clasificados como litosol y regosol eútrico; los cuales presentan una textura de arena migajosa (Ortiz y Gutiérrez, 1999). Por sus características se denominó sitio de condiciones restrictivas. El segundo sitio de plantación se ubicó en Montecillo, Texcoco, Estado de

México, en donde se utilizó una cama de crecimiento de 0.90 m de alto x 10 m de largo x 1.5 m de ancho que se relleno con suelo agrícola de textura franco-arenosa; este sitio se clasificó como de condiciones favorables.

En ambos sitios se presenta un clima similar del tipo templado subhúmedo con lluvias en verano, con una precipitación media anual de 750 mm y una temperatura media anual de 15.5 ° C, con oscilación térmica que varía entre 5 y 7 °C [C (w0) (w) b (i) g']; García, 1981].

4.3.2. Etapa de vivero

La siembra de *Pinus rudis* Endl. se hizo durante la primera quincena del mes de octubre de 2012. La semilla fue proporcionada por el banco de germoplasma “El Vergel” ubicado en la ciudad de Puebla, Puebla. El sustrato utilizado fue una mezcla de corteza composteada de pino, turba de musgo, perlita y vermiculita en una proporción de 70:10:10:10 en volumen, a la que se adicionó fertilizante de liberación controlada Osmocote Plus® (15N-9P-12K) con tiempo de liberación de ocho a nueve meses, en dosis de 7 **kg/m³** de sustrato (1050 **ppm** de nitrógeno, 271 **ppm** de fosforo y 697 **ppm** de potasio). Se utilizaron envases individuales (tubetes) de color negro con aberturas laterales, con las siguientes medidas: 11.9 cm de largo, 6 cm de diámetro superior, 4.9 cm de diámetro inferior y volumen de 220 mL.

Las plantas crecieron dentro de un invernadero con cubierta de plástico durante ocho meses, y posteriormente se inició el endurecimiento por un periodo de mes y medio. El manejo de planta en vivero incluyó riegos ligeros y diarios durante la primera etapa de crecimiento inicial (seis semanas), y riegos pesados cada 2 días durante la etapa de crecimiento rápido. Durante el último mes se hicieron aplicaciones semanales de

fertilizante soluble (Peters®) en el agua de riego complementarias al fertilizante de liberación controlada, para lo cual se utilizó la fórmula Peters® 20N-20P-20K, en dosis de 0.5 g L⁻¹ (100 ppm de nitrógeno, 43 ppm de fósforo y 83 ppm de potasio).

4.3.2.1. Tratamientos de endurecimiento

La etapa de endurecimiento se inició el 15 de junio de 2013, y consistió en exponer las plántulas a condiciones ambientales contrastantes externas al invernadero en dos periodos de tiempo y en dos condiciones de luz, con la finalidad de detener el crecimiento aéreo de la plántula, lograr aumentar el diámetro del tallo y lignificarlo, y generar una respuesta de adaptación a condiciones de estrés ambiental.

El primer periodo fue de seis semanas y el segundo de cuatro semanas. El manejo de la luz consistió de tres niveles: sombreado con malla sombra de 50% por dos semanas más 4 o 2 semanas a pleno sol, y exposición directa por a la radiación solar. El testigo no se expuso a pleno sol.

La combinación de los periodos de exposición y las condiciones de luz conformaron los siguientes tratamientos: T₁, endurecimiento por seis semanas con 15 días de sombra y 30 días a pleno sol; T₂, endurecimiento por seis semanas a pleno sol; T₃, endurecimiento por cuatro semanas con 15 días de sombra y 15 días a pleno sol; T₄, endurecimiento por cuatro semanas a pleno sol. Durante el periodo de endurecimiento en todos los tratamientos, incluyendo al testigo, se redujo la frecuencia de riego aplicado cada 2 o 3 días hasta saturación. Para el manejo de la luminosidad se acondicionó un área con malla sombra negra a 50% de luz.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar, en una cama de crecimiento con cuatro repeticiones por tratamiento. En total se utilizaron 1080 plantas, y cada tratamiento constó de 54 plantas por repetición, las cuales se colocaron en rejillas portatubete.

Durante el endurecimiento se registraron las variables de temperatura (°C) y humedad relativa (%), para invernadero, malla-sombra e intemperie, con “data loggers” tipo HOBO U12 (Onset® Bourne, MA.).

4.3.2.2. Evaluación de las características morfológicas

Al final de la etapa de endurecimiento se evaluó una muestra de 48 plantas seleccionadas al azar en cada tratamiento; de cada repetición se eligieron 12 plantas las cuales se extrajeron de la parte central de las mesas porta-tubetes. A cada planta se le midió el diámetro del cuello de la raíz (DCR). Después a cada planta se le quitó el sustrato de la raíz con abundante agua corriente y con cuidado de no perder raíz en el lavado. Luego se separó la parte aérea y radical con un corte a la altura del cuello de la raíz; el exceso de humedad se retiró con papel absorbente y se empaquetaron ambas partes por separado en bolsas de papel, debidamente identificadas. Las muestras se colocaron en un horno de secado, a una temperatura de 70 °C durante 72 h, y después se midió el peso seco de la parte aérea y de la raíz, y la biomasa total de la planta. Con los datos de pesos secos se calculó la relación parte aérea /raíz (RPAR).

4.3.2.3. Tasa de crecimiento relativo durante el endurecimiento

El crecimiento relativo de las plántulas durante el periodo de endurecimiento se determinó para las variables altura y diámetro de tallo evaluadas en dos tiempos, al inicio y al final del endurecimiento. Para calcular la tasa de crecimiento relativo (TRC) se utilizó la siguiente ecuación (Evans,1972; Hunt 1982): $TRC = (\ln X_2 - \ln X_1) / t$, donde TRC es la tasa de crecimiento relativo, Ln es el logaritmo natural, X2 es la altura o el diámetro al final del endurecimiento, X1 es la altura o el diámetro al inicio del endurecimiento, t es el tiempo de endurecimiento en semanas. El tamaño de muestra por tratamiento fue de 48 plantas elegidas al azar.

4.3.2.4. Evaluación del potencial de crecimiento de la raíz

La prueba de potencial de crecimiento de la raíz (PCR) consistió en colocar una muestra aleatoria de plantas en un ambiente controlado favorable para promover el rápido crecimiento de las raíces. Dicha prueba se estableció después de un periodo de 7 días de haber concluido el endurecimiento. El tamaño de muestra fue de 3 plantas por tratamiento por repetición, para un total de 12 plantas por tratamiento. Las plantas se trasplantaron a macetas de 10 L rellenas con un sustrato de corteza y perlita en una proporción de 70:30, y al momento del trasplante se contaron y eliminaron todas las raíces blancas. A esta variable se le llamó número total de raíces iniciales (NTRI).

Las plantas se mantuvieron durante 30 días en invernadero, con aplicación de riegos diarios. El arreglo de las macetas fue al azar. A los 30 días las plantas se sacaron de las macetas, para lavar con cuidado las raíces y realizar el conteo y la medición. Las variables obtenidas fueron: número total de raíces finales (NTRF) y peso seco de las raíces nuevas

(PSRN). Las raíces nuevas se identificaron por medio del color blanco y sólo se consideraron aquellas que presentaban una longitud mayor a 1 cm.

4.3.2.5. Evaluación de la tolerancia de la raíz a la deshidratación

Esta prueba se basó en medir la pérdida de electrolitos de la raíz (PER) porque estima los daños ocasionados por un ambiente deshidratante a las raíces en crecimiento. El procedimiento se realizó de acuerdo con la técnica descrita por McKay (1998), en una muestra de 12 plantas por tratamiento, es decir en 3 plantas por tratamiento por repetición.

Las plantas se sometieron a una temperatura de 35 °C y humedad relativa de 30% durante 3 h seguidas, en una estufa de secado marca Shel Lab® modelo 1675-S. Después, de cada planta se cortaron diez segmentos de 1 cm de los ápices de las raíces en crecimiento del cuarto inferior de la raíz. En tubos de ensaye con 25 mL de agua desionizada se agregaron las raíces extraídas, y luego de 3 horas se determinó la conductividad eléctrica de la solución (CEi), con el conductímetro marca Hanna Instruments® modelo HI 255. Posteriormente, los tubos con las raíces se ingresaron a una autoclave durante 20 min a 120 °C, para matar el tejido y destruir las membranas, y medir nuevamente la conductividad eléctrica (CEf).

La PER se calculó mediante la ecuación: $(CEi/CEf) \cdot 100$, donde CEi es la conductividad eléctrica de la solución a 3 horas de haber sumergido las raíces y CEf es la conductividad eléctrica de la solución después de destruir las membranas celulares para liberar a los electrolitos del citoplasma. La conductividad eléctrica de la solución estima la cantidad de electrolitos del citoplasma que fueron liberados a la solución y, por lo tanto, estima el daño ocasionado a las membranas celulares durante la deshidratación de la raíz.

4.3.2.6. Diseño experimental y análisis estadístico

El análisis de los datos morfológicos, pruebas de crecimiento potencial de raíz, tolerancia a la deshidratación y la tasa de crecimiento relativo de la fase de vivero se hizo mediante un análisis de varianza (ANDEVA) con un modelo estadístico completamente al azar. Se realizó comparación de medias con la prueba de Tukey con $\alpha = 0.05$.

4.3.3. Etapa de plantación

La plantación en el Parque Molino de la Flores Netzahualcóyolt se estableció en la primera quincena de agosto de 2013, con un total de 160 plántulas, 8 plantas por unidad experimental. Los árboles se plantaron con un espaciamiento de 1 x 1 m, y el tamaño de las cepas fue de 30 x 30 x 30 cm. El diseño experimental para la plantación fue de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones.

El sitio de plantación en Montecillo, Texcoco, México se estableció en la segunda quincena de agosto de 2013, en una cama de crecimiento de 0.90 m de alto x 10 m de largo x 1.5 m de ancho. El espaciamiento entre árboles y líneas fue de 12.5 x 12.5 cm. La unidad experimental se conformó de 12 árboles, para un total de 240 árboles. Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones.

4.3.3.1. Supervivencia, incremento en altura y diámetro, y tasa relativa de crecimiento

El porcentaje de supervivencia se estimó mediante la siguiente ecuación: $\text{Supervivencia} = (\text{AV}/\text{NTA}) \times 100$, donde AV son los árboles vivos por tratamiento por bloque y NTA es el número total de árboles por tratamiento por bloque. El incremento en altura de los árboles

se determinó mediante la diferencia entre la altura final y la inicial de las plantas; el mismo procedimiento se siguió para el incremento del diámetro al cuello de la raíz. La tasa relativa de crecimiento de los árboles se estimó por el método usado por Evans (1972) y Hunt (1982).

El análisis de los datos de supervivencia, incremento en talla y tasa relativa de crecimiento se hizo para comparar los dos sitios de plantación mediante un ANDEVA con el Programa SAS versión 9.0., con el modelo estadístico de bloques completos al azar. El modelo estadístico es el siguiente:

$$y_{ijk} = \mu + S_i + B_{j(i)} + T_k + ST_{ik} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde, y_{ijk} = variable respuesta (supervivencia, incremento en altura y diámetro y tasa de crecimiento relativo en altura y diámetro al cuello de la raíz); μ = media general; S_i = efecto del i -ésimo sitio; B_j = efecto del j -ésimo bloque en el i -ésimo sitio; T_k = efecto del k -ésimo tratamiento; ST_{ik} = Efecto de la interacción del i -ésimo sitio y el k -ésimo tratamiento; ε_{ijk} = error experimental.

En los casos en los que se encontró un efecto significativo ($P \leq 0.05$) de los tratamientos de endurecimiento, se utilizaron análisis de contrastes pre-establecidos para comparar el efecto de los factores duración (4 y 6 semanas) y uso de sombra (con y sin sombra). Los contrastes no son ortogonales, debido al interés de comparar la duración y fueron:

C1: Endurecimiento de 6 semanas con variación de luz contra el testigo

C2: Endurecimiento de 4 semanas con variación de luz contra el testigo.

C3: Endurecimiento de 6 semanas contra endurecimiento de 4 semanas.

C4: Combinación de malla contra luz directa.

4.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.4.1. Etapa de vivero

Los análisis de varianza indicaron que las variables morfológicas que presentan diferencias significativas entre tratamientos son diámetro al cuello de la raíz, peso seco de raíz y la relación parte aérea / raíz, mientras que en las variables peso seco aéreo y peso seco total no se observaron diferencias (Cuadro 4.1).

Durante la etapa de endurecimiento las plantas de *Pinus rudis* Endl. presentaron respuesta al tiempo y a la condición de luz, en el diámetro del cuello de la raíz, en la generación de biomasa de la parte radical, y en la relación parte aérea/ raíz antes de salir del vivero, pero en la parte aérea no hubo diferencias entre tratamientos ni en el peso seco aéreo y total (Cuadro 4.1).

Cuadro 4. 1 Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para las variables morfológicas en la etapa de vivero para *Pinus rudis* Endl.

Variables	Tratamientos
DCR	<.0001
PSA	0.5967
PSR	<.0001
PST	0.1316
RPA/R	<.0001

DCR= diámetro al cuello de la raíz. PSA=peso seco aéreo. PSR=peso seco raíz. PST= peso seco total. RPA/R= relación parte aérea /raíz.

En la prueba de crecimiento potencial de raíz el número de raíces blancas iniciales y el peso seco de raíces blancas generadas mostraron significancia estadística, mientras que en el número de raíces blancas finales no existió diferencia (Cuadro 4.2).

Cuadro 4. 2. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para las variables fisiológicas en la etapa de vivero para *Pinus rudis* Endl.

Variablen	Tratamientos
PCR	
NTRI	0.0102
NTRF	0.2170
PSRB	0.0393
Fuga de electrolitos	
DRS	0.1527
Tasa relativa de crecimiento	
Altura	0.0227
DCR	<.0001

PCR= potencial de crecimiento de raíz. NTRI= número total de raíces blancas iniciales. NTRF= número total de raíces blancas finales. PSRB= peso seco de raíces blancas. DRS= daño a la raíz por sequía. DRS= daño a la raíz por sequía. DCR= diámetro al cuello de la raíz.

Con respecto al daño por desecación a las raíces, no se detectó diferencia significativa entre los tratamientos y el testigo; es decir, las plántulas de *Pinus rudis* Endl. no exhibieron una respuesta a la desecación del acondicionamiento inducida mediante exposición a condiciones ambientales externas al vivero y el acondicionamiento convencional (Cuadro 4.2).

El crecimiento relativo en altura y el diámetro el endurecimiento mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Los periodos de tiempo y la luminosidad influyeron en el crecimiento relativo del diámetro al cuello de la raíz, mientras que en el crecimiento relativo en altura solo se encontró diferencia entre el testigo y el periodo de endurecimiento de cuatro semanas. En cuanto a la exposición a tres condiciones de luz no se encontró una respuesta del crecimiento en altura de las plantas (Cuadro 4.2).

4.4.1.1. Morfología y tasa de crecimiento relativo de plantas

Al final del proceso de producción las plantas de *Pinus rudis* Endl. los valores registrados para el diámetro al cuello de la raíz (DCR) variaron entre 4.54 y 6.03 mm. El peso seco de raíces (PSR) varió entre 1.35 y 0.96 g. En ambas variables el tratamiento de seis semanas a pleno sol (T₄) obtuvo los valores máximos y el testigo los mínimos. Los tratamientos restantes presentaron valores similares entre 1.19 a 1.09 g, como se observa en el Cuadro 4.3.

La relación parte aérea / raíz (RPA/R) que presentaron las plantas estuvo entre 2.67 y 3.78. Este indicador nos mide el equilibrio en las plantas, para pinos cespitosos como es el caso de *Pinus palustris* Mill. la RPA/R ideal varía entre valores de 2 a 3 (Villar, 2003; Jackson *et al.*, 2012). De acuerdo con lo anterior las plantas de *Pinus rudis* Endl. sometidas a endurecimiento durante 6 semanas a pleno sol presentan una mayor condición de equilibrio entre la parte aérea y la radical que en los otros tratamientos.

El endurecimiento por seis semanas a pleno sol aumentó el DCR en 1.5 mm con respecto al testigo; sin embargo, los DCR alcanzados en todos los tratamientos después del proceso de endurecimiento están dentro de los valores considerados como óptimos para especies de pinos cespitosos. Por ejemplo, para *Pinus palustris* Mill. el DCR óptimo se encuentra en el rango de 4 a 5 mm (South *et al.*, 2005; Jackson *et al.*, 2012), el DCR es un indicador fiable del desempeño en campo (Birchler *et al.* 1998; Villar, 2003; Pinto, 2011; Grossnickle, 2012).

Cuadro 4. 3. Variables morfológicas después del proceso de endurecimiento de *Pinus rudis* Endl.

Tratamiento	DCR (mm)	PSA (g)	PSR (g)	PST (g)	RPA/R
T ₁	5.15 ± 0.23 b	3.72 ± 0.23	1.19 ± 0.06 b	4.90 ± 0.25	3.19 ± 0.20 b
T ₂	6.03 ± 0.24 a	3.52 ± 0.17	1.35 ± 0.08 a	4.87 ± 0.21	2.67 ± 0.16 c
T ₃	5.06 ± 0.21 b	3.49 ± 0.22	1.09 ± 0.06 b	4.58 ± 0.26	3.26 ± 0.20 b
T ₄	5.31 ± 0.25 b	3.64 ± 0.28	1.11 ± 0.08 b	4.75 ± 0.33	3.35 ± 0.22 b
Testigo	4.54 ± 0.20 c	3.55 ± 0.22	0.96 ± 0.05 c	4.51 ± 0.23	3.78 ± 0.26 a

DCR= diámetro al cuello de la raíz. PSA= peso seco aéreo. PSR= peso seco de raíz. PST= peso seco total. RPA/R= relación parte aérea /raíz. T1= dos semanas en sombra y cuatro semanas en sol. T2= seis semanas en sol directo. T3= dos semanas en sombra y dos semanas en sol. T4= cuatro semanas en sol directo. Testigo= seis semanas en el invernadero. Valores promedios ± error estándar. Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los tratamientos expuestos directos a sol produjeron mayor cantidad de biomasa en raíces, en contraste con el testigo que no se sometió a pleno sol en el que se obtuvo la menor cantidad de peso seco en raíces, pero no se modificó la parte aérea de la planta por el efecto del endurecimiento. Esto puede indicar que el efecto de una condición con luz del sol y el incremento de temperatura tiene una respuesta en la producción de mayor número de raíces (Landis, 2013). En algunas especies de pinos como *Pinus radiata*, la exposición a temperaturas ambientales con variación de 20 °C genera un incremento en la biomasa radical (Greer *et al.*, 2000).

La tasa de crecimiento relativo en el diámetro al cuello de la raíz durante el periodo de endurecimiento mostró su máximo valor en el tratamiento de cuatro semanas expuesto a sol directo con 0.11 mm semana⁻¹, y el menor crecimiento en diámetro se presentó en el testigo con 0.04 mm semana⁻¹ (Figura 4.1). De igual manera, la tasa relativa de crecimiento en altura presentó valores entre 0.19 y 0.11 cm semana⁻¹, con los valores más altos en los tratamientos de cuatro semanas de endurecimiento para las dos condiciones y el menor

valor para el testigo que no se expuso a condiciones ambientales fuera del invernadero. Por lo tanto, el efecto de la exposición a sol directo fue el engrosamiento y alargamiento de la parte aérea.

