



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

CALIDAD DE SEMILLA Y RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO EN PLANTAS DE *Pinus hartwegii* Lindl. ADAPTADAS A DIFERENTES NIVELES ALTITUDINALES

JOSÉ LUIS SÁNCHEZ MENDOZA

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO

2021

La presente tesis titulada: **Calidad de semilla y respuesta al déficit hídrico en plantas de *Pinus hartwegii* Lindl. adaptadas a diferentes niveles altitudinales**, realizada por el alumno: **José Luis Sánchez Mendoza**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO



DR. MARCOS JIMÉNEZ CASA

ASESOR



DR. CARLOS RAMÍREZ HERRERA

ASESOR



DR. HÉCTOR VIVEROS VIVEROS

Montecillo, Texcoco, Estado de México, febrero 2021.

CALIDAD DE SEMILLA Y RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO EN PLANTAS DE *Pinus hartwegii* Lindl. ADAPTADAS A DIFERENTES NIVELES ALTITUDINALES

José Luis Sánchez Mendoza, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2021

RESUMEN

Pinus hartwegii Lindl. es una especie amenazada, debido al cambio climático, particularmente al incremento en temperatura y al estrés hídrico. La baja calidad de semilla producida en los últimos años en rodales de la especie y pobre regeneración natural, particularmente en límites altitudinales inferiores y superiores, amenazan la conservación de los ecosistemas de alta montaña. Se evaluó la calidad de semilla de *P. hartwegii*, el crecimiento inicial de plántulas de dos poblaciones del Edo. México y una de Veracruz. Las plántulas con diferente estado de crecimiento (con y sin estados cespitoso) fueron sometidas a déficit hídrico, al igual que las plántulas de diferente origen altitudinal (3400, 3600, 3800 y 4000 m) del Cofre de Perote, con la finalidad de estudiar sus respuestas fisiológicas y morfológicas. El experimento en invernadero incluyó dos niveles de humedad del suelo (S1 riego y S2 sequía) durante tres meses y medio (periodo de sequía) y un periodo de recuperación de un mes. En las tres poblaciones, la semilla tuvo alta capacidad germinativa, de 80 a 90% en promedio, con un valor pico de 3.2 y valor germinativo de 9.5; sin embargo, la menor capacidad germinativa se registró con la semilla procedente de la mayor altitud, con solo el 50%. El rompimiento del estado cespitoso varió según la población y altitud. El consumo de agua varió en los dos estados de crecimiento durante el periodo de sequía; siendo las plantas con estado cespitoso las de menor consumo con un 30% menor que las plantas sin estado cespitoso, y en general el Ψ_a fue de -1.1 MPa. En promedio, la biomasa aérea de las plantas en sequía con estado cespitoso fue 25% menor que las planta sin estado cespitoso. El consumo de agua varió en las plantas de diferentes altitudes durante el periodo de sequía, siendo las plantas de los límites inferior y superior las de menor consumo con un 10 % menor que las plantas de 3600 y 3800 m, y en general el Ψ_a fue de -1.0 MPa. En ambos estudios las plantas presentaron una alta resistencia al estrés hídrico y no presentaron ningún síntoma de marchitamiento.

Palabras Clave: Alta montaña, cambio climático, caracteres adaptativos, parámetros germinativos; estado cespitoso, déficit hídrico.

CALIDAD DE SEMILLA Y RESPUESTA AL DÉFICIT HÍDRICO EN PLANTAS DE *Pinus hartwegii* Lindl. ADAPTADAS A DIFERENTES NIVELES ALTITUDINALES