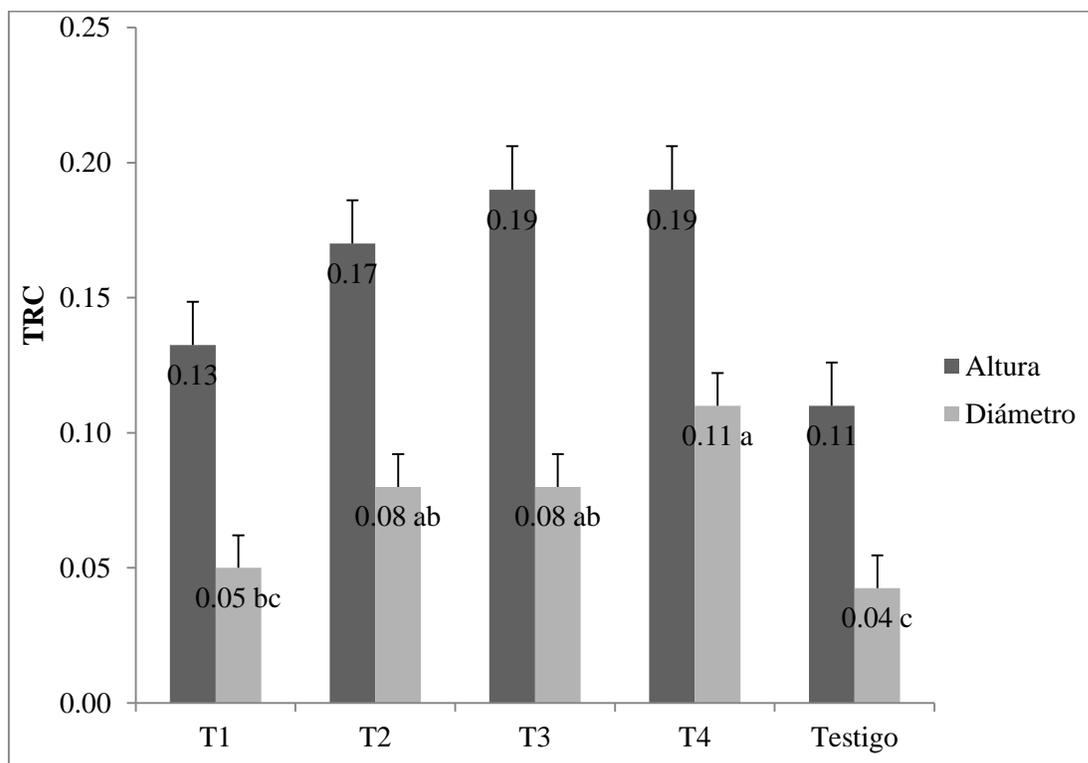


Figura 4. 1. Tasa relativa de crecimiento (TCR) en altura (cm semana^{-1}) y diámetro del tallo (mm semana^{-1}) para plantas de *Pinus rudis* Endl. durante la etapa de endurecimiento en vivero. T1= dos semanas en sombra y cuatro semanas en sol. T2= seis semanas en sol directo. T3= dos semanas en sombra y dos semanas en sol. T4= cuatro semanas en sol directo. Testigo= seis semanas en el invernadero. Valores promedios \pm error estándar. Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

La temperatura tiene influencia en el endurecimiento; al disminuir la temperatura a lo largo de un día aumenta la velocidad de endurecimiento. En el caso de *Pinus radiata* las tasas de crecimiento se relacionan con la temperatura, la resistencia a heladas se produce por la variación de temperatura en el día, las temperaturas varían entre -4 a 25 °C (Greer *et al.*, 2000). En el caso de algunas especies como *Pseudotsuga menziesii* la exposición a

temperaturas nocturnas han demostrado ser más importante que las temperaturas del día (van den Driessche, 1969). Cada especie responde de manera distinta a la variación de temperatura durante el día en el periodo de endurecimiento.

Las plántulas de *Pinus rudis* Endl se sometieron a una variación diaria de temperatura promedio de hasta 26 °C en el invernadero (testigo), en la intemperie la variación en temperatura fue de 21°C y en la malla sombra de 15°C como se puede observar en el Cuadro 4.4, lo cual influyo directamente en la TRC; el testigo presento la menor TRC lo que resulta inversamente proporcional a la variación en temperatura.

El periodo de endurecimiento de cuatro semanas presentó las mayores tasas de crecimiento, mientras que en los tratamientos de seis semanas la tasa es menor, lo cual coincide con la respuesta de *Pinus radiata* (Greer *et al.*, 2000).

Cuadro 4. 4. Temperaturas y humedad relativa promedio del periodo de endurecimiento en plántulas de *Pinus rudis* Endl.

Condición Ambiental	Temperatura (°C)			Humedad relativa (%)		
	Máx.	Mín.	Media	Máx.	Mín.	Media
Invernadero	37.5	11.5	21.2	90.3	26.6	63.6
Intemperie	31.2	10.6	19.0	88.1	30.9	63.2
Malla Sombra	27.5	11.6	17.9	67.1	35.9	53.6

4.4.1.2. Potencial de crecimiento de raíz (PCR)

Al final de la prueba de potencial de crecimiento de raíz, los tratamientos no presentaron diferencias estadísticas en el número de raíces generadas. Las plantas dentro del invernadero (testigo) con manejo del riego y reducción de la fertilización nitrogenada

presentaron 140 raíces nuevas en promedio, mientras que el tratamiento de exposición de las plantas durante cuatro semanas a pleno sol presentó un total de 89 raíces nuevas en promedio (Cuadro 4.5). El periodo de endurecimiento de cuatro semanas de exposición a sombra y sol presento 131 raíces en promedio, valor muy cercano al máximo.

Cuadro 4. 5. Número de raíces iniciales, finales y peso seco generado en la prueba de potencial de crecimiento de raíz.

Tratamiento	NTRI	NTRF	PSRB (g)
T ₁	42 ± 11 ab	131 ± 36	0.56 ± 0.12 ab
T ₂	37 ± 9 b	126 ± 38	0.43 ± 0.10 ab
T ₃	36 ± 11 b	108 ± 21	0.41 ± 0.08 b
T ₄	52 ± 10 ab	89 ± 14	0.48 ± 0.10 ab
Testigo	63 ± 17 a	140 ± 47	0.67 ± 0.21 a

NTRI= número total de raíces blancas iniciales. NTRF= número total de raíces blancas finales. PSRB= peso seco de raíces blancas. T₁= dos semanas en sombra y cuatro semanas en sol. T₂= seis semanas en sol directo. T₃= dos semanas en sombra y dos semanas en sol. T₄= cuatro semanas en sol directo. Testigo= seis semanas en el invernadero. Valores promedios ± error estándar. Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

El peso seco de raíces al final de la prueba de crecimiento potencial de raíz varió entre 0.41 y 0.67 g. El testigo presentó la mayor biomasa de raíces y el tratamiento de exposición durante dos semanas en sombra y dos semanas en sol directo (T₃) la menor. El tratamiento T₃ redujo de manera significativa la generación de raíces nuevas, mientras que en los otros tratamientos no se presentó un efecto en el PCR. El endurecimiento durante cuatro semanas directo a sol generó una biomasa de raíces nuevas similar con respecto al testigo en las plantas de *Pinus rudis* Endl.

La producción de elevada de raíces no necesariamente se refleja en mayor supervivencia; en este caso, las plantas de *Pinus rudis* produjeron más de 100 raíces nuevas, un número muy elevado con respecto a otras especies de coníferas por ejemplo en *Pinus palustris* el número de raíces oscilo entre 4 y 8 (South *et al.*, 2005), y para *Pinus halepensis* se registró entre 30 y 42 raíces nuevas por planta (Villar *et al.*, 2004); dichos datos nos indica que posiblemente la especie rebaso el valor crítico para alcanzar la máxima supervivencia, y aunque se produzcan más raíces no hay un efecto en la supervivencia.

4.4.1.3. Daño a la raíces por desecación

El daño a las membranas de las raíces en *Pinus rudis* Endl. fue mayor al 70% en todos los tratamientos pero menor al 90% (Figura 4.2). El endurecimiento por cuatro semanas expuesto directo a sol obtuvo el menor daño con 73% y el endurecimiento por seis semanas expuesto paulatinamente al sol el mayor daño con 83.5%.

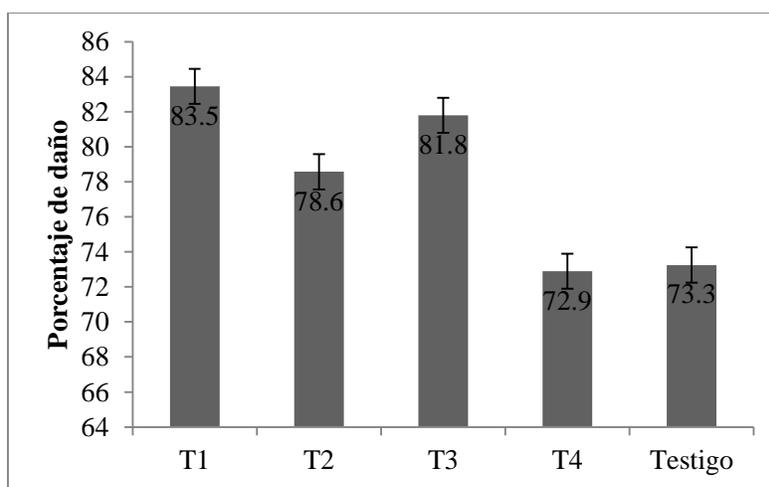


Figura 4. 2. Daño a la membrana en raíces de *Pinus rudis* Endl. inducido por desecación en plántulas sometidas a dos tipos de endurecimiento. T1= dos semanas en sombra y cuatro semanas en sol. T2= seis semanas en sol directo. T3= dos semanas en sombra y dos semanas en sol. T4= cuatro semanas en sol directo. Testigo= seis semanas en el invernadero. Valores promedios \pm error estándar. Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los tratamientos testigo y el endurecimiento durante cuatro semanas expuesto a sol directo desarrollaron una mayor estabilidad en las membranas celulares, debido a que registraron la menor pérdida de solutos del citoplasma (Baji *et al.*, 2002; Masoumi *et al.*, 2010; Villar *et al.*, 2004), y nos indica que existe una mayor resistencia de la planta a una condición con limitantes de humedad.

4.4.2. Etapa de plantación

4.4.2.1. Análisis de varianza

En la etapa plantación la respuesta de las plantas en supervivencia, incremento en altura y diámetro al cuello de la raíz, y tasa relativa de crecimiento en diámetro presentan diferencias significativas entre los sitios de plantación; los tratamientos afectaron el incremento en altura y diámetro, pero no la TRC ni la supervivencia de las plantas (Cuadro 4.6), es decir el incremento en altura cada mes no mostró respuesta al endurecimiento. Además, la interacción entre los tratamientos y el sitio de plantación solo fue significativa para el incremento en altura.

Cuadro 4. 6. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para los diferentes sitios, supervivencia y tasa de crecimiento relativo.

Factor	Supervivencia	IA	ID	TRCA	TRCD
Sitio	<.0001	0.050	<.0001	0.759	0.006
Bloque	0.703	0.042	0.794	0.156	0.524
Tratamiento	0.643	0.003	0.018	0.615	0.133
Tratamiento x	0.600	0.038	0.567	0.295	0.645
Contrastes					
T1+T2 vs Testigo	0.125	0.001	0.001	0.128	0.015
T3+T4 vs Testigo	0.287	0.001	0.006	0.252	0.025
T1+T2 vs T3+T4	0.485	0.337	0.266	0.571	0.707

IA= incremento en altura; ID=incremento en diámetro al cuello de la raíz; TRCA= tasa relativa de crecimiento en altura; TRCD = tasa relativa de crecimiento en diámetro.

De acuerdo a los contrastes existe significancia en TRCD entre el testigo y los tratamientos, pero no se observa diferencia entre los dos periodos de endurecimiento como se observa en el Cuadro 4.6.

4.4.2.2. Supervivencia, tasa de crecimiento relativo e incremento en altura y diámetro.

El endurecimiento por efecto de la temperatura durante cuatro semanas a pleno sol obtuvo la mayor supervivencia con 38% en el sitio con restricciones ambientales, y el testigo presentó las mayores tasas relativas de crecimiento en altura y diámetro. El testigo presentó 25% de supervivencia en dicha condición.

Los brinzales con un mayor periodo de endurecimiento tuvieron un 100% de supervivencia y los mayores incrementos en altura bajo condiciones hídricas favorables. El periodo de seis semanas de endurecimiento presentó una respuesta positiva en campo cuando las condiciones en suelo y humedad son favorables.

Las condiciones ambientales del sitio influyeron en la supervivencia, en el sitio de condiciones secas (sitio restrictivo) la supervivencia fue menor con respecto al sitio de condiciones favorables; esta misma respuesta se presentó en *Pseudotsuga menziessii*, *Pinus contorta* y *Picea glauca* (van den Driessche, 1991).

La supervivencia registrada en *Pinus rudis* Endl. fue menor a la esperada para la condición restrictiva, en estudios similares con especies cespitosas como *Pinus devoniana* el porcentaje de supervivencia fue entre 50 y 90% en sitios degradados (Gómez *et al.*; 2012).

La combinación de distintos factores como son condiciones ambientales, preparación del terreno, fecha de siembra y manejo de la plantación influyeron en el desempeño de los brinzales de *Pinus rudis* Endl. En el sitio de condiciones favorables el suelo se removió lo que modificó las propiedades del suelo, como la estructura, la densidad aparente, la aireación, la temperatura y, por lo tanto la disponibilidad de nutrimentos y agua (Prévost, 1992; Sutton, 1992; de Chantal *et al.*, 2003, Palacios *et al.*, 2009), mientras que en el sitio de condiciones restrictivas la preparación del terreno fue por medio de cepas.

La tasa relativa de crecimiento en altura no presentó diferencias entre sitios; los valores promedio variaron de 0.03 y 0.05 cm mes⁻¹ en los dos sitios de plantación (Cuadro 4.6). En cambio, la tasa relativa en diámetro fue distinta entre sitios; en condiciones restrictivas los valores fueron entre 0.02 a 0.03 mm mes⁻¹, mientras que en el sitio favorable la tasa fue más elevada, entre 0.03 a 0.07 mm mes⁻¹. En el sitio de condiciones favorables el testigo obtuvo la mayor tasa de crecimiento en diámetro.

El incremento en altura y diámetro presentó diferencias entre sitio; en el sitio de condiciones restrictivas el incremento en altura varió de 5.35 a 11.17 cm y el incremento en diámetro de 1.29 a 2.58 mm. El testigo presentó los valores máximos en crecimiento tanto en altura como en diámetro; en contraste, el endurecimiento a seis semanas con sombra y sol presentaron los mínimos incrementos.

En el caso del sitio favorable, el testigo obtuvo los mayores incrementos en altura y diámetro con 15.83 cm y 6.84 mm, respectivamente; en contraste, los menores incrementos se produjeron en el tratamiento de endurecimiento de seis semanas expuesto a sol directo con 11.1 cm en altura y 3.9 mm en diámetro.

Cuadro 4. 7. Porcentaje de supervivencia y tasa de crecimiento relativo de la plantación de *Pinus rudis* Endl. en dos sitios.

Tratamiento	SUPER %	TCRA (cm mes ⁻¹)	TCRD (mm mes ⁻¹)	IA (cm)	ID (mm)
T ₁ S ₁	22 ± 6	0.03 ± 0.02	0.03 ± 0.02	5.4 ± 3.6	1.8 ± 1.0
T ₁ S ₂	97 ± 5	0.06 ± 0.03	0.05 ± 0.01 b	13.3 ± 2.0 ab	3.9 ± 0.7 c
T ₂ S ₁	22 ± 16	0.05 ± 0.01	0.02 ± 0.02	10.9 ± 2.7	1.3 ± 1.3
T ₂ S ₂	100 ± 0	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.02 b	11.1 ± 1.2 b	3.9 ± 0.6 c
T ₃ S ₁	16 ± 16	0.04 ± 0.01	0.02 ± 0.01	8.9 ± 1.0	1.9 ± 0.9
T ₃ S ₂	97 ± 5	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.01 b	11.8 ± 1.7 b	4.8 ± 0.7 bc
T ₄ S ₁	38 ± 37	0.05 ± 0.02	0.03 ± 0.02	9.9 ± 2.8	2.1 ± 0.8
T ₄ S ₂	95 ± 5	0.05 ± 0.02	0.04 ± 0.02 b	11.3 ± 1.5 b	5.4 ± 0.6 b
Testigo S ₁	25 ± 42	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.01	11.2 ± 3.4	2.6 ± 1.1
Testigo S ₂	100 ± 0	0.05 ± 0.03	0.07 ± 0.02 a	15.8 ± 2.1 a	6.8 ± 0.8 a

S₁=sitio de condiciones restrictivas.S₂= sitio de condiciones favorables. SUPER= supervivencia. TCRA= tasa de crecimiento relativo en altura. TCRD=tasa de crecimiento relativo en diámetro al cuello de la raíz. IA= incremento en altura en cm. ID= incremento en diámetro al cuello de la raíz. T1= dos semanas en sombra y cuatro semanas en sol. T2= seis semanas en sol directo. T3= dos semanas en sombra y dos semanas en sol. T4= cuatro semanas en sol directo. Testigo= seis semanas en el invernadero. Valores promedios ± error estándar. Medias con distinta letra en una columna son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).

En el presente estudio, el efecto de los tratamientos de endurecimiento no influyo en el crecimiento en el sitio de condiciones restrictivas, pero en condiciones favorables si presento una respuesta en el crecimiento. El tratamiento de endurecimiento mediante manejo de riego y reducción de la fertilización nitrogenada (Testigo) presento la mejor respuesta en el crecimiento bajo condiciones favorables; esta misma respuesta se presentó en estudios similares pero con *Quercus ilex* los tratamientos de endurecimiento aumentaron el crecimiento en campo (Villar *et al.*, 2004).

4.5. CONCLUSIONES

La técnica de endurecimiento por exposición a condiciones ambientales naturales en *Pinus rudis* Endl. modificó la morfología y la fisiología de las plantas. Los atributos morfológicos como el diámetro al cuello de la raíz y la biomasa radical aumentaron cuando las plantas se expusieron directamente al sol, en comparación con el testigo que permaneció dentro del invernadero.

De acuerdo a los contrastes y con relación a los parámetros morfológicos, el periodo de endurecimiento de cuatro semanas es el que muestra mayores diferencias en vivero y campo. Este resultado es relevante porque nos dice que para la especie estudiada no se recomienda periodos de endurecimiento mayores a cuatro semanas y, por lo tanto, este dato se considera en la planeación de la producción de planta de calidad.

Las condiciones físico ambientales del sitio influyen en la supervivencia de reforestaciones de *Pinus rudis* Endl. En sitios de condiciones favorables la técnica de endurecimiento de las plantas no influyó en la supervivencia. Cuando existe una buena calidad del sitio de plantación puede enmascarar las ventajas del endurecimiento logradas durante la producción de planta de esta especie, el endurecimiento es recomendable sólo si las condiciones de plantación son adversas, de lo contrario, el proceso de producción de planta se simplifica y se ahorra tiempo e insumos de producción.

El periodo de endurecimiento por cuatro semanas propició el mayor porcentaje de supervivencia en condiciones restrictivas. Con cuatro semanas de endurecimiento con luz directa o en combinación gradual de 50% a 100% de luz directa es posible modificar parámetros fisiológicos de la especie.

CAPÍTULO V. EL ENDURECIMIENTO CON P Y K AUMENTA LA SUPERVIVENCIA DE PLÁNTULAS DE *Pinus rudis* Endl. EN CAMPO?

5.1. RESUMEN

Las reforestaciones en sitios degradados se complican por el deterioro físico, químico y biológico del suelo, por lo que se requieren estrategias específicas para el manejo de la planta, además de la preparación del terreno y manejo de las plantaciones de reforestación. Dentro de las estrategias para aumentar la supervivencia en campo, el manejo en la última etapa de la producción en vivero, denominada endurecimiento, es una práctica común. En esta etapa se induce la aclimatación de las plantas a condiciones ambientales. En coníferas de México no se ha estudiado el efecto del endurecimiento por medio de fertilización, por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de distintos niveles de fósforo, potasio y fertilizante soluble como estrategia de endurecimiento sobre la calidad morfológica y fisiológica de *Pinus rudis* Endl., y su desempeño en dos sitios de plantación. El endurecimiento incrementando las dosis de P, K y fertilizante soluble no mostraron modificaciones en la morfología de la planta con respecto al testigo. Las plántulas de *Pinus rudis* Endl. alcanzaron un diámetro al cuello de la raíz de 4.8 a 5.5 mm, peso seco aéreo de 4.2 a 4.4 g, peso seco de raíces de 1.1 a 1.2 g y relación parte aérea /raíz de 4 en todos los tratamientos. La concentración de N, P y K en follaje están dentro de los rangos manejados en coníferas. El efecto de las condiciones físico ambientales determinan la supervivencia y crecimiento en *Pinus rudis* Endl. durante la etapa de plantación. Las plantas tienden al consumo de lujo de nutrimentos, en especial de fósforo. El periodo de sequía resultó determinante en la supervivencia de la especie y el endurecimiento mediante fertilización no tuvo el efecto esperado.

5.2. INTRODUCCIÓN

Los factores de estrés ambiental como la sequía y temperaturas extremas influyen en la supervivencia de las plantas recientemente establecidas en campo (Beck *et al.*, 2007; McDowell *et al.*, 2008). En particular, en sitios degradados el establecimiento de una reforestación se complica por el deterioro físico, químico y biológico del suelo, y en tales condiciones además de la preparación del terreno, se requieren estrategias específicas de manejo de la planta para garantizar el éxito de una reforestación (Vilagrosa *et al.*, 2006).

La mortalidad en reforestaciones depende de la selección adecuada de la especie y de las características biofísicas del lugar (Vallejo y Alloza, 2004), además de los parámetros relacionados con la calidad de la planta (Navarro *et al.*, 2006; Palacios *et al.*, 2009; Villar, 2003). La calidad de planta se define por los atributos morfológicos y fisiológicos que le permiten establecerse exitosamente en campo (Dureya, 1985; Villar *et al.*, 2012).

El estado nutrimental de las plantas que se producen en vivero es importante porque influye en su tasa de crecimiento y en la resistencia a factores de estrés cuando se lleva a campo (Landis 1985; Cortina *et al.*, 2013; Oliet *et al.*, 2013). Así mismo, la disponibilidad de recursos en el sitio influye en la plasticidad fenotípica de la especie y por lo tanto en su desempeño en campo (Valladares y Gianoli, 2007).

Una fase importante de la producción de planta en vivero es el endurecimiento, la cual se logra con variaciones en la radiación solar, temperatura, nivel de humedad o concentración de nutrimentos; y tiene por objeto modificar la morfología y/o fisiología de la planta para inducir una aclimatación estimulando sus respuestas a condiciones de estrés y aumentar la supervivencia en campo (Landis, 1985; Landis, 2013).

La interrelación entre nutrición y endurecimiento en coníferas aún requiere más investigación ya que existen resultados contradictorios en las investigaciones (Vilagrosa *et al.*, 2003). La respuesta de las plántulas al endurecimiento depende de la duración e intensidad de la reducción del suministro de recursos, la etapa de desarrollo y la época del año del endurecimiento (Trubat *et al.*, 2008).

El endurecimiento por reducción del nitrógeno en algunas coníferas se manifiesta con menor crecimiento aéreo y transpiración (Vilagrosa *et al.*, 2003) lo que resulta en menor consumo de agua (Trubat *et al.*, 2004). También puede ocurrir una redistribución de fotosintatos y aumentar la expansión de raíces laterales y la capacidad de mantener la turgencia celular en condiciones de sequía (Tan y Hogan, 1997).

La adición de fósforo en la producción de vivero se asocia con crecimiento y morfología de las raíces, el transporte del agua y la supervivencia en campo (Bucio *et al.*, 2002; Oliet *et al.*, 2013). El fósforo es indispensable para la transferencia de energía, fotosíntesis, transformación de azúcares y almidones, movimiento de nutrimentos y la transferencia genética (Warren *et al.*, 2005).

El potasio es un nutrimento no estructural de la planta cuyas funciones fisiológicas son la regulación estomática, el crecimiento meristemático, la regulación del agua, fotosíntesis y transporte de ATP (Zhang *et al.*, 2009; Fernández *et al.*, 2007). Se ha reportado que la concentración en potasio durante el endurecimiento aumenta la resistencia a bajas temperaturas (Jokela *et al.*, 1998; Ramírez y Rodríguez, 2010), pero las evidencias de su efecto en campo no son claras (Fernández *et al.*, 2007).

El endurecimiento en vivero mediante fertilización busca promover el consumo de lujo de algunos nutrientes, para permitir almacenar reservas que son utilizadas después del trasplante para resistir el estrés ambiental y aumentar la supervivencia (Timmer, 1997; Salifu y Jacobs, 2005; Salifu *et al.*, 2008, Basave, 2014).

La respuesta a la disminución o aumento de nitrógeno, fósforo o potasio depende de la especie; por ejemplo, en *Pinus halepensis* (Cuesta *et al.*, 2010), *Pinus canariensis* C. Smith. (Luis *et al.*, 2010), *Quercus suber* L. (Hernández *et al.*, 2009), *Juniperus thurifera* L. (Villar *et al.*, 2012) el aumento de nitrógeno estimula el crecimiento después del trasplante. Para el caso de *Quercus ilex* (Andivia *et al.*, 2012) y en el género *Eucalyptus* (Close, 2012) la disminución del nitrógeno confirió a la planta resistencia a temperaturas bajas y sequía.

La adición de fósforo en *Quercus ilex* (Sardans *et al.*, 2006; Villar *et al.*, 2004), *Acacia salicina* Lindl (Oliet *et al.*, 2005.); *Pinus halepensis* (Oliet *et al.*, 2009) y *Eucalyptus globulus* Labill. (Fernández *et al.*, 2007) aumenta el crecimiento de la raíz y la supervivencia en campo. En *Pinus silvestris* el aumento de fósforo no tuvo respuesta en la generación de raíces y tampoco en la supervivencia de los árboles (Troeng y Ackzell, 1988).

Las dosis altas de potasio han mostrado resultados diferentes con la especie, en *Pinus hartwegii*, por ejemplo, aumentó la resistencia a frío (Ramírez y Rodríguez, 2010), en *Quercus ilex* el efecto sobre la supervivencia fue ligero (Del Campo *et al.*, 2010) y nulo en la respuesta de *Pinus silvestris* (Christersson 1976; Sarjala, 1996).

La época de aplicación del endurecimiento mediante la fertilización varía con la estación del año ya que la demanda de nutrientes está en función del ritmo de crecimiento de las

plántulas (Colombo *et al.*, 2001; Villar *et al.*, 2005, Oliet *et al.*, 2013). En verano, crecimiento es activo y aunque la planta no entra en dormancia la disminución de los niveles de nitrógeno aumenta la calidad fisiológica y morfológica en plántulas de *Picea mariana* (Boivin *et al.*, 2004); *Pseudotsuga menziesii* (Margolis y Waring, 1986; van den Driessche, 1985, 1988). Comparado con la fertilización convencional las plántulas endurecidas en otoño acumulan más reservas de nitrógeno foliar (Boivin *et al.*, 2004; van den Driessche, 1988, Islam *et al.*, 2009), el crecimiento de raíces aumenta (van den Driessche, 1988), se promueve la brotación temprana (Margolis y Waring, 1986; Thompson, 1985; van den Driessche, 1985) y mejora la supervivencia.

Para explicar el comportamiento en campo de las especies es necesario desarrollar algunos modelos eco fisiológicos que expliquen las relaciones entre los atributos de las plantas y la respuesta a las condiciones ambientales. Dichos modelos relacionan las concentraciones y contenidos de los nutrimentos como el nitrógeno con la respuesta morfológica y fisiológica de los brinzales al estrés hídrico en plantaciones de sitios para restauración (Oliet *et al.*, 2013; Villar *et al.*, 2012).

Es importante la relación que existe entre la plasticidad fenotípica, el desempeño en campo y el almacenamiento de los nutrimentos (Cuesta *et al.*, 2010), ya que de esto depende la supervivencia y el crecimiento de las especies. Los pinos tienen como característica el rápido crecimiento de raíces y por su respuesta a los cambios en biomasa se consideran especies con plasticidad fenotípica, mientras que especies del género *Quercus* se consideran especies con poca plasticidad fenotípica (Villar *et al.*, 2012)

En México la investigación sobre la producción de planta y endurecimiento de *Pinus rudis* Endl. es limitada. Esta especie por considerarse rústica se destina a reforestaciones en sitios degradados y condiciones de clima adversos. Por lo anterior, la presente investigación tiene por objeto evaluar el efecto de distintos niveles de fósforo, potasio y fertilizante soluble como estrategia de endurecimiento sobre la calidad morfológica y fisiológica de *Pinus rudis* Endl. producido en vivero, además de evaluar su comportamiento en plantaciones de sitios con limitaciones ambientales en disponibilidad de agua y fertilidad del suelo. La hipótesis general es que el endurecimiento con fertilización modifica las concentraciones nutrimentales y mejora significativamente el establecimiento en campo.

5.3. MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1. Ubicación del experimento

La etapa de vivero se realizó en los invernaderos del Postgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Estado de México (9° 29' N, 98° 54' O y altitud de 2240 m).

5.3.2. Etapa de vivero

La siembra de *Pinus rudis* Endl se hizo durante la primera quincena del mes de octubre de 2012. La semilla se provino del banco de germoplasma “El Vergel” ubicado en la ciudad de Puebla, estado de Puebla. El sustrato utilizado fue una mezcla de corteza de pino, turba de musgo, perlita y vermiculita en una proporción de 70:10:10:10 en volumen, adicionando fertilizante de liberación controlada Osmocote Plus® (15-9-12) con tiempo de liberación de nueve meses, en dosis de 7 kg/m³ de sustrato. La densidad aparente del sustrato fue 0.28 g cm⁻³ (1050 ppm de nitrógeno, 270.9 ppm de fósforo y 697.2 ppm de potasio). Se utilizaron

envases individuales (tubetes) de color negro con aberturas laterales, cuyas medidas son 11.9 cm de largo, 6 cm de diámetro superior, 4.9 cm de diámetro inferior y volumen de 220 mL.

Las plantas crecieron dentro de un invernadero con cubierta de plástico durante ocho meses, posteriormente se inició el endurecimiento por un período de dos meses. El manejo de planta en vivero incluyó riegos ligeros y diarios durante la primera etapa de establecimiento (seis semanas), y riegos pesados cada dos días durante la etapa de crecimiento rápido. Durante el último mes se hicieron aplicaciones complementarias al fertilizante de liberación controlada de fertilizante soluble (Peters®) en el agua de riego una vez por semana. Se utilizó la formulación 20-20-20, en dosis de 0.5g por litro (100 ppm de nitrógeno, 43 ppm de fósforo y 83 ppm de potasio).

5.3.2.1. Tratamientos de fertilización en la etapa de endurecimiento

La etapa de endurecimiento se inició el 31 de mayo de 2013. El endurecimiento consistió en la reducción de la fertilización nitrogenada y el cambio de equilibrio entre nutrimentos. Todos los tratamientos tenían una dosis base similar a la del testigo 4N-25P-35K, la cual se aplica a coníferas en la etapa de endurecimiento (Landis, 1989). Los tratamientos 2 y 3 consistieron en adicionar P en dos niveles, aumento de 50% (P+) y aumento de 100% (P++) con respecto al testigo. Para los tratamientos 4 y 5 (adicionados con K) también se manejó dos niveles de forma similar al P:K+ (50%)y K++ (100% de aumento de K con respecto al testigo) Finalmente, en los tratamientos 6 y 7 ambos nutrimentos se aumentaron en 50% (PT+) y en 100% (PT++) en comparación con la dosis base (Cuadro 5.1).

Cuadro 5. 1. Dosis de fertilización para los tratamientos de endurecimiento en *Pinus rudis* Endl.

	Tratamiento			Cantidad total de elemento/planta			Cantidad en ppm		
				N (mg)	P (mg)	K (mg)	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)
P+	N_T	$1.5P_T$	K_T	64	259.2	464.8	40	162	290.5
P++	N_T	$2P_T$	K_T	64	346.4	464.8	40	216.5	290.5
K+	N_T	P_T	$1.5K_T$	64	172	696.8	40	107.5	435.5
K++	N_T	P_T	$2K_T$	64	172	928.8	40	107.5	581
PT+	$1.5N_T$	$1.5P_T$	$1.5K_T$	96	258	697.2	60	161.25	435.75
PT++	$2N_T$	$2P_T$	$2K_T$	128	344	929.6	80	215	581
Testigo	N_T	P_T	K_T	64	172	464.8	40	107.5	290.5

T =Dosis similar al testigo.

El fertilizante soluble base denominado Peters Professional ® 4-25-35 se utilizó en todos los tratamientos como la fuente principal de N-P-K en la etapa de endurecimiento. Los tratamientos de P se adicionaron con ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85%, y para los tratamientos con K se usó sulfato de potasio (K_2SO_4) 0-0-50-17. Los tratamientos PT+ y PT++ se prepararon directamente con Peters Professional® 4-25-35. La fertilización se aplicó en el riego, cada 72 horas por un periodo de ocho semanas; por consiguiente se fertilizó en 16 ocasiones.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar, en dos camas de crecimiento con cuatro repeticiones y un total de 1,400 plantas. Cada tratamiento constó de 50 plantas por repetición, las cuales se colocaron en dos mesas porta-tubetes contiguas una de la otra, y cada mesa porta-tubetes tenía una capacidad de 25 cavidades.

5.3.2.2. Evaluación de las características morfológicas

Al final de la etapa de endurecimiento se evaluó una muestra de 48 plantas por tratamiento seleccionadas al azar. De cada repetición se extrajeron 12 plantas de la parte central de las parcelas. A cada planta se le midió el diámetro del cuello de la raíz. Después a cada planta se le removió el sustrato de la raíz con agua corriente en abundancia y cuidando de no perder material vegetal en el proceso. Luego se separó la parte aérea y radical con un corte a la altura del cuello de la raíz; el exceso de humedad se retiró con papel absorbente y se empaquetaron ambas partes por separado en bolsas de papel, debidamente identificadas. Las muestras se colocaron en una estufa de secado con circulación de aire, a una temperatura de 70 °C durante 72 h, y después se obtuvo el peso seco de cada componente. Con los datos se calculó la relación parte aérea /raíz (RPAR).

5.3.2.3. Evaluación del potencial de crecimiento de raíz

La prueba de crecimiento potencial de raíz (PCR) consistió en colocar una muestra aleatoria de plantas en un ambiente controlado favorable para promover el rápido crecimiento de las raíces. El tamaño de muestra fue de 3 plantas por tratamiento por repetición dando un total de 12 plantas por tratamiento. Las plantas se trasplantaron en macetas con una capacidad de 10 L, en un sustrato de corteza y perlita en una proporción de 70:30. Al momento del trasplante se contaron y eliminaron todas las raíces blancas, las plantas se mantuvieron durante 30 días en el invernadero, con la aplicación de riegos diarios. El arreglo de las macetas fue al azar. A los 30 días las plantas se sacaron de las macetas, para lavar con cuidado las raíces y realizar la medición. Las variables obtenidas fueron el número total de raíces iniciales (NRI) y número de raíces formadas (NRF), y el peso seco de las raíces nuevas (PSRN). Las raíces nuevas se identificaron por medio del

color blanco y sólo se consideraron aquellas que presentaron una longitud mayor a un centímetro.

5.3.2.4. Evaluación de la tolerancia de la raíz a la deshidratación

La prueba de tolerancia de la raíz a la deshidratación mediante la pérdida de electrolitos de la raíz (PER) mide los daños ocasionados a las raíces en crecimiento después de someter el sistema radical a un ambiente deshidratante. El procedimiento se realizó de acuerdo con la técnica descrita por McKay (1998). De una muestra de 12 plantas por tratamiento, se seleccionaron aleatoriamente 3 plantas por tratamiento por repetición. Las plantas se sometieron a una temperatura de 35°C, humedad relativa de 30% y déficit de presión de vapor de 1.5 KPa durante 3 h seguidas, en una estufa de secado marca Shel Lab® modelo 1675-S. Después, de cada planta se cortaron diez segmentos de 1 cm de los ápices de las raíces en crecimiento del cuarto inferior de la raíz. En tubos de ensaye con 25 mL de agua desionizada se agregaron las raíces extraídas y se determinó la conductividad eléctrica de la solución (CEi). Posteriormente, los tubos con las raíces se ingresaron a la autoclave durante 20 min a 120°C, para matar el tejido y destruir las membranas, y medir nuevamente la conductividad eléctrica (CEf).

La PER se calculó mediante la siguiente ecuación: $(CEi/CEf) \times 100$, donde CEi es la conductividad eléctrica de la solución con las raíces después del periodo de deshidratación y CEf es la conductividad eléctrica de la solución después de destruir las membranas celulares para liberar a los solutos del citoplasma. La conductividad eléctrica de la solución estima la cantidad de solutos del citoplasma que fueron liberados a la solución y, por lo tanto, estima el daño ocasionado a las membranas celulares durante la deshidratación de la raíz.

5.3.2.5. Análisis nutrimental

La determinación del contenido de nitrógeno foliar se realizó por el método Kjeldahly para fósforo y potasio la muestra se sometió a digestión húmeda para después realizar las determinaciones con ICP-AES (Alcántar y Sandoval, 1999).

Para interpretar los análisis foliares se utilizó la técnica de análisis de vectores propuesta por Timmer y Amstrong (1987). Este procedimiento gráfico fue diseñado para coníferas ya que en este grupo de plantas el número de acículas a desarrollar queda definido desde la formación del brote, y los nutrientes se distribuyen en las acículas preformadas, durante el proceso de maduración (Timmer y Stone 1978).

El análisis de vectores es un procedimiento gráfico que permite analizar en conjunto los cambios relativos de masa neta de un número definido de acículas y la concentración y contenido de nutrientes (Figura 5. 1). La grafica que se construye representa el contenido relativo del nutriente en el eje “x”, la concentración en el eje “y” y con líneas diagonales se representan los cambios relativos en masa foliar (Timmer y Amstrong, 1987; Imo y Timmer, 1997; Timmer y Teng, 1999; Salifu y Timmer, 2003). Estas líneas diagonales representan aproximaciones geométricas del cambio en masa foliar de acuerdo a los cambios en concentración y contenido (Timmer y Stone, 1978) (Figura 5.1). Graficando los cambios de cada tratamiento con respecto al testigo se produce un vector cuya interpretación se realiza con base en el Cuadro 5.2 (Imo y Timmer, 1992, Mead *et al.*, 2010).