José Luis Sánchez Mendoza, M.C.
Colegio de Postgraduados, 2021

ABSTRACT

Pinus hartwegii Lindl. is one of the endangered species, due to climate change, particularly the increase in temperature and water stress. The low seed quality produced in recent years in stands of the species and poor natural regeneration, particularly at lower and upper altitudinal limits, threaten the conservation of high mountain ecosystems. The seed quality of *P. hartwegii*, the initial growth of seedlings from two populations in Estado de México and one in Veracruz were evaluated. Seedlings with different growth stages (with and without grass stage) were subjected to water deficit, as well as seedlings of different altitudinal origin (3400, 3600, 3800 and 4000 m) from El Cofre de Perote, in order to study their physiological and morphological responses. The greenhouse experiment included two soil moisture levels (S1 irrigation and S2 drought) for three and a half months (drought period) and a recovery period of one month. In all three populations, the seed had high germination capacity, from 80 to 90% on average, with a peak value of 3.2 and germination value of 9.5; however, the lowest germination capacity was recorded with the seed from the highest altitude, with only 50%. The breakage of the grass stage varied according to population and altitude. Water consumption varied in the two growth stages during the drought period; with plants with grass stage having the lowest consumption at 30% lower than plants without grass stage, and overall the Ψ_a was -1.1 MPa. On average, aerial biomass of drought plants with grass stage was 25% lower than plants without grass stage. Water consumption varied in plants at different altitudes during the drought period, with plants at the lower and upper limits having the lowest consumption with 10% lower than plants at 3600 and 3800 m, and overall the Ψ_a was -1.0 MPa. In both studies the plants showed high resistance to water stress and did not show any wilting symptoms.

Keywords: High mountain, climate change, adaptive characters, germination parameters; grass stage, water deficit.

AGRADECIMIENTOS

Al Colegio de Postgraduados y a CONACYT por otorgarme los recursos para realizar este proyecto. Al pueblo de México que a través de estas instituciones financio mis estudios de maestría.

En la realización de este trabajo colaboraron varias personas, por ello reconozco ante todo su sincera disposición de ayudarme. Mi más sincero agradecimiento:

Al consejo particular: Dr. Marcos Jiménez Casas, por el gran apoyo y consejo científico y académico que me brindo en todo momento, por su paciencia, por alentarme durante los momentos complicados durante los cursos y el establecimiento del experimento. Al Dr. Carlos Ramírez Herrera y Dr. Héctor Viveros Viveros por su colaboración y compartir sus consejos académicos y profesionales.

A los compañeros y amigos que me apoyaron durante el periodo de cursos, a montar el experimento, a realizar los muestreos y motivarme durante los momentos difíciles: Ing. Montserrat Carlos, Ing. Diana García, Ing. Francisco Rivera, Ing. Rigoberto Acosta, Ing. Rosalba Díaz, Ing. Xareni Ramírez, Ing. Karla Ramírez, Ing. Rausel Camas, Ing. Deysi Vázquez. M. C. Alejandra Macías, M. C. Adriana Paredes y Alejandro Islas.

A todos los compañeros, profesores y trabajadores del Colegio de Postgraduados por el intercambio de ideas y experiencias que hicieron más enriquecedora y agradable mi estancia en esta institución.

DEDICATORIA

A mis padres Rocio Mendoza y Juan Andrés Sánchez por ser calor y abrigo, en especial a mi madre por ser las columnas de mi templo, por enseñarme con su amor y su ejemplo.

⁸Oye, hijo mío, la instrucción de tu padre, Y no desprecies la dirección de tu madre;

⁹ Porque adorno de gracia serán a tu cabeza, Y collares a tu cuello.

Proverbios 1: 8-9

A mis hermanos Juan y Patricia Sánchez por aconsejarme cuando busco un buen amigo, por perdonarme cuando no sé lo que digo y por estar siempre conmigo.

Y por la suerte, y el regalo de tener a mis sobrinos a mi lado, deshojando los segundos.

Con ellos y mi credo ya no me da miedo el mundo.

Sutra 28: Haz tu trabajo

VIVE EN EL AMOR. HAZ TU TRABAJO. PON FIN A TUS PESARES. (BUDA).

El universo te creó para que seas creador. Te asignó la tarea de ser y hacer cada vez mejor. Ese es tu trabajo, y a ti te corresponde elegirlo: pintarás, levantarás casas y puentes, dirigirás legiones, tú debes elegir lo que seas tú mismo. Pero nada se logra si esa elección no se hace en un ambiente de amor, de negación del ego. Debes hacer tu trabajo en la soledad, rodeado de la belleza del silencio, sin pesares ni sufrimientos.