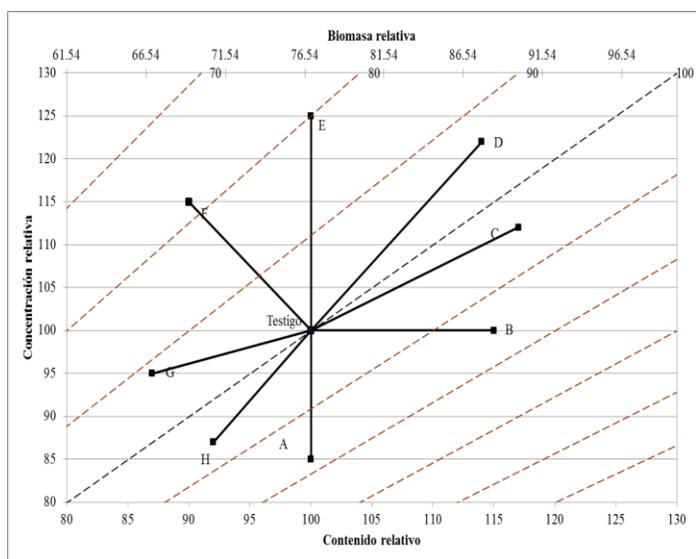


Figura 5. 1. Nomograma de la respuesta relativa en biomasa, contenido de nutriente y concentración de nutriente. Modificada de Mead *et al.*, 2010.

Cuadro 5. 2. Interpretación de vectores y posible diagnostico nutrimental para plantas.

Vectores	Cambio relativo			Efecto nutricional	Estado del nutriente	Diagnóstico
	Biomasa	Conc.	Cont.			
A	+	-	0/+	Dilución	No limitante	Dilución
B	+	-/0	+	Acumulación	No limitante	Estado estable
C	+	+	+	Acumulación	Limitante	Limitante
D	0	+	+	Acumulación	No limitante	Acumulación
E	-	+	0/+	Concentración	Exceso	Antagonismo
F	-	+/0	-	Antagonismo	Limitante	Antagonismo
G	-	-	-	Antagonismo	Limitante	Antagonismo
H	0	-	-	Consumo de lujo	Limitante	Limitante

Adaptado de: Imo y Timmer, 1992.

5.3.3. Etapa de plantación

La etapa de plantación se realizó en dos sitios: Parque Molino de la Flores Netzahualcoyolt, Texcoco, México (S₁) y vivero de producción forestal ubicado en Montecillo, México (S₂). La plantación en el Parque Molino de las Flores Netzahualcoyolt se estableció en la primera quincena de agosto de 2013 con 224 plántulas en total, cada unidad experimental constó de ocho árboles. Los arboles tenían un espaciamiento de 1 x 1 m, y el tamaño de las cepas de 30 x 30 x 30 cm. El arreglo experimental para la plantación fue de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. Para el S₂ se estableció en la segunda quincena de agosto de 2013, en una cama de crecimiento de 0.90 m de alto x 10 m de largo x 1.5 m de ancho, el espaciamiento entre árboles y líneas fue de 12.5 x 12.5 cm. En total se establecieron 252 árboles y las unidades experimentales fueron de 12 árboles. El diseño de la plantación fue de bloques completamente al azar con tres repeticiones.

El primer sitio (Parque Nacional Molino de las Flores Nezahualcóyotl) se ubica en Texcoco, Estado de México (19° 30' 30" N, 98° 50' 4 O y altitud de 2230 m), el suelo se define como un Feozem háplico cuya morfología básica es un horizonte A sobre un horizonte C o CR representado a veces por una capa endurecida (Tepetate). La textura del suelo superficial es arenoso migajosa (Ortíz y Gutiérrez, 1999). Por sus condiciones de suelos el sitio presenta condiciones restrictivas para reforestaciones por profundidad y resistencia mecánica del suelo. Sin embargo se optó por este sitio dado que la hipótesis central del trabajo es saber si la planta producida se sobrepone a condiciones adversas de reforestación.

Para el segundo sitio (vivero de producción forestal, Montecillo, México) se utilizó una cama de crecimiento de 0.90 m de ancho x 10 m de largo x 1.5 m de altura. La cama se rellenó con suelo agrícola, y de textura franco-arenosa. A este lugar lo clasificamos como sitio de condiciones favorables.

Probar la respuesta de las plantas bajo condiciones más favorables permitió evaluar objetivamente que la planta producida en vivero desde el punto de vista fisiológico y nutrimental es apta para su establecimiento en campo, y que las variaciones bajo condiciones adversas son el reflejo neto de su potencial para el establecimiento.

5.3.3.1 Supervivencia y tasa de crecimiento relativo en dos sitios de plantación

La supervivencia de ambos sitios se evaluó a 1 y 12 meses después de la plantación, pero en el sitio bajo condiciones adversas, es decir, en la plantación del Molino de las Flores, se evaluó también a los 5, 7, y 10 meses de plantado. Bajo condiciones adversas la varianza es mayor y requiere mediciones más intensivas. La diferencia entre mediciones permitió la estimación de incrementos en diámetro y altura. La tasa relativa de crecimiento (TRC) de los árboles se estimó por el método propuesto por (Evans, 1972; Hunt, 1982).

5.3.4. Análisis estadísticos

Los datos correspondientes a la morfología de planta, crecimiento potencial de raíces, daño a las raíces por desecación, y contenido de nutrimentos (N, P y K) se evaluaron mediante un análisis de varianza (ANDEVA) con el Programa SAS versión 9.0. El modelo estadístico completamente al azar se utilizó para las variables morfológicas y contenido de nutrimentos, para las variables de crecimiento potencial de raíz y daño a las raíces por

deseccación se aplicó un modelo de bloques completamente al azar. Además, se aplicó una prueba de medias de Tukey.

El análisis de los datos de supervivencia y tasa relativa de crecimiento comparando los dos sitios de plantación se realizó mediante un ANDEVA con el Programa SAS versión 9.0. con un modelo estadístico de bloques completamente al azar. Se realizó la comparación de medias mediante la prueba de Tukey y considerando una significancia del 0.05.

Además se analizó por separado cada sitio mediante un análisis estadístico de los datos de supervivencia, y crecimiento para la plantación del sitio de condiciones favorables y de condiciones restrictivas mediante un modelo de bloques completamente al azar. La diferencia mínima significativa en la supervivencia y crecimiento entre tratamientos se determinó por contrastes los cuales no son ortogonales. Los contrastes son los siguientes:

C1: Tratamientos con adición de fosforo contra el testigo

C2: Tratamientos con adición de potasio contra el testigo

C3: Tratamientos con adición de fertilizante foliar contra el testigo

C4: Tratamiento de fosforo adicionado al 50% contra fosforo adicionado al 100%

C5: Tratamiento de potasio adicionado al 50% contra potasio adicionado al 100%

C6: Tratamiento de fertilizante foliar adicionado al 50% contra fertilizante foliar adicionado al 100%

5.4. RESULTADOS

5.4.1. Etapa de vivero

El análisis de varianza indicó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos (Cuadro 5.3) para número de raíces iniciales, peso seco, concentración de nitrógeno y fósforo. Las variables daño a la raíz por desecación y concentración de potasio no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 5. 3. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para los distintos tratamientos de fertilización para las variables medidas al final de la etapa de vivero para *Pinus rudis* Endl.

Variable	Tratamiento	Bloque
DCR	0.1579	
PSA	0.9531	
PSR	0.7650	
PST	0.8449	
RPAR	0.8757	
PCR		
Raíces iniciales	0.0462	0.0130
Raíces producidas	0.0964	0.5477
Longitud	0.5713	0.0016
PSR2	0.0186	0.3790
DRD	0.3000	0.0001
Concentración de Nitrógeno	0.0025	
Concentración de Fósforo	<.0001	
Concentración de Potasio	0.8217	

DCR= diámetro al cuello de la raíz. PSA= peso seco aéreo. PSR=peso seco de raíces. PST= peso seco total. RPAR=relación parte aérea/raíz. PCR= potencial de crecimiento de raíz. PSR2=peso seco raíz para PCR. DRD=daño a la raíz por desecación.

5.4.1.1. Morfología

Después del proceso de endurecimiento las plántulas de *Pinus rudis* Endl. alcanzaron un diámetro al cuello de la raíz (DCR) de 4.8 a 5.5 mm, peso seco aéreo (PSA) de 4.2 a 4.4 g, peso seco de raíces (PSR) de 1.1 a 1.2 g y la relación parte aérea /raíz (RPA/R) en todos los tratamientos resultó de 4 (Cuadro 5.4).

Cuadro 5. 4. Valores medios de las variables morfológicas después del proceso de producción en plántulas de *Pinus rudis* Endl.

Tratamiento	DCR (mm)	PSA (g)	PSR (g)	PST (g)	RPAR
P+	5.4 ± 0.3	4.3 ± 0.3	1.1 ± 0.1	5.4 ± 0.3	4 ± 0.3
P++	5.4 ± 0.3	4.2 ± 0.3	1.1 ± 0.1	5.3 ± 0.3	4 ± 0.3
K+	4.8 ± 0.4	4.3 ± 0.3	1.2 ± 0.3	5.5 ± 0.5	4 ± 0.3
K++	5.9 ± 1.1	4.3 ± 0.3	1.1 ± 0.1	5.4 ± 0.4	4 ± 0.3
PT+	5.5 ± 0.3	4.3 ± 0.3	1.1 ± 0.1	5.4 ± 0.4	4 ± 0.2
PT++	5.4 ± 0.3	4.4 ± 0.3	1.2 ± 0.3	5.6 ± 0.4	4 ± 0.3
Testigo	5.3 ± 0.3	4.2 ± 0.2	1.1 ± 0.1	5.3 ± 0.3	4 ± 0.3

DCR= diámetro al cuello de la raíz. PSA= peso seco aéreo. PSR= peso seco de raíces. PST= peso seco total. RPAR= relación parte aérea/raíz. Valores promedios ± error estándar.

El tratamiento con los mayores valores para DCR, PSA, PSR y PST fue el de Peters Profesional® aumentado al 100% (PT++), en contraste con el tratamiento de potasio con aumento al 50% (K+) que presentó el menor valor de DCR. El testigo y el tratamiento de fósforo aumentado al 100% (P++) registraron la menor producción de biomasa.

El aumento de fósforo, potasio y de fertilizante foliar (Peters ®) durante las seis semanas de endurecimiento no tuvo efecto significativo en la morfología de *Pinus rudis* Endl. Los valores de DCR son ≥ 4 mm estos valores son similares a los reportados para *Pinus palustris* (Rodríguez y Dureya, 2003), para el caso de *Pinus halepensis* Mill. los DCR fueron menores a 3 mm (Cuesta *et al.*, 2010).

5.4.1.2. Potencial de crecimiento de raíz (PCR)

En el potencial de crecimiento de raíz (PCR) mostró diferencias en las variables: número de raíces iniciales (NRI) y las finales (NRF), pero no así en el peso seco de raíces producidas (PSRN). El tratamiento adicionado con fósforo al 50% generó mayor número de raíces blancas con 201, el testigo se comportó de forma similar a los tratamientos de K+, PT+, P++ y K++. El tratamiento de PT++ generó menor número de raíces (140) y su peso fue menor que el del testigo (Cuadro 5.5).

Cuadro 5. 5. Raíces iniciales, finales y peso seco de raíces generadas en la prueba potencial de crecimiento de raíz.

Tratamiento	NRI	NRF	PSRN (g)
P+	42.7 ± 9.8 ab	201.0 ± 33.2 a	1.1 ± 0.2
P++	35.8 ± 13.1 ab	163.4 ± 26.9 ab	0.9 ± 0.1
K+	54.7 ± 11.5 a	177.3 ± 30.1 ab	0.9 ± 0.1
K++	40.7 ± 9.9 ab	154.4 ± 22.3 ab	0.8 ± 0.1
PT+	38.5 ± 13.7 ab	172.5 ± 39.6 ab	1.0 ± 0.1
PT++	31.0 ± 8.4 b	140.8 ± 30.8 b	0.8 ± 0.2
Testigo	46.8 ± 10.9 ab	160.5 ± 17.9 ab	0.8 ± 0.1

NRI=número de raíces iniciales. NRF= número de raíces blancas finales. PSRN= peso seco de raíces blancas finales. Valores promedios ± error estándar. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

El tratamiento P+ generó una respuesta en las plántulas aumentando la NRF, sin embargo, se observa el efecto contrario cuando se aumenta la dosis al doble del fertilizante soluble (PT++).

5.4.1.3. Tolerancia de la raíz a la deshidratación

El porcentaje de daño a la raíz en plántulas de *Pinus rudis* a sequía fue mayor de 75%, y no se encontraron diferencia significativa entre los tratamientos y el testigo (Figura 5.2).

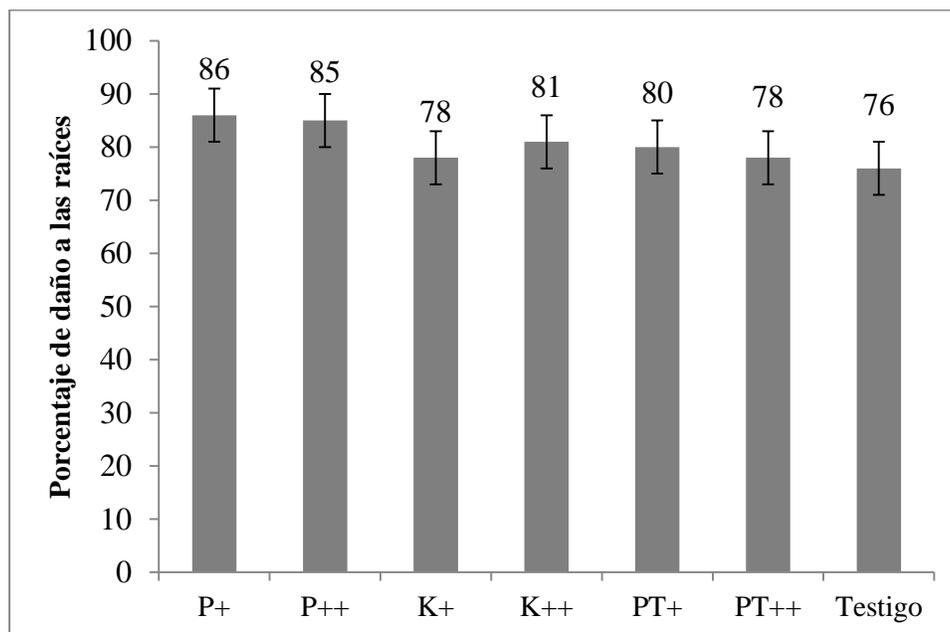


Figura 5. 2. Daño a la membrana de las raíces por desecación de *Pinus rudis* Endl. endurecido con distintas dosis de fósforo, potasio y Peters Professional®. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

El daño por desecación muestra que las plantas presentan poca tolerancia hacia la baja disponibilidad de humedad. El daño a las raíces es alto e indica daños severos a nivel celular a la planta ocasionando su muerte.

5.4.1.4. Análisis nutrimental

Las concentraciones de N, P y K en follaje después del proceso de endurecimiento nos muestran que están dentro de los rangos manejados en coníferas (Landis, 1989) tratamiento de P++ obtuvo la mayor concentración de N con 1778 mg/100g y P con 557 mg /100 g.

La mayor concentración de P se presentó en el tratamiento P ++ con 296 mg / 100 g (Cuadro 5.6) y a su vez la menor concentración de N con 1368 mg/100 g.

Cuadro 5. 6. Concentración de N, P y K en follaje al final de los tratamientos de endurecimiento mediante fertilización en *Pinus rudis* Endl.

Tratamiento	Nitrógeno (mg/100g)	Fósforo (mg/100g)	Potasio (mg/100g)
P+	1459.45 ± 152.7 bc	241.68 ± 7.2 b	471.18 ± 43.6
P++	1368.61 ± 84.0 c	296.11 ± 16.6 a	543.06 ± 134.0
K+	1470.02 ± 60.1 bc	223.84 ± 7.5 b	530.33 ± 59.8
K++	1681.28 ± 195.7 ab	219.04 ± 8.8 b	531.61 ± 24.4
PT+	1690.08 ± 137.8 ab	239.10 ± 13.7 b	485.06 ± 51.8
PT++	1778.11 ± 109.5 a	275.55 ± 25.4 a	557.10 ± 102.3
Testigo	1594.56 ± 142.7 abc	233.92 ± 14.3 b	519.53 ± 140.4

Valores promedios ± error estándar. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

El potasio no presentó diferencia estadística entre los tratamientos y el testigo, las concentraciones varían entre 471 a 557 mg/100g, este rango se encuentra dentro de los valores registrados en *Quercus coccifera* (Trubat *et al.*, 2004). Tanto las concentraciones de N como las de P y K resultaron superiores a las concentraciones críticas reportadas por Hernández y Torres (2009) para *Pinus montezumae* Lamb. (1250, 150 y 520 mg 100 g⁻¹, respectivamente) ; una especie taxonómicamente parecida a *P. rudis*.

5.4.1.5. Análisis de vectores

Con relación a N y P, los tratamientos mostraron predominantemente dos direcciones en los vectores para biomasa total relativa y biomasa aérea relativa (**Figura 5.3a y 5.3b**). La primera dirección es con incremento en las variables concentración y contenido, pero sin cambio en la categoría de biomasa. Dicha orientación se define por la porción superior de la dirección: (↗). La segunda dirección es con la disminución de la concentración y contenido y tampoco resultó en cambio de categoría de biomasa. En este caso, la orientación del vector se define por la porción inferior de la dirección: (↘). Con el tratamiento PT++ se muestra mayor consumo de lujo de N, que es un objetivo del endurecimiento mediante fertilización.

Con relación a la biomasa de raíz (**Figura 5.3c**), la concentración y masa neta de N incrementaron con el tratamiento PT++, el de máxima concentración de nutrientes, y además la biomasa pasó de la categoría 100 al 110%. En este caso, además de lograr una carga neta de N, la biomasa en raíz se incrementa. Otro tratamiento que estimula el crecimiento de raíz y con reducción en la concentración de N es K+.

La aplicación de P en sus dos niveles (P+ y P++), redujo la concentración y masa neta de N en la biomasa total, sin cambio en la categoría de biomasa total, aérea o de raíz (**Figura 5.4 a-c**). Esta dirección indicada por la porción inferior de (↘) indica acumulación del nutriente sin ganancia en biomasa. En general, mientras los dos niveles de P (P+ y P++) tienden a concentrar el N en componentes de menor biomasa, los dos niveles de (K+ y K++) tienden a concentrar el P en componente de menor biomasa.

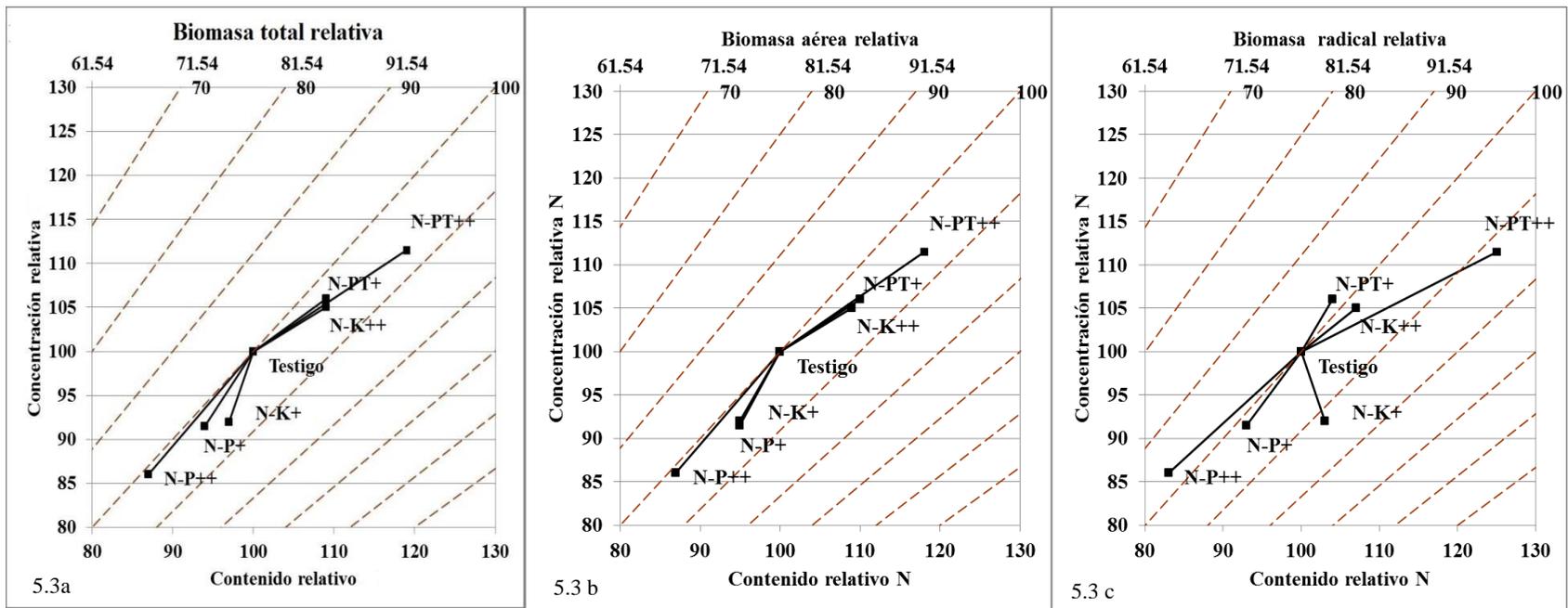


Figura 5. 3 a-c. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, aérea y radical, contenido relativo de N y concentración relativa de N.

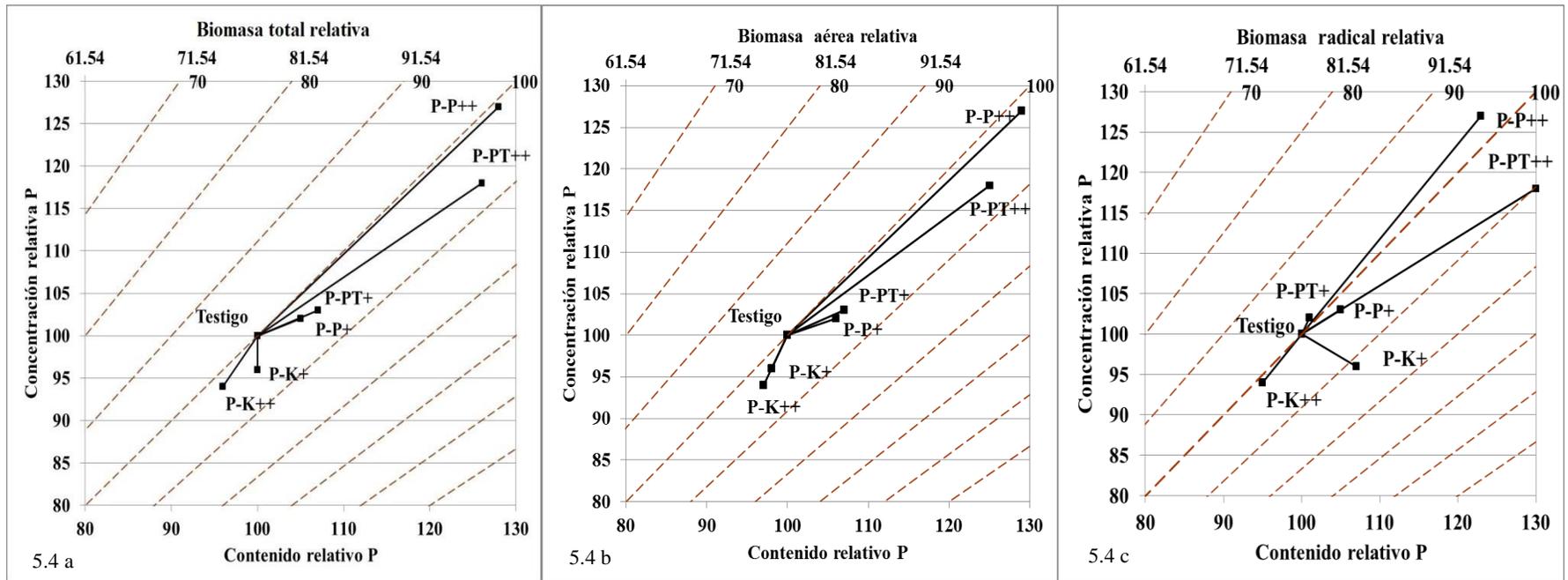


Figura 5. 4 a-c. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, aérea y radical, contenido relativo de P y concentración relativa de P.

Los vectores de las concentraciones de K con relación a los tratamiento, muestran vectores similares a los de N y P, pero de menos longitud. Lo que se debe a menor respuesta (**Figura 5.5a-c**). Sin embargo el tratamiento PT++, incrementa la concentración y masa neta de K, paralelamente con aumento en biomasa de raíz (**Figura 5.5c**). Los niveles de P (P+ y P++) concentraron los niveles de K.

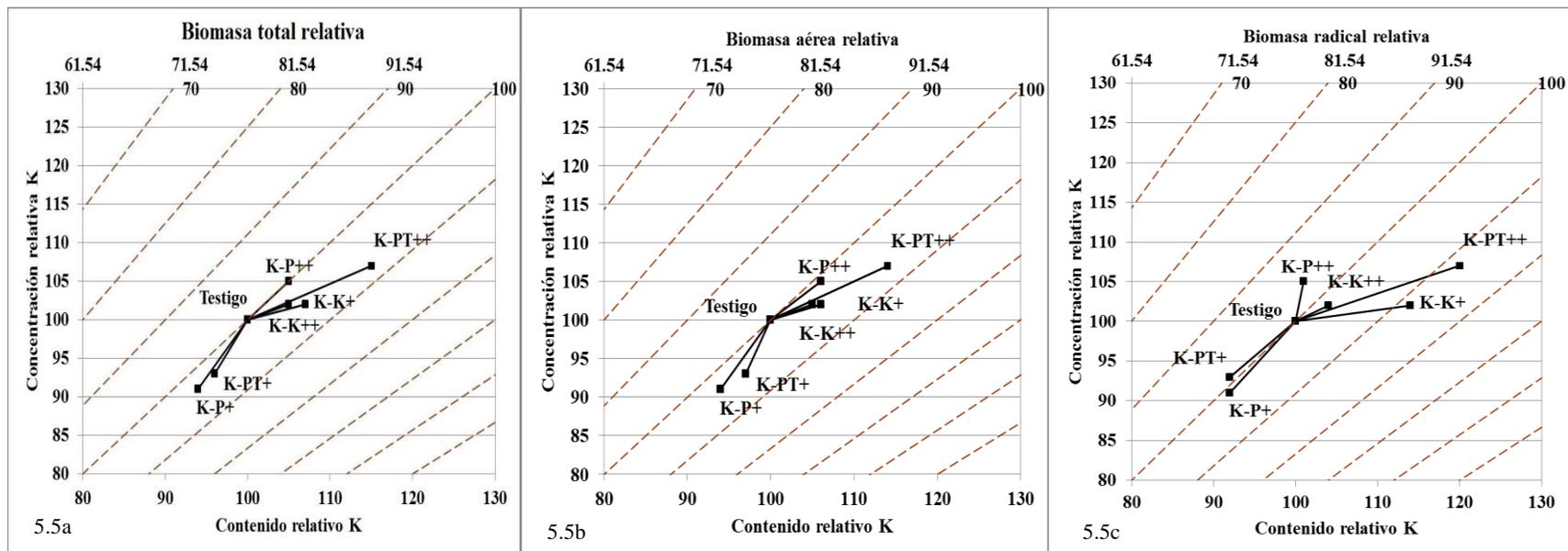


Figura 5. 5. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, aérea y radical, contenido relativo de K y concentración relativa de K.

En términos generales, el vector A se genera cuando se incrementa la dosis de P en 50% el N y K tiende a diluirse y el P se acumula (Vector D). Con el tratamiento P++ el N se diluye (Vector A) y tanto el P como el K se acumulan en la planta (Vector D). Al aumentar la dosis de fertilizante soluble Peters Professional en 50% el K tiende a diluirse. Este mismo comportamiento se presentó en N cuando se aumenta en 50% la dosis de K (Vector A). El único tratamiento que presenta P en estado en equilibrio es el K+ (Vector B).

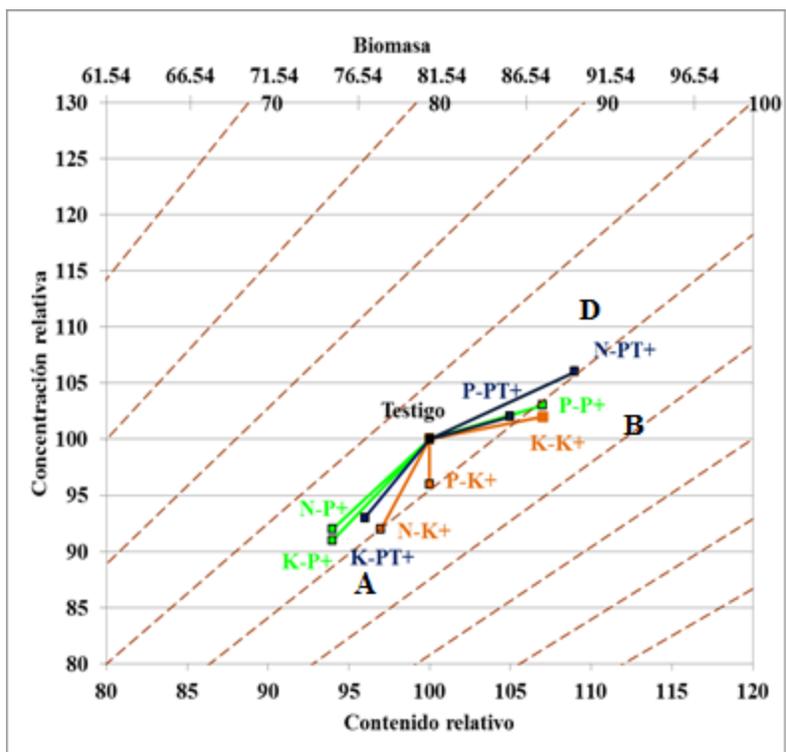


Figura 5. 6. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa total, contenido relativo y concentración relativa tratamientos P+, K+ y PT+.

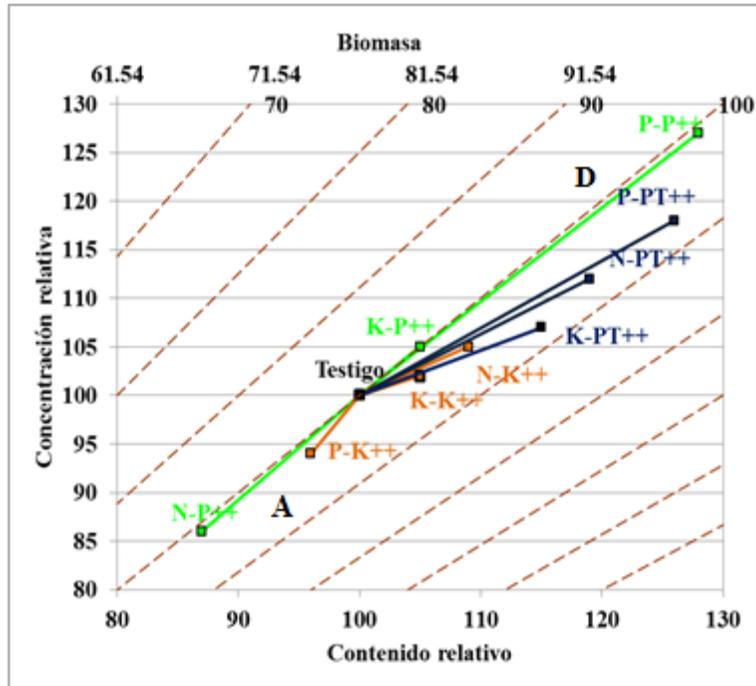


Figura 5. 7. Nomogramas de la respuesta relativa en biomasa aérea, contenido relativo y concentración relativa de nutrimentos tratamientos P++, K++ y PT++.

La relación entre la concentración en los tejidos vegetales y el crecimiento provoca fenómenos como la deficiencia, consumo de lujo o toxicidad. Cuando se aumentan los niveles de N, P y K sin equilibrar la relación entre los macroelementos puede causar dilución de otros nutrimentos (Grossnickle, 2005). Este efecto se observa en el tratamiento P++ ya que la concentración de N disminuyó. De manera general la concentración de potasio no presentó diferencia entre los tratamientos. Un aumento en la dosis de cualquier nutriente puede causar una disminución en la asimilación del nutriente (Edwards, 1989; Broschat, 1995). En *Pinus halepensis* Mill. se determinó que la relación entre las concentraciones N, P y K son importantes en la eficiencia para la asimilación de los nutrimentos (Del Campo *et al.*, 2011).

5.4.2. Etapa de plantación

No se detectaron diferencias significativas atribuibles al tratamiento para la variable supervivencia, que es el principal efecto buscado. Tampoco se encontró interacción entre el sitio y los tratamientos (Cuadro 5.7).

Cuadro 5. 7. Valor de significancia estadística (P) en el análisis de varianza para la supervivencia y tasas de crecimiento relativo.

Factor	Supervivencia	CRA	CRD
Sitio	<.0001	0.7433	0.8427
Bloque	0.9807	0.3799	0.2810
Tratamiento	0.9652	0.5730	0.4909
Tratamiento x sitio	0.9744	0.4818	0.5123

CRA= tasa decrecimiento relativo en altura. CRD =tasa de crecimiento relativo en diámetro al cuello de la raíz.

En el sitio de plantación Molino de la Flores se aplicó análisis estadístico por medio de contrastes ortogonales a los datos de supervivencia durante un ciclo de crecimiento y de acuerdo con el Cuadro 5.8 se encontraron diferencias entre los tratamientos con P y el testigo en el mes de abril de 2014.

Cuadro 5.8. Valor de significancia (P) de los contrastes para los cuatro muestreos de supervivencia en el sitio de plantación restrictivo.

Factor	Supervivencia			
	Diciembre 2013	Abril 2014	Junio 2014	Agosto 2014
Contrastes				
P+ P++ vs Testigo	0.41	0.0462	0.1748	0.3724
K+ K++ vs Testigo	0.09	0.3827	0.5691	0.5776
PT + PT ++ vs Testigo	0.58	0.4832	0.5629	0.5837
P+ vs P++	0.63	0.7601	0.9872	0.6853
K+ vs K++	0.34	0.551	0.3284	0.339
PT + vs PT ++	0.34	0.371	0.3208	0.565

Cuadro 5. 9. Valor de significancia (P) de los contrastes para las variables de crecimiento en el sitio de plantación restrictivo durante el primer periodo de crecimiento

Factor	Altura inicial	DCR inicial	Altura final	DCR final	IA	IDCR	TRCA	TRCD
Contrastes								
P+ P++ vs Testigo	0.1041	0.4762	0.3936	0.5147	0.6818	0.1416	0.4642	0.122
K+ K++ vs Testigo	0.358	0.6333	0.6864	0.1673	0.6932	0.0343	0.2951	0.0564
PT + PT ++ vs Testigo	0.0976	0.3082	0.6967	0.2571	0.9072	0.0718	0.5468	0.0482
P+ vs P++	0.1422	0.0773	0.5793	0.4236	0.6349	0.5392	0.6626	0.6508
K+ vs K++	0.2786	0.7859	0.7102	0.0138	0.7241	0.0072	0.2397	0.0351
PT + vs PT ++	0.9487	0.0448	0.7168	0.4058	0.8597	0.9809	0.9553	0.7186

DCR=diámetro al cuello de la raíz. IA=incremento aereo. IDCR= incremento en diámetro. TRCA= Tasa de crecimiento relativo en altura. TRCD =Tasa de crecimiento relativo en diámetro al cuello de la raíz.

El ANDEVA a lo relativo al crecimiento anual muestra que la diferencia entre tratamientos se observa en las variables de diámetro del cuello de la raíz al final del ciclo, en el incremento en el diámetro y en la tasa de crecimiento relativo (Cuadro 5.9). Los contrastes muestran significancia estadística entre los tratamientos de K en las variables de DCR, IDCR y CRD. Además el análisis detectó diferencias entre el testigo y los tratamientos de K y PT en IDCR y CRD.

De acuerdo con el ANDEVA para el sitio de condiciones favorables (S₂) el cuadro 10 muestra que las variables altura inicial de planta, altura final, incremento y tasa relativa de crecimiento en el diámetro del cuello de la raíz presentan significancia estadística (Cuadro 5.10).

Cuadro 5. 10. Valores de significancia (P) de los contrastes para las variables de supervivencia y crecimiento para el sitio de plantación de condiciones favorables.

Factor	Supervivencia	Altura inicial	DCR inicial	Altura final	DCR final	IA	IDCR	TRCA	TRCD
Contrastes									
P+ P++ vs Testigo	0.2815	0.533	0.27	0.0504	0.1032	0.0276	0.0181	0.762	0.0178
K+ K++ vs Testigo	0.2815	0.743	0.3742	0.6437	0.7686	0.3793	0.3874	0.7192	0.1991
PT + PT ++ vs Testigo	0.5757	0.1305	0.8414	0.0202	0.7889	0.0559	0.8727	0.5856	0.8675
P+ vs P++	0.0863	0.0044	0.8584	0.0883	0.0719	0.8712	0.0494	0.0044	0.1894
K+ vs K++	1.0000	0.0744	0.8594	0.3404	0.5284	0.7082	0.4838	0.127	0.5463
PT + vs PT ++	0.345	0.3735	0.0243	0.8436	0.3777	0.534	0.6834	0.2823	0.2292

DCR=diámetro al cuello de la raíz. IA=incremento aereo. IDCR= incremento en diámetro. TRCA= tasa de crecimiento relativo en altura. TRCD =tasa de crecimiento relativo en diámetro al cuello de la raíz.

5.4.2.1. Supervivencia y crecimiento relativo en dos sitios de plantación

El crecimiento relativo mensual en altura para el sitio restrictivo vario entre 0.06 a 0.03 cm mientras que en sitio de condiciones favorables los valores fueron entre 0.11 a 0.07 (Cuadro 5.11).

Cuadro 5. 11. Porcentaje de supervivencia y tasas de crecimiento relativo de *Pinus rudis* Endl. después del primer ciclo de crecimiento en dos sitios de plantación.