CONTENIDO

RESUMEN	iii
ABSTRACT	iv
LISTA DE CUADRO	ix
LISTA DE FIGURAS	xi
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPITULO I. PARÁMETROS GERMINATIVOS Y CRECIMIENTO INICIAL EN PLÁNTULAS DE TRES POBLACIONES DE <i>Pinus hartwegii</i> Lindl.	3
1.1. RESUMEN	3
1.2. INTRODUCCIÓN	4
1.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
Germinación	7
Evaluación del crecimiento y desarrollo en plantas	7
Análisis estadístico	8
1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	10
Variación entre poblaciones de los parámetros germinativos	10
Variación altitudinal de los parámetros germinativos	12
Características morfológicas y crecimiento de plántulas	13
1.5. CONCLUSIONES	20
CAPITULO II. EFECTO DE LA SEQUÍA EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. CON ESTADO Y SIN ESTADO CESPITOSO.....	21
2.1. RESUMEN	21
2.2. INTRODUCCIÓN	22
2.3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
Recolecta de Conos	24
Localización del experimento	24
Manejo de planta	25
Establecimiento del experimento	25
2.4. VARIABLES EVALUADAS	27
Consumo de agua	27

Potencial hídrico	27
Crecimiento.....	28
Diseño experimental	28
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
Consumo de agua	30
Potencial hídrico (Ψ_a).....	32
Crecimiento de plantas	34
Acumulación de biomasa.....	37
Acumulación de biomasa después de riegos de recuperación.....	39
2.6. CONCLUSIONES	41
CAPITULO III. EFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO EN LA FISIOLOGÍA Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE <i>Pinus hartwegii</i> Lindl. DE DIFERENTE ORIGEN ALTITUDINAL	42
3.1. RESUMEN.....	42
3.2. Introducción	43
3.3. Materiales y métodos.....	45
Localización del experimento	45
Manejo de Planta.....	45
Establecimiento del experimento	46
3.4. Variables evaluadas	48
Consumo de agua	48
Potencial hídrico	48
Crecimiento.....	49
Diseño experimental	49
3.5. Resultados y Discusión.....	50
Consumo de agua y potencial hídrico (Ψ_a)	50
Crecimiento en altura, diámetro y número de raíces nuevas	54
3.6. Conclusiones	57
CONCLUSIÓN GENERAL	58
LITERATURA CITADA.....	60

LISTA DE CUADRO

Cuadro 1.1	Localización geográfica de las poblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> consideradas en el estudio.....	6
Cuadro 1.2.	Valor de P del ANOVA estimados entre poblaciones y sub poblaciones (altitudes) para los parámetros germinativos	11
Cuadro 1.3.	Comparación de medias (\pm error estándar) de la capacidad germinativa, valor pico y valor germinativo de las poblaciones y sub poblaciones (altitudes) de <i>Pinus hartwegii</i>	11
Cuadro 1.4.	Valor de P del ANOVA estimados entre poblaciones y sub poblaciones (altitudes) para las características morfológicas y crecimiento de plántulas de <i>Pinus hartwegii</i> del Edo. de México y Veracruz.	14
Cuadro 1.1	Localización geográfica de las poblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> consideradas en el estudio.....	6
Cuadro 1.2.	Valor de P del ANOVA estimados entre poblaciones y sub poblaciones (altitudes) para los parámetros germinativos	11
Cuadro 1.3.	Comparación de medias (\pm error estándar) de la capacidad germinativa, valor pico y valor germinativo de las poblaciones y sub poblaciones (altitudes) de <i>Pinus hartwegii</i>	11
Cuadro 1.4.	Valor de P del ANOVA estimados entre poblaciones y sub poblaciones (altitudes) para las características morfológicas y crecimiento de plántulas de <i>Pinus hartwegii</i> del Edo. de México y Veracruz.	14
Cuadro 1.5.	Valores de frecuencia de hojas cotidlonares de las subpoblaciones de <i>Pinus hartwegii</i> . del Monte Tláloc y el Nevado de Toluca en el Edo. de México y Cofre de Perote, Ver.	14