Tratamiento	Supervivencia (%)		TRCA (cm mes ⁻¹)		TRCD (mm mes ⁻¹)	
	S ₁	S ₂	S ₁	S ₂	S ₁	S ₂
P+	22 ± 6	100 ± 0	0.04 ± 0.00	0.11 ± 0.02	0.05 ± 0.01	0.07 ± 0.00
P++	16 ± 12	92 ± 0	0.03 ± 0.02	0.07 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0.08 ± 0.01
K+	6 ± 4	96 ± 3	0.06 ± 0.01	0.09 ± 0.00	0.08 ± 0.00	0.07 ± 0.01
K++	22 ± 13	96 ± 3	0.53 ± 0.50	0.07 ± 0.00	0.04 ± 0.01	0.07 ± .010
PT+	19 ± 18	100 ± 0	0.03 ± 0.00	0.08 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.07 ± 0.01
PT++	9 ± 6	96 ± 3	0.04 ± 0.01	0.09 ± 0.01	0.05 ± 0.02	0.07 ± 0.01
Testigo	6 ± 4	100 ± 0	0.04 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.07 ± 0.01

TRCA= tasa de crecimiento relativo en altura. TRCD=tasa de crecimiento relativo en diámetro al cuello de la raíz. Valores promedio ± error estandar. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Para el sitio restrictivo el tratamiento K+ registró la mayor supervivencia con 22%, las mayores tasas de crecimientos relativos mensuales tanto en altura (0.06 cm) como en diámetro (0.08 mm). En cambio en el sitio de condiciones favorables el tratamientos de P+ presento 100% de plantas vivas, ademas de las tasas de crecimiento mensuales aereas con los mayores valores (0.11 cm).

5.4.2.2. Supervivencia y crecimiento sitio restrictivo

En la plantación del Molino de las Flores el comportamiento de la supervivencia a lo largo de un ciclo de crecimiento fue variable, durante la etapa de establecimiento la supervivencia en todos los tratamientos fue del 100%, debido a que existían las condiciones de humedad y temperatura para que las plantas lograran arraigarse.

Durante el invierno algunos tratamientos como K+, K++ mostraron un descenso en la supervivencia (88 y 82%, respectivamente) (Figura 5.8a); en cambio en los tratamientos de P+, P++ y PT++ la supervivencia se mantuvo entre 97 y 100% de supervivencia. Los datos de supervivencia no mostraron diferencia entre tratamientos para la época invernal.

La primavera fue el único periodo en que se detectaron diferencias entre tratamientos. El porcentaje de supervivencia descendió en todos los tratamientos pero los mayores valores corresponden a los tratamientos P+ y P++ (66 y 60%) y los menores al testigo (25%, Figura 5.8b).

Durante los meses de Junio y Agosto de 2014 las plantas presentaron una mortalidad alta entre el 80 al 93 %. En el testigo y el tratamiento K+ presentaron el menor porcentaje de árboles vivos al final del ciclo de crecimiento con 7%, y los tratamientos de P+ y K++ la mayor supervivencia con 22% en ambos casos (Figura 5.8d).

La supervivencia en el sitio de condiciones restrictivas tuvo un descenso marcado en la primavera (abril 2014) que coincide con la época seca del año. En este periodo se muestran diferencias entre los tratamientos aumentados en P, los cuales tuvieron los porcentajes más altos de supervivencia (66 y 60%) como se observa en la Figura 5.8b.

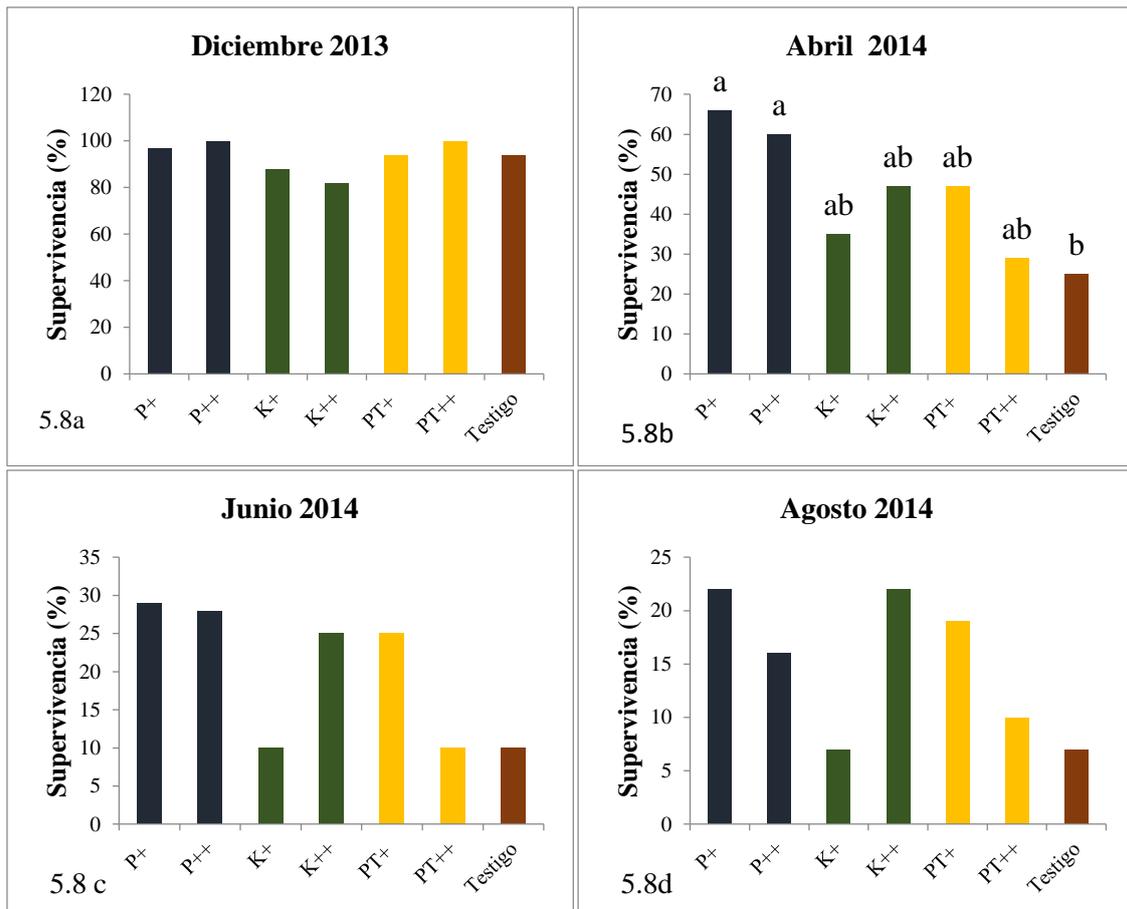


Figura 5. 8a Supervivencia mes de Diciembre 2013. Figura 5. 8b. Supervivencia mes de Abril 2014. Figura 5. 8c. Supervivencia mes de Junio 2014. Figura 5. 8d. Supervivencia mes de Agosto 2014. Plantación del Molino de las Flores. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los valores de diámetro, incremento y tasa de crecimiento relativo en diámetro presentaron diferencias entre los distintos tratamientos de fertilización. Para la parte aérea no se detectó alguna respuesta de la planta a los tratamientos. Los DCR después de un año de crecimiento oscilaron entre 11.8 mm y 8.3 mm, los incrementos entre 2.7 y 7.5 mm y la tasa de crecimiento relativa mensual entre 0.03 y 0.08 mm. Cuando se adicionó 50% de K los árboles tuvieron las mayores tallas en DCR con 11.8 mm, así como los mas altos valores en incrementos y tasas de crecimiento para el DCR (7.5 mm y 0.08 mm/mes). El testigo presentó los menores valores en los incrementos y tasas de crecimiento para el DCR con 2.7 mm y 0.03 mm/mes (Cuadro 5.12).

Cuadro 5. 12. Variables relacionadas al crecimiento en plantación después de un ciclo de crecimiento en *Pinus rudis* Endl. en el sitio de condiciones restrictivas.

Tratamiento	Morfología				Incremento		TRC	
	Altura inicial	DCR inicial	Altura final	DCR final	Altura (cm)	DCR (mm)	Altura (cm mes ⁻¹)	DCR(mm mes ⁻¹)
P+	17.3 ± 1.7	5.5 ± 0.5 a	30.5 ± 1.7	8.6 ± 0.6 b	11.4 ± 1.1	3.7 ± 0.5 b	0.04 ± 0.002	0.05 ± 0.01 b
P++	18.8 ± 1.3	5.1 ± 0.2 b	30.6 ± 2.8	8.8 ± 0.6 b	12.3 ± 2.6	4 ± 0.7 b	0.04 ± 0.01	0.04 ± 0.01 b
K+	15.4 ± 1.9	5.2 ± 0.4 ab	27.5 ± 2.8	11.8 ± 0.4 a	13 ± 1.5	7.5 ± 0.2 a	0.06 ± 0.002	0.08 ± 0 a
K++	16.4 ± 1.2	5.3 ± 0.4 ab	29.8 ± 1.8	9.3 ± 0.5 b	11.4 ± 1.9	4.2 ± 0.6 b	0.04 ± 0.01	0.05 ± 0.01 b
PT+	18.1 ± 1.2	5.6 ± 0.4 a	26.7 ± 2.1	9.3 ± 0.3 b	8 ± 1.7	3.7 ± 0.5 b	0.03 ± 0.01	0.04 ± 0.01 b
PT++	18 ± 1	5.1 ± 0.3 b	30.7 ± 0.9	8.3 ± 0.5 b	11.3 ± 1	4 ± 0.6 b	0.04 ± 0.04	0.05 ± 0.01 b
Testigo	16.7 ± 1.2	5.1 ± 0.3 b	28 ± 5.5	8.8 ± 0.8 b	11 ± 4.5	2.7 ± 0.5 c	0.04 ± 0.01	0.03 ± 0.005 c

DCR= diámetro al cuello de la raíz en mm Altura en cm. TRC= tasa relativa de crecimiento. Valores promedios ± error estandar. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).

5.4.2.3. Supervivencia y crecimiento en el sitio favorable

La supervivencia de *Pinus rudis* Endl. como antes se mencionó varió entre 92 y 100% y, no se presentó significancia entre los tratamientos de endurecimiento por fertilización en condiciones favorables para la plantación. El incremento en altura y DCR así como las tasas de crecimiento tanto en altura como en DCR presentan diferencias significativas entre tratamientos como se observa en el Cuadro 5.13. El tratamiento con aumento de P al 100% presentó los mayores incrementos en altura y DCR así como las mayores tasas de crecimiento para el DCR con 0.08 mm/mes. El testigo obtuvo los menores incrementos y tasas de crecimiento en DCR. El P aumentó la biomasa en raíces y la disminuyó la biomasa aérea.

Cuadro 5. 13. Variables relacionadas al crecimiento después de un ciclo de crecimiento en *Pinus rudis* Endl. en el sitio de condiciones favorables.

Tratamiento	Morfología				Incremento		TRC	
	Altura inicial	DCR inicial	Altura final	DCR final	Altura (cm)	DCR (mm)	Altura (cm mes ⁻¹)	DCR(mm mes ⁻¹)
P+	11.2 ± 2.7 ab	5.7 ± 0.5	32.8 ± 3.8 a	13.2 ± 0.8	21.6 ± 2.8 a	7.5 ± 0.6 b	0.10 ± 0.01 a	0.07 ± 0.005 ab
P++	16.6 ± 2.0 a	5.7 ± 0.4	37.7 ± 2.9 a	14.3 ± 0.9	21.3 ± 2.8 a	8.6 ± 0.9 a	0.07 ± 0.01 b	0.08 ± 0.007 a
K+	10.7 ± 1.5 b	5.8 ± 0.4	30.1 ± 3.4 b	12.9 ± 0.6	19.4 ± 2.9 ab	7.2 ± 0.6 b	0.09 ± 0.01 b	0.07 ± 0.005 ab
K++	14.0 ± 2.3 ab	5.7 ± 0.6	32.9 ± 3.5 b	13.3 ± 0.8	18.7 ± 2.6 ab	7.5 ± 0.7 b	0.07 ± 0.01 b	0.07 ± 0.006 ab
PT+	16.2 ± 2.9 ab	5.7 ± 0.3	36.4 ± 3.7 a	12.8 ± 0.9	20.3 ± 2.7 a	7.1 ± 0.8 b	0.07 ± 0.01 b	0.07 ± 0.005 ab
PT++	14.5 ± 2.7 ab	6.4 ± 0.7	35.8 ± 3.8 a	13.3 ± 1.0	21.5 ± 2.8 a	6.9 ± 0.9 b	0.08 ± 0.01 b	0.06 ± 0.007 ab
Testigo	12.9 ± 3.8 ab	6.0 ± 0.4	30.4 ± 5.9 b	12.9 ± 0.8	17.5 ± 3.3 b	6.9 ± 0.8 b	0.08 ± 0.01 b	0.06 ± 0.005 b

DCR= Diámetro al cuello de la raíz en mm. Altura en cm. TRC= tasa relativa de crecimiento. Valores promedios ± error estándar. Medias con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, P ≤ 0.05).

5.5. DISCUSIÓN

La RPA/R es igual a 4 en todos los tratamientos, esto indica que esta especie a pesar de someterse a diferentes niveles de fertilización, no modifica las proporciones de biomasa aérea y raíz mostrando, que es más importante mantener un balance morfológico que aprovechar condiciones favorables de fertilidad y aumentar biomasa aérea, como ocurre para otras especies como en *Pinus pinea* (Domínguez *et al.*, 2000) *Quercus ilex* (Andivia *et al.*, 2011). En la etapa de endurecimiento las plantas generan cambios en su morfología debido al efecto de las temperaturas, además la planta reduce el crecimiento de la parte aérea por cambios en la fertilización y cambios en el metabolismo de los carbohidratos (Beck *et al.*, 2004; Beck *et al.*, 2007; Landis, 2013).

Algunos autores mencionan que la RPA/R ideal varía entre 2 y 3 (Jackson *et al.*, 2012; Villar, 2003), es probable que para *Pinus rudis*, por ser una especie que crece en sitios secos previo al verano y fríos en invierno, una mayor proporción de raíces sea un factor crítico.

El manejo de nutrimentos en el vivero presenta un fuerte potencial para modificar las características morfo-funcionales de las plántulas y con esto manejar la calidad de planta (Trubat *et al.*, 2010). La ausencia de respuesta en la morfología de la plántulas por fertilización, también se ha visto en *Pinus pinea* (Domínguez *et al.*, 2000), *Ceratonia siliqua* L. (Planelles, 2004) y *Quercus suber* (Chirino *et al.*, 2004).

Al potencial de crecimiento de raíz (PCR) se le considera un confiable predictor del comportamiento de las plantas en campo (Grossnickle, 2005; Landis y Ritchie, 2010), proporciona datos de la producción y crecimiento de raíces nuevas durante el arraigo de las

plántulas en un ambiente óptimo (Hasse, 2007). Cuando se aumentó la dosis de P en 50% las plántulas aumentaron en 25% el número de raíces blancas con respecto al testigo. El P estimula el crecimiento del sistema radical y ~~en~~ la morfología de la planta (Salisbury y Ross, 1994): La concentración de N y P se relacionó con la producción de raíces en términos de PCR en *Rhamnus alaternus*, *Pistacia lentiscus*, *Quercus coccifera*, *Rhamnus lyciodes*, *Tetraclinis articulata* (Trubat *et al.*, 2004). Así mismo en *Quercus ilex* la respuesta en la regeneración de raíces está relacionada con la capacidad de asimilación de la especie, con la cantidad de nutrimentos y carbohidratos almacenados (Andivia *et al.*, 2011).

El aumento en la dosis de P disminuye la concentración de N. Lo anterior ha sido documentado en *Pistacia lentiscus*, en cuyo caso, la concentración de P redujo la concentración de N (Trubat *et al.*, 2004). El equilibrio entre los nutrimentos, la cantidad y concentraciones permite que la planta logre obtener niveles adecuados de N, P y K para que la planta tenga un crecimiento y funcionamiento óptimo en condiciones de estrés (Trubat *et al.*, 2004; Oliet *et al.*, 2013).

Los tratamientos de endurecimiento adicionados con P muestran que la dosis aplicada influye en la concentración de N, y en la menor acumulación de carbohidratos de reserva (Marshall, 1985). Se puede afirmar que existe antagonismo cuando la concentración de P y K son altas con la presencia de N. De tal forma que las dosis altas de NPK no son favorables.

El consumo de lujo se obtiene cuando la disposición de los nutrimentos se encuentra en cantidades mayores a las necesidades de la planta. Cuando se llega a este punto no se presenta crecimiento y es posible la acumulación de nutrimentos como P y K (Jacobs y Timmer, 2005).

Los resultados de la investigación indican que los tratamientos P+, K+, PT++ y PT++ tienden hacia el consumo de lujo para P, K y con esto se compromete la biomasa de la planta. En *Pinus montezumae* la fertilización con Peters Professional® muestra desequilibrio en la planta y una tendencia hacia la toxicidad (Hernández, 2013).

El P puede alcanzar niveles tóxicos con facilidad. La toxicidad afecta el crecimiento de forma negativa ante altas dosis de fertilizantes (Jacobs y Timmer, 2005), y cuando existe una concentración alta de P el crecimiento en pinos puede disminuir (López, 1990). La aplicación de P a las plantas cultivadas en contenedores tiene que realizarse con cuidado ya que la retención de P es baja y la disponibilidad es alta (Anónimo, 1985). El aumento de P sin guardar las proporciones con N y K puede no responder de manera positiva en la morfología de la planta (Thomas *et al.*, 2000).

El incremento en las dosis de fertilizantes solubles pueden no presentar efecto la calidad de planta. Por ejemplo en *Pinus engelmannii* se aumentaron las dosis con Peters Professional® y los parámetros morfológicos presentaron desequilibrio (Prieto *et al.*, 2004).

La mayoría de los cultivos soportan hasta un límite las concentraciones de nutrimentos en las soluciones nutritivas, cuando se rebasa el límite fisiológico de la planta no hay respuesta en el crecimiento por la sobrecarga o deficiencia de otros nutrimentos (Steiner, 1984).

Cuando no existe la limitación de nutrientes y se aplica en la fertilización el efecto al incrementar la concentración de cualquier nutriente puede ser contraproducente y presentar efectos negativos o nulos para el crecimiento de las plantas (Schutz y Villiers, 1987).

Dentro de los elementos importantes para determinar el efecto de las prácticas en vivero, tales como el endurecimiento se encuentra la supervivencia y la tasa de crecimiento relativo de las plantas (Birchler *et al.*,1998; Villar, 2003) comparando dos sitios de condiciones físico ambientales distintos. En el presente estudio las diferencias entre sitios fueron contrastantes. En condiciones restrictivas la supervivencia de los árboles de *Pinus rudis* Endl. no fue mayor al 22 % mientras que en condiciones favorables la supervivencia osciló entre el 90 y 100% . El efecto del sitio es marcado y determinante en el desempeño en campo para especies plantadas como *Pinus rudis* Endl. con fines de reforestación.

Además de la supervivencia, el crecimiento de los árboles después de un año de plantado, evalúa la respuesta de los árboles en la etapa de plantación. Las tasas de crecimiento relativo tanto en altura como en diámetro se encuentran relacionadas con las condiciones del sitio de plantación como son el suelo, la temperaturas y la precipitación. En los tratamientos de fertilización el crecimiento relativo presentó diferencias entre sitios pero no entre tratamientos.

La supervivencia de las plantaciones está relacionada con las condiciones físico ambientales del sitio, y determinadas por las interacciones planta-sitio (Oliet *et al.*, 2013). Algunos autores manejan que la calidad de planta influye en el desempeño en campo de los brinzales producidos en vivero, pero además existen factores como la especie, el sitio, la preparación del terreno, fecha de plantación y mantenimiento de las plantaciones que

determinan el porcentaje de supervivencia en la plantación (Navarro *et al.*, 2006; Vilagrosa *et al.*, 2005).

De acuerdo con los resultados, la supervivencia para *Pinus rudis* Endl. estuvo influida por el sitio y no por el efecto de los tratamientos (Cuadro 12). Para el sitio de condiciones restrictivas el porcentaje de supervivencia más alto fue de 22%, en cambio para el sitio de condiciones favorables se presentó el 100% de brinzales vivos. Con respecto a la tasa relativa de crecimiento mensual no se presentó diferencia entre sitios y tratamientos. El endurecimiento se relaciona con el manejo de la morfología de la planta, el estado nutrimental y de reservas. Dichos atributos determinan la calidad de planta. Al aumentar la calidad de la planta en teoría se aumenta la supervivencia y el crecimiento pero no siempre se obtiene dicha respuesta (Villar *et al.*, 2012; Oliet *et al.*, 2013).

En investigaciones con *P. halepensis* se concluyó que la supervivencia depende de las especies y por la competencia de las malezas y, no debido a la calidad de la planta (Cuesta *et al.*, 2010). *Zizyphus lotus* L. (Lam.) no mostró diferencias en la supervivencia por el estado nutrimental de la planta y el tamaño de la planta (Oliet *et al.*, 2012).

El estado nutrimental de las plantas se relaciona al aumento de la supervivencia pero algunas investigaciones demuestran lo contrario. Trubat *et al.*, (2008) indica que a menor tamaño de las plántulas y concentración de nutrimentos la supervivencia y el crecimiento incrementan para algunas especies europeas mediterráneas bajo condiciones áridas.

El incremento de nutrimentos es una técnica de fertilización utilizada en la producción en vivero, y tiene por objeto inducir a la planta al consumo de lujo y el almacenaje de nutrimentos (Timmer 1997; Salifu y Jacobs 2006), pero la proporción entre los elementos

esenciales en la nutrición es específica para cada especie y etapa de crecimientos (Landis, 1989). El exceso de determinados iones en la solución nutritiva afecta la disponibilidad y absorción de otros nutrimentos por la planta (Trubat, 2012).

El aumento en la supervivencia se relaciona con el estado nutrimental de la planta, debido a que los árboles después del trasplante demandan de nutrimentos para el crecimiento. Ya en campo, los nutrimentos son adquiridos de fuentes externas (suelo) o por las reservas almacenadas dentro de la planta (Millard y Grelet 2010). Es importante mencionar que después del trasplante el sistema de raíces aún no tiene capacidad de absorción y la demanda de nutrimentos se obtiene por la removilización de los tejidos viejos hacia los nuevos (Grossnickle, 2005).

En distintos trabajos se ha demostrado la relación entre la fertilización, calidad de planta y el desempeño en campo, pero aún no se tiene claro el papel de la concentración de los nutrimentos en la morfología y el establecimiento de la plantación. Por ejemplo el tamaño de las plántulas de *Pinus nigra* juega un papel más importante en el arraigo de las plántulas que la concentración de N (Cuesta *et al.*, 2010).

El inducir al consumo de lujo permite aumentar la cantidad de reservas en los tejidos durante el endurecimiento, y la planta en campo las utiliza para el crecimiento (Idris *et al.*, 2004), además genera resistencia al estrés según el metabolismo de la especie (Timmer 1997; Salifu y Jacobs, 2006), y mejora el rendimiento de la plantación. El N y P son removilizados por la planta y son relevantes para las especies que viven en suelos pobres en nutrimentos (Salifu y Timmer, 2003; Salifu *et al.*, 2008).

El manejo de P en la fertilización en la producción en vivero aumenta la concentración en raíces, además influye en el crecimiento de las raíces nuevas como en *Quercus ilex* (Sardans *et al.* 2006) y con esto mejora la supervivencia de los brinzales, como sucedió con *Pinus halepensis* (Oliet *et al.*, 2009). En *Pinus resinosa* la reducción de N y el aumento de P incrementó el DCR después de un ciclo de crecimiento (Islam *et al.*, 2009). Aunque la respuesta en supervivencia fue positiva es importante que la planta resista todo el periodo de sequía, lo cual no sucedió en la presente investigación, pero se puede disminuir la mortandad produciendo un sistema de raíces profundas (Trubat *et al.*, 2011).

El crecimiento en el sitio de condiciones restrictivas con el tratamiento de incremento del 50% de K generó los mayores crecimientos en DCR. El K tiene funciones metabólicas en la planta, por lo que el aumento de cationes libres K⁺ aumenta la resistencia al estrés hídrico y bajas temperaturas, ya que es un elemento importante en el ajuste osmótico (Salisbury y Ross, 1994). El K no es parte de la estructura de la planta por lo cual no hay un efecto marcado como el N y P. Son pocos los estudios que demuestran una relación positiva entre el incremento del K en la fertilización y el crecimiento, por ejemplo en *Quercus ilex* la concentración de K se relacionó con el desempeño en campo (Del Campo *et al.*, 2010; Andivia *et al.*, 2011).

Un aspecto importante en el establecimiento de las reforestaciones es la capacidad de la planta para producir raíces, la estrategia ante el déficit hídrico (Vilagrosa *et al.*, 2005); además la supervivencia de las plántulas se relaciona con el crecimiento y las condiciones ambientales del sitio (Grossnickle, 2005).

5.6. CONCLUSIONES

Los tratamientos de endurecimiento incrementando las dosis de P, K y fertilizante soluble no presenta modificaciones en la morfología de la planta después del proceso de endurecimiento por seis semanas. El efecto de las condiciones físico ambientales determinan la supervivencia y crecimiento en *Pinus rudis* Endl. El endurecimiento adicionando P bajo condiciones favorables en campo incrementó la supervivencia y las tasas de crecimiento en altura y diámetro. En condiciones restrictivas los tratamientos de endurecimiento no presentaron mejora en el desempeño en campo.

Los cambios en humedad del suelo en primavera indujeron la expresión de diferencias entre tratamientos. El porcentaje de supervivencia descendió en todos los tratamientos pero los mayores niveles correspondieron a los tratamientos P+ y P++; los menores valores de plantas vivas corresponden al testigo. La aplicación de K en dosis altas también favoreció la supervivencia.

El porcentaje de daño a la raíz de plántulas de *Pinus rudis* fue mayor a 75%, y no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo. El testigo tendió a presentar el menor daño, mientras que los tratamientos con fósforo (P+ y P++) tendieron a generar el mayor daño.

Cuando los brinzales de *Pinus rudis* se establecen en condiciones favorables, las diferencias del endurecimiento no se expresan y las plantas tienden al consumo de lujo de nutrimentos, en especial de fósforo.

CAPÍTULO VI. LITERATURA CITADA

Abrams, M.D. 1988. Sources of variation in osmotic potential with special reference to North American tree species. *Forest Science* 34: 1030-1046.

Alcántar G., G., y M. Sandoval V. 1999. Manual de Análisis Químico de Tejido Vegetal. Publicación Especial No. 10. SMCS. Chapingo, México. 150 p.

Andivia, E., M. Fernández, and J. Vázquez P. 2011. Autumn fertilization of *Quercus ilex* ssp. *ballota* (Desf.) Samp. nursery seedlings: effects on morpho-physiology and field performance. *Annals of Forest Science* 68:543-553.

Andivia, E., B. Márquez G., J. Vázquez P., F. Córdoba, and M. Fernández M. 2012. Autumn fertilization with nitrogen improves nutritional status, cold hardiness and oxidative stress response of Holm oak (*Quercus ilex* ssp. *ballota* (Desf.) Samp.) nursery seedlings. *Trees* 26:311-320.

Anonymous. 1985. Phosphate needs of woody plants. *Comm. Hort.* (June/July). 29 p.

Baji, M., J. M. Kinet, and S. Lutts. 2002. The use of the electrolyte leakage method for assessing cell membrane stability as a water stress tolerance test in durum wheat. *Plant Growth Regulation* 36: 61-70.

Arias R. H. M.; Gómez G. A.; Adame M. S.; Miranda M. M. E. 1990. Evaluación del programa de reforestación del proyecto Lago de Texcoco. 1990 Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 94 p.

Barnett, J. P. 1984. Relating seedling physiology to survival and growth in container-grown southern pines. *In*: M. L. Duryea, and G. N. Brown (eds). *Seedling Physiology and Reforestation Success*. Martinus Nijhoff. Dordrecht. pp: 157-176.

Basave V. E., M.A. López L., V. M. Cetina A., A. Aldrete y J, J, Almaraz S. 2014. Prácticas culturales en vivero que influyen en la calidad de planta de *Enterolobium cyclocarpum*. *Bosque*. 35(3):301-309.

Beck, E. H., R. Heim, and J. Hansen. 2004. Plant resistance to cold stress: Mechanisms and environmental signals triggering frost hardening and dehardening. *Journal of Biosciences* 29(4): 449-459.

Beck, E. H., S. Fettig, C. Knake¹, K. Hartig, and T. Bhattarai. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. *Journal of Biosciences* 32(3): 501-510.

Bigras, F.J., A. Ryyppö, A. Lindström, and E. Stattin. 2001. Cold acclimatation and deacclimation of shoot and roots of conifer seedlings. *In*: F. J. Bigras, and S. J. Colombo (eds). *Conifers cold hardiness*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp: 57-88.

Birchler T., R. W. Rose, A. Royo, y M. Pardos. 1998. La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definatorios e implementación práctica. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 7: 109-121.

Blake, J., J. B. Zaerr, and S. Hee. 1979. Controlled moisture stress to improve cold hardiness and morphology of Douglas-fir seedlings. *Forest Science* 25 (4): 576-582.

- Boivin, A., R. Cherrier, C. Perrin G., and M. Schiavon. 2004. Time effect on bentazone sorption and degradation in soil. *Pest Management Science* 60 (8): 809 - 814.
- Broschat, T.K. 1995. Nitrate, phosphate, and potassium leaching from two species of container-grown plants fertilized by several methods. *HortScience* 30:74-77.
- Bucio, J. L., E. H. Abreu, L. S. Calderón, M. F. Jacobo, J. Simpson, and L. H. Estrella. 2002. Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the *Arabidopsis* root system. *Plant Physiology* 129:244-256.
- Burdett, A. N. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Canadian Journal of Forest Research* 20: 415-427.
- Cabral, R., and C. O'Reilly. 2005. The physiological responses of oak seedlings to warm storage. *Canadian Journal of Forest Research* 35: 2413-2422.
- Cannell, M. G. R. 1985. Analysis of risks of frost damage to trees in Britain. *In*: M. A. P. Tigerstedt, P. Puttonen, and V. Koski (eds). *Crop Physiology of Forest Trees*. Helsinki University Press, Helsinki, Finland. pp: 153-166.
- Céspedes F., S. E., y E. Moreno S. 2010. Estimación del valor de la pérdida de recurso forestal y su relación con la reforestación en las entidades federativas de México. *Investigación ambiental* 2(2): 5 - 13.
- Chirino M., E., A. Vilagrosa C., y E. Rubio A. 2004. Efectos de la reducción de riego y la fertilización en las características morfológicas de *Quercus suber*. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 17: 51-56.

Christersson, L. 1976. The effect of inorganic nutrients on water economy and hardiness of conifers. II. The effect of varying potassium and calcium contents on water status and drought hardiness of pot-grown *Pinus sylvestris* L. and *Picea abies* (L.) Karst. seedlings. *Studia Forestalia Suecica* 136: 1-22.

Close, D. C. 2012. A review of ecophysiological-based seedling specifications for temperate Australian *Eucalypt* plantations. *New Forests* 43:739-753.

Colombo, S. J., M. I. Menzies, and C. O'Reilly. 2001. Influence of nursery cultural practices cold hardiness of coniferous forest tree seedlings. *In*: F. J. Bigras, and S. J. Colombo (eds). *Conifers cold hardiness*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. pp: 223-252.

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2007. *Pinus rudis* Endl. Paquete tecnológico. [En línea]. Disponible en <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/982Pinus%20rudis.pdf> (revisado el 15 de Abril del 2011).

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2008. Nuestros Arboles: Preferido por las reforestaciones: *Pinus oaxacana* Mirov *Revista México Forestal* 99. [En línea]. Disponible en <http://www.mexicoforestal.gob.mx/> (revisado el 15 de Abril del 2011).

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2009. Reforestación. Evaluación externa ejercicio fiscal 2008. SEMARNAT-CONAFOR- UANL. 388 p.

Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). 2010. Prácticas de reforestación. CONAFOR. Zapopan, Jal., Mex. 64 p.

Coopman, R. E., J. C. Jara, R. Escobar, L. J. Corcuera, and L. A. Bravo. 2010. Genotypic variation in morphology and freezing resistance of *Eucalyptus globulus* seedlings subjected to drought hardening in nursery. *Electronic Journal Biotechnology* 13:1-8.

Cortina, J., A. Vilagrosa, and R. Trubat. 2013. The role of nutrients for improving seedling quality in drylands. *New Forests* 44:719-732.

Cuesta, B., P. Villar S., J. Puértolas, D. F. Jacobs, and J. M. Rey B. 2010. Why do large, nitrogen rich seedlings better resist stressful transplanting conditions? A physiological analysis in two functionally contrasting Mediterranean forest species. *Forest Ecology and Management* 260:71-78.

de Chantal, M., K. Leinonen, H. Ilvesniemi, and C. J. Westman. 2003. Combined effects of site preparation, soil properties, and sowing date on the establishment of *Pinus sylvestris* and *Picea abies* from seeds. *Canadian Journal of Forest Research* 33: 931-945.

De Micco, V., and G. Arone. 2012. Occurrence of Morphological and Anatomical Adaptive Traits in Young and Adult Plants of the Rare Mediterranean Cliff Species *Primula palinuri* Petagna. *The Scientific World Journal* 2012: 1-10.

Del Campo, A. D, R. M. Navarro, and C. J Ceacero. 2010 Seedling quality and field performance of commercial stocklots of containerized holm oak (*Quercus ilex*) in Mediterranean Spain: an approach for establishing a quality standard. *New Forests* 39:19-37.

Del Campo, A. D., J. Hermoso, C. J. Ceacero and R. M. Navarro. 2011. Nursery location and potassium enrichment in Aleppo pine stock 1. Effect on nursery culture, growth, allometry and seedling quality. *Forestry* 84(3):221-234.

Dickson, A., A. L. Leaf, I. E. Hosner.1960. Quality appraisal of white spruce and white pine seedlings stock in nurseries. *Forestry Chronicle* 36: 10-13.

Domínguez, J.A., J. A. Rodríguez, S. Reyna, J. A. Saiz De Omeñaca, J. Zazo, R. Pérez, y F. Galiana. 2000. Mejora de la Nutrición Mineral en Planta Forestal Mediante Micorrización Controlada en Vivero. VIII Simposio Nacional- IV Ibérico sobre Nutrición Mineral de las Plantas: Nutrición Mineral en una Agricultura Mediterránea Sostenible. Murcia. España.

Dumroese, R. K., S. S. Sung, J. R. Pinto, A. Ross D., and D. A. Scott. 2013. Morphology, gas exchange, and chlorophyll content of longleaf pine seedlings in response to rooting volume, copper root pruning, and nitrogen supply in a container nursery. *New Forests* 44 (6):881-897.

Duryea, M.L. 1985. Evaluating seedling quality: importance to reforestation. *In*: M.L. Duryea (ed) *Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests*. Oregon State University, Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis. pp: 1-4.

Escobar R., R. 2012. Fases de cultivo: Endurecimiento. *En*: L. T. Contardi, H. E. Gonda, G. Tolone, y J. Salimbeni (coord). *Producción de plantas en viveros forestales*. Consejo Federal de Inversiones; Comodoro Rivadavia : Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco UNPSJB; Comodoro Rivadavia : Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico, Argentina. Buenos Aires, Argentina. pp: 145- 164.

Edwards, I. K. 1989. The effects of mineral nutrition on hardening-off of conifer seedlings. *In*: T. D. Landis technical coordinator. *Proceedings, Intermountain Forest Nursery*

Association; 1989 August 14-18; Bismarck, ND. General Technical Report RM-184. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. pp: 98-102.

Evans, G. C. 1972. The quantitative analysis of plant growth. Blackwell Scientific Publications. Oxford, Reino Unido. 734 p.

Fernández, M, C. Marcos, R. Tapias , F. Ruiz, and G. López. 2007. Nursery fertilization affects the frost-tolerance and plant quality of *Eucalyptus globulus* Labill. cuttings. *Annals of Forest Science* 64: 865-873.

García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Köppen, Adaptado para las Condiciones de la República Mexicana. 3ª Ed. Offset., Lario Ed. S.A. 252 p.

Gómez R., M., J. C. Soto C, J. A. Blanco G, C. Sáenz R., J. Villegas, R. Lindig C. 2012. Estudio de especies de pino para restauración de sitios degradados. *Agrociencia* 46: 795-807.

Greer, D. H., L. A. Robinson, A. J. Hall, K. Klages, and H. Donnison. 2000. Frost hardening of *Pinus radiata* seedlings: effects of temperature on relative growth rate, carbon balance and carbohydrate concentration. *Tree Physiology* 20: 107-114.

Grossnickle, S. C. 2005. Importance of root growth in overcoming planting stress. *New Forests* 30: 273-294.

Grossnickle, S. C. 2012. Why seedlings survive: influence of plant attributes. *New Forests* 43: 711-738.

Harper, C. P., and C. O'Reilly. 2000. Effect of warm storage and date of lifting on the quality of Douglas fir seedlings. *New Forests* 20: 1-13.

Hasse, D. L. 2007. Morphological and physiological evaluations of seedling quality. *In*: L. E. Riley, R. K. Dumroese, T. D. Landis, (coords). National proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations. Proc. RMRS-P-65. Fort Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. pp: 74-79.

Hernández, E. I., A. Vilagrosa, V. C. Luis, M. Llorca, E. Chirino, and V. R. Vallejo. 2009. Root hydraulic conductance, gas exchange and leaf water potential in seedlings of *Pistacia lentiscus* L. and *Quercus suber* L. grown under different fertilization and light regimes. *Environmental and Experimental Botany*. 67: 269-276.

Hernández, P. F. y S. Torres L. 2009. Niveles críticos nutrimentales preliminares para especies forestales de México a nivel de vivero. Tesis profesional. DICIFO, Universidad Autónoma Chapingo. 151 p.

Hernández Z., L. 2013. Crecimiento de *Pinus montezumae* Lamb. Influenciado por el sustrato y la fertilización en vivero. Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 109 p.

Hodge, G. R., W. S. Dvorak, and M. E. Tighe. 2012. Comparisons between laboratory and field results of frost tolerance of pines from the southern USA and Mesoamerica planted as exotics. *Southern Forests* 74: 7-17.

Hunt, R. 1982. Plant growth curves. The functional approach to plant growth analysis. Edward Arnold Ltd. 248 p.

Idris, M., K.F. Salifu, and V.R. Timmer. 2004. Root plug effects on early growth and nutrition of container black spruce seedlings. *Forest Ecology and Management* 195: 399-408.

Imo, M., and V. R. Timmer. 1992. Nitrogen uptake of mesquite seedlings at conventional and exponential fertilization schedules. *Soil Science Society of America Journal* 56:927-934.

Islam, M.A., K. G. Apostol, D. F. Jacobs, and R. K. Dumroese. 2009. Fall fertilization of *Pinus resinosa* seedlings: nutrient uptake, cold hardiness, and morphological development. *Annals of Forest Science* 66(7): 704 p1 -704 p9.

Jackson, D. P., R. K. Dumroese, and J. P. Barnett. 2012. Nursery response of container *Pinus palustris* seedlings to nitrogen supply and subsequent effects on outplanting performance. *Forest Ecology and Management* 265: 1-12.

Jacobs, D. F., and V. R. Timmer. 2005. Fertilizer-induced changes in rhizosphere electrical conductivity: relation to forest tree seedling root system growth and function. *New Forests* 30:147-166.

Jokela, A., T. Sarjala, and S. Huttunen. 1998. The structure and hardening status of Scots pine needles at different potassium availability levels. *Trees-Structure and Function* 12: 490-498.

Kalberer, S. R., M. Wisniewski, and R. Arora. 2006. Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: Current understanding and emerging concepts. *Plant Science* 171: 3-16.

Lamhamedi, M. S., H. Margolis, M. Renaud, L. Veilleux, I. Auger. 2003. Effets de différentes régies d'irrigation sur la croissance, la nutrition minérale et le lessivage des

éléments nutritifs des semis d'épinette noire (1+0) produits en récipients à parois ajourées en pépinière forestière. *Canadian Journal of Forest Research* 33: 279-291.

Landis, T.D. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality. *In*: M. L. Duryea (ed) *Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests*. Oregon State University, Forest Research Laboratory, Corvallis. pp: 29 - 48.

Landis, T. D. 1989. Mineral nutrients and fertilization. *In*: T. D. Landis, R. W. Tinus, S. S. McDonald, and J. P. Barnett. *The Container Tree Nursery Manual, Volume 4. Agric. Handbook. 674*. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. pp: 1-67.

Landis, T. D. 2013. Conditioning Nursery Plants to Promote Hardiness and Dormancy. *Forest Nursery Notes*. Winter. pp: 5-14.

Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald, J. P. Barnett. 1992. Atmospheric Environment. Volume 3. *The container tree nursery manual. Agriculture Handbook 674*. Washington, DC, USA: US Department of Agriculture, Forest Service. 145 p.

Landis, T. D., and G. A. Ritchie. 2010. Seedling Processing, Storage, and Outplanting. Volume 7. *The Container Tree Nursery Manual. Agriculture Handbook 674*. Washington, DC, USA: US Department of Agriculture, Forest Service. 80 p.

Lavender, D. P., and B. D. Cleary. 1974. Coniferous seedling production techniques to improve seedling establishment. *In*: R. W. Tinus, W. I. Stein, and W. E. Balmer (eds). *North American Containerized Forest Tree Seedling Symposium*. Denver, Colorado, August 26-29. *Great Plains Ag. Council Publ. 68*. pp: 177-180.

López L., M. A. 1990. Estudio de nutrición de *Pinus patula* Schl et Cham. en sistema hidropónico. Tesis Profesional . UACH. Chapingo, México.69 p.

Luis, V. C., M. Llorca, E. Chirino, E. I. Hernández, and A. Vilagrosa. 2010. Differences in morphology, gas exchange and root hydraulic conductance before planting in *Pinus canariensis* seedlings growing under different fertilization and light regimes. *Trees* 24:1143-1150.

Margolis, H. A., and R. H. Waring. 1986. Carbon and nitrogen allocation patterns of Douglas-fir seedlings fertilized with nitrogen in autumn. I. Overwinter metabolism. *Canadian Journal of Forest Research* 16(5): 897-902.

Marshall, J. D. 1985. Carbohydrate status as an index of seedling quality. *In*: M. Dureya (ed) *Evaluating seedling quality. Principles, procedures and predictive abilities of major test.* Forest Research Lab. Oregon State University. Corvallis. pp: 49-58.

Masoumi, A., M. Kafi, H. Khazaei, and K. Davari. 2010. Effect of drought stress on water status, electrolyte leakage and enzymatic antioxidants of kochia (*Kochia scoparia*) under saline condition. *Pakistan Journal Botany* 42: 3517 - 3524.

McDowell, N., W. T. Pockman, C. D. Allen, D. D. Breshears, N. Cobb, T. Kolb, J. Plaut, J. Sperry, A. West, D. G. Williams, and E. A. Yezzer. 2008. Mechanisms of plant survival and mortality during drought: why do some plants survive while others succumb to drought?. *New Phytologist* 178: 719-739.

McKay, H. M. 1998. Root electrolyte leakage and root growth potential as indicators of spruce and larch establishment. *Silva Fennica* 32: 241-252.

Mead, D. J., J. T. Scott, and S. X. Chang. 2010. Using vector analysis to understand temporal changes in understorey-tree competition in agroforestry systems. *Forest Ecology and Management* 259: 1200-1211.

Mortazavi, M., C. O'Reilly, and M. Keane. 2004. Stress resistance levels change little during dormancy in ash, sessile oak and sycamore seedlings. *New Forests* 28: 89-108.

Navarro, R., M. J. Retamosa, J. López, A. del Campo, C. Ceacerosa, and L. Salmoral. 2006. Nursery practices and field performance for the endangered Mediterranean species *Abies pinsapo* Boiss. *Ecological Engineering* 27: 93-99.

Oliet, J, R. Planelles, F. Artero, and D. Jacobs. 2005. Nursery fertilization and tree shelters affect long-term field response of *Acacia salicina* Lindl. planted in Mediterranean semiarid conditions. *Forest Ecology and Management* 215(1-3):339-351.

Oliet, J. A., R. Planelles, F. Artero, R. Valverde, D. Jacobs, y M. L. Segura. 2009. Field performance of *Pinus halepensis* planted in Mediterranean arid conditions: relative influence of seedling morphology and mineral nutrition. *New Forests* 37:313-331

Oliet, J. A., J. Puértolas, R. Planelles, and D. F. Jacobs. 2013. Nutrient loading of forest tree seedlings to promote stress resistance and field performance: a Mediterranean perspective. *New Forests* 44:649-669.

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). 2011. *El estado de los bosques del mundo*. FAO. Roma, Italia. 176 p.

Ortíz S., C. A., y M. C. Gutiérrez C. 1999. Evaluación taxonómica de sistemas locales de clasificación de tierras. *Terra* 17: 277-286.

Osman, K. T. 2013. Forest Soils: Properties and Management. Springer Science & Business Media. 217 p.

Ostonen I., Ü. Püttsepp, C. Biel , O. Alberton, M. R. Bakker, K. Lõhmus, H. Majdi, D. Metcalfe, A. F. M. Olsthoorn, A. Pronk, E. Vanguelova, M. Weih, and I. Brunner. 2007. Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosystems* 141(3): 426-442.

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

Perry, J. P. 1991. The pines of Mexico and Central America. Timber Press Ed. Portland, Oregon. 231 p.

Petite, M. A., J. M. Estavillo, M. Duñabeitia, B. González M., A. Muñoz R., and M. Lacuesta. 2004. Effect of storage conditions on post planting water status and performance of *Pinus radiata* D. don stock-types. *Annals of Forest Science* 61: 695-704.

Pinto, J. R. 2011. Morphology targets: what do seedling morphological attributes tell us? *In: L. E. Riley, D. L. Haase, and J. R. Pinto (eds). National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations. Proc. RMRS-P-65. Fort Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. pp: 74-79.*

Pinto, J. R., J. D. Marshall, R. K. Dumroese, A. S. Davis, and D. R. Cobos. 2012. Photosynthetic response, carbon isotopic composition, survival, and growth of three stock types under water stress enhanced by vegetative competition. *Canadian Journal of Forest Research* 42: 333-344.

Pita, P., and J. A. Pardos. 2001. Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiology* 21:599-607.

Planelles, R. 2004. Efectos de la fertilización N-P-K en vivero sobre la calidad funcional de planta de *Ceratonia siliqua* L. PhD Dissertation, Universidad Politécnica de Madrid, Madrid.

Planelles, G. R., P. Villar S., J. Oliet P., y M. López A. 2004. Efecto de tres niveles de estrés hídrico y dos periodos de aplicación sobre algunos parámetros de calidad funcional de *Quercus ilex* L. y su desarrollo postrasplante. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 17: 81-85.

Prévost, M. 1992. Effets du scarifiage sur les propriétés du sol, la croissance des semis et la compétition: revue des connaissances actuelles et perspectives de chercheurs au Québec. *Annals of Forest Science* 49:277-296.

Price, R.A., A. Liston, and S.H. Strauss. 1998. Phylogeny and systematics of *Pinus*. In: D. M. Richardson (ed) *Ecology and Biogeography of Pinus*. Cambridge University Press. pp: 49-68.

Prieto R., J. A., P.A. Domínguez, E. H. Cornejo O., J de J Navar C., y J. Jiménez P. 2004. Efecto de la fertilización en la producción de planta de *Pinus engelmannii* Carr en vivero. *Revista Ciencia Forestal en México* 27: 79 - 94.

Ramírez C., Y, y D. A. Rodríguez T. 2010. Resistencia a bajas temperaturas en *Pinus hartwegii* sometido a diferentes tratamientos con potasio. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 16(1): 79-85.

Roberts, J. J., and J. J. Zwiazek. 1999. Periodic chilling exposure during nursery culture. *New Forests* 18: 301 - 314.

Rodríguez T., D. A. 2008. Indicadores de calidad de planta forestal. Editorial Mundiprensa. 156 p.

Rodríguez T., D. A., y M. L. Duryea. 2003. Indicadores de calidad de planta en *Pinus palustris* Mill. *Agrociencia* 37: 299-307.

Royo, A., L. Gil, and J. A. Pardos. 2001. Effect of water stress conditioning on morphology, physiology and field performance of *Pinus halepensis* Mill. seedlings. *New Forests* 21:127-140.

Rueda, S. A., J. de D. Solorio B., J. A. Prieto R., J. T. Sáenz R., G. Orozco G., A. Molina C. 2012. Calidad de planta producida en los viveros forestales de Jalisco. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 13:69-82.

Salazar, R., y C. Soihet. 2001. Manejo de semillas de 75 especies forestales de América Latina. CATIE. Turrialba, Costa Rica. 159 p.

Salifu, K. F., and V. R. Timmer. 2003. Optimizing nitrogen loading of *Picea mariana* seedlings during nursery culture. *Canadian Journal of Forest Research* 33:1287-1294.

Salifu, K. F., and D. F. Jacobs. 2006 .Characterizing fertility targets and multi-element interactions in nursery culture of *Quercus rubra* seedlings. *Annals of Forest Science* *Annals of Forest Science* 63:231-237.

Salifu, K.F., K. G. Apostol, D. F. Jacobs, and M. A. Islam. 2008. Growth, physiology, and nutrient retranslocation in nitrogen-15 fertilized *Quercus rubra* seedlings. *Annals of Forest Science* 65:101-109

Salisbury, F.B., y C.W. Ross. 1994. *Fisiología Vegetal*. Grupo Editorial Iberoamérica, México. 759 p.

Sardans, J., J. Peñuelas, and F. Roda. 2006. Plasticity of leaf morphological traits, leaf nutrient content, and water capture in the Mediterranean evergreen oak *Quercus ilex* subsp. *Ballota* in response to fertilization and changes in competitive conditions. *EcoScience* 13:258-270.

Sarjala, T. 1996. Growth, potassium and polyamine concentrations of Scots pine seedlings in relation to potassium availability under controlled growth conditions. *Journal of Plant Physiology* 147:593-598.

Schutz, C. J., and J. M. Villiers. 1987. Foliar Diagnosis and Fertiliser Prescription in Forestry. The DRIS System and its Potential. *South African Forestry Journal* 141: 6 -12.

Seiler, J. R., and J. D. Johnson. 1988. Physiological and morphological responses of three half-sib families of loblolly pine to water-stress conditioning. *Forest Science* 34: 487- 495.

South, D. B., S. W. Harrisa, J. P. Barnett, M. J. Hains, and D. H. Gjerstad. 2005. Effect of container type and seedling size on survival and early height growth of *Pinus palustris* seedlings in Alabama, U.S.A. *Forest Ecology and Management* 204: 385-398.

Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. In *Proceedings of the Sixth International Congress on Soilless Culture*. International Society for Soilless Culture, Wageningen, The Netherlands. pp: 633-649.

Sutton, R.F. 1992. White spruce (*Picea glauca* [Moench] Voss): stagnating boreal old-field plantations unresponsive to fertilization and weed control. *Forestry Chronicle* 68: 249-258.

Tan, W., and G. D. Hogan. 1997. Physiological and morphological responses to nitrogen limitation in jack pine seedlings: potential implications for drought tolerance. *New Forests* 14: 19-31.

Thomas, M. B., M. I. Spurway, and J. A. Adams. 2000. Availability of Phosphorus to Nursery Plants. *Combined Proceedings International Plant Propagators' Society* 50:49-54.

Thompson, B. E. 1985. Seedling morphological evaluation. What you can tell by looking. *In: M. L. Duryea (ed) Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests.* Oregon State University, Corvallis (Oregon). pp: 59-71.

Timmer, V. R. 1997. Exponential nutrient loading: a new fertilization technique to improve seedling performance on competitive sites. *New Forests* 13:279-299.

Timmer, V.R. and G. Armstrong. 1987. Diagnosing nutritional status of containerized tree seedlings: comparative plant analyses. *Soil Science Society of America Journal* 51:1082-1086.

Timmer, V.R., and E.L. Stone. 1978. Comparative foliar analysis of young balsam fir fertilized with nitrogen, phosphorus, potassium, and lime. *Soil Science Society of America Journal* 42:125-130.

Timmer, V.R., and Y. Teng. 1999. Foliar nutrient analysis of sugar maple decline: retrospective vector diagnosis. *In: B. Stephen, P. Long R. (eds) Sugar maple ecology and health: proceedings of an international symposium 1998 june 2- 4; Warren, PA. Gen. Tech.*

Rep. NE- 261. Radnor, PA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Northeastern Research Station. pp: 69-73.

Tinus, R. 1996 Root growth potential as an indicator of drought stress history. *Tree Physiology* 16:795-799.

Troeng L., E., and L. Ackzell. 1988. Growth regulation of Scots pine seedlings with different fertilizer compositions and regimes. *New Forests* 2:119-130.

Trubat, R. 2012. Estado nutricional de especies leñosas mediterráneas y su aplicación a la restauración forestal. Tesis doctoral. Universidad de Alicante. 289 p.

Trubat, R., J. Cortina, y A. Vilagrosa. 2004. Estado nutricional y establecimiento de especies leñosas en ambiente semiárido. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales* 17: 245-251.

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

Trubat, R., J. Cortina, and A. Vilagrosa. 2010. Nursery fertilization affects seedling traits but not field performance in *Quercus suber* L. *Journal of Arid Environments* 74:491-497.

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

Valladares, F., and E. Gianoli. 2007. How much ecology do we need to know to restore Mediterranean ecosystems? *Restoration Ecology Journal* 15:363-368.

Vallejo, V. R., y J. A. Alloza. 2004. La selección de la especie en restauración forestal. En: V. R. Vallejo, y J. A. Alloza (eds) Avances en el estudio de la Gestión del monte Mediterráneo. Fundación Centro de Estudios Ambientales del Mediterráneo. pp: 195-214.

van den Driessche, R. 1969. Influence of moisture supply, temperature, and light on frost hardiness changes in Douglas-fir seedlings. *Canadian Journal of Botany* 47: 1765-1772.

van den Driessche, R. 1985. Late-season fertilization, mineral nutrient reserves, and retranslocation in planted Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) Seedlings. *Forest Science* 31(2): 485-496.

van den Driessche, R. 1988. Nursery growth of conifer seedlings using fertilizers of different solubilities and application time, and their forest growth. *Canadian Journal of Forest Research* 2: 172-180.

van den Driessche, R. 1991. Influence of container nursery regimes on drought resistance of seedlings following planting: survival and growth. *Canadian Journal of Forest Research* 21:555-565.

van den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 740-749.

Vilagrosa A., J. Cortina, E. Rubio, R. Trubat, E. Chirino, E. Gil P., y V. R. Vallejo. 2005. El papel de la ecofisiología en la restauración forestal de ecosistemas mediterráneos. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales* 14: 446-461.

Vilagrosa A., P. Villar S., y J. Puértolas. 2006. El endurecimiento en vivero de especies forestales mediterráneas. En: J. Cortina, J. L. Peñuelas, J. Puértolas, R. Savé, A. Vilagrosa

(coords). Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos. Organismo Autónomo Parques Nacionales / Ministerio De Medio Ambiente. pp: 119-140.

Villar S., P., L. Ocaña B., J. L. Peñuelas R., I. Carrasco M., S. Domínguez L., I. Renilla E. 1997. Relaciones hídricas y potencial de formación de raíces en plántulas de *Pinus halepensis* Mill. sometidas a diferentes niveles de endurecimiento por estrés hídrico. Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales 4: 81-92.

Villar S., P. 2003. Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. En: J. M. Rey B., T. Espigares, J. M. Nicolau (eds). Restauración de Ecosistemas Mediterráneos. Universidad de Alcalá / Asociación Española de Ecología Terrestre. pp: 65-86.

Villar S., P, R. Planelles, J. Oliet, J. L. R. Peñuelas, D. F. Jacobs, and M. González. 2004a. Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedlings after drought hardening in the nursery. Tree Physiology 24: 1147-1155.

Villar S., P., R. Planelles, E. Enriquez, J. L. Peñuelas. 2004b. Nursery cultivation regimes, plant functional attributes, and field performance relationships in the Mediterranean oak *Quercus ilex* L. Forest Ecology and Management 196:257-266.

Villar S., P., J. Puértolas, B. Cuesta, J. L. Peñuelas, M. Uscola, N. Heredia G., and J. M. R. Benayas. 2012. Increase in size and nitrogen concentration enhances seedling survival in Mediterranean plantations. Insights from an ecophysiological conceptual model of plant survival. New Forests 43: 755 -770.

Villar S., P., J. L. Peñuelas R., and D. F. Jacobs. 2013. Nitrogen nutrition and drought hardening exert opposite effects on the stress tolerance of *Pinus pinea* L. seedlings. *Tree Physiology* 33: 221 -232.

Warren, C. R., J. F. Mcgrath, and M. A. Adams. 2005. Differential effects of N, P and K on photosynthesis and partitioning of N in *Pinus pinaster* needles. *Annals of Forest Science* 62:1-8.

Zhang, Z.Y., Q. L. Wang, Z. H. Li, L. S. Duan, and X. L. Tian. 2009. Effects of potassium deficiency on root growth of cotton seedlings and its physiological mechanisms. *Acta Agronomica Sinica* 35(4): 718-723.

ANEXO FOTOGRÁFICO

Etapa de producción en vivero



Plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov. material vegetativo para el endurecimiento de manejo de riego. Otoño-Invierno 2012.



Plántulas de *Pinus rudis* Endl. material vegetativo para el endurecimiento a exposición a condiciones ambientales y distintos niveles de P, K y Peters Professional®. Otoño – Invierno 2013.



Proceso de producción en invernadero de *Pinus oaxacana* Mirov.



Proceso de endurecimiento para *Pinus rudis* Endl. por exposición a condiciones ambientales y fertilización con P y K.

Etapa de plantación.



Etapa de plantación. Sitio restrictivo y favorable.