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1.** Curva de germinación acumulada de semillas de *Pinus hartwegii*: a) del Monte Tláloc (3600 m [MT36] y 3700 m [MT37]) y Nevado de Toluca (3900 m [NT39], 4000 m [NT40] y 4100 m [NT41]) en el Edo. de Méx. b) Cofre de Perote, Ver. (3400 m [CP34], 3600 m [CP36], 3800 m [CP38] y 4000 m [CP40]). 12
- Figura 1.2.** Porcentaje de plántulas de *Pinus hartwegii* con rompimiento del estado cespitoso a los cinco meses de edad..... 16
- Figura 1.1.** Curva de germinación acumulada de semillas de *Pinus hartwegii*: a) del Monte Tláloc (3600 m [MT36] y 3700 m [MT37]) y Nevado de Toluca (3900 m [NT39], 4000 m [NT40] y 4100 m [NT41]) en el Edo. de Méx. b) Cofre de Perote, Ver. (3400 m [CP34], 3600 m [CP36], 3800 m [CP38] y 4000 m [CP40]). 12
- Figura 1.2.** Porcentaje de plántulas de *Pinus hartwegii* con rompimiento del estado cespitoso a los cinco meses de edad..... 16
- Figura 1.3.** Porcentaje de plántulas de *P. hartwegii* que rompieron el estado cespitoso, después de nueve meses de edad, por población y altitudes anidadas en población. 16
- Figura 1.4.** Diferencia entre la formación de la yema en plantas; a) con estado cespitoso y b) sin estado cespitoso, de *Pinus hartwegii*. 19

INTRODUCCIÓN GENERAL

Pinus hartwegii Lindl. se encuentra en el límite de la vegetación arbórea, a una altura que va de los 2,800 a 4,200 m (Campos, 1993), también es una de las principales especies de árboles que junto con los pastizales forma bosques monoespecíficos en la alta montaña. Por crecer en los límites arbóreos es tolerante a las bajas temperaturas, contribuyen a la recarga de los mantos freáticos y amortiguan los efectos de contaminación ambiental (Viveros-Viveros *et al.*, 2009). Las temperaturas extremas que se presentan en las altas montañas tienen un rol importante como los principales reguladores de los procesos fisiológicos y ecológicos de los árboles en altas altitudes, lo cual ha provocado que estos ecosistemas sean sensible al cambio climático, ocasionando condiciones estresantes para la vegetación en estos ecotonos (Holtmeier & Broll, 2005; Körner, 1998).

Las temperaturas extremas han provocado baja producción y viabilidad de semilla, baja germinación, y baja supervivencia de plántulas (Coop & Givnish, 2008). La adaptación de *P. hartwegii* a las bajas temperaturas la ha vuelto vulnerable al cambio climático (Ricker, Gutierrez- García, & Daly 2007).

El aislamiento y la fragmentación de las poblaciones de esta especie ha ocasionado una baja capacidad reproductiva, con semilla de baja calidad (López, 1993), lo cual reduce las posibilidades de regenerar sus poblaciones de manera natural. En las primeras etapas de crecimiento de esta especie se presenta un crecimiento pausado del epicotilo, en el cual solo desarrolla abundantes hojas primarias y secundarias (estado cespitoso), este estado puede tener una duración de dos a seis años (González-Rosales & Rodríguez-Trejo, 2004; Koskela, 2000). El estado cespitoso de estas especies puede llegar a ser una desventaja ecológica para las plántulas en los bosque naturales, ya que quedan expuestas a la competencia ecológica con hierbas anuales y por otras especies de rápido crecimiento suprimiendo su crecimiento por largo tiempo (Brockway, Outcalt & Boyer, 2006).

El aumento de las temperaturas y las bajas precipitaciones son responsables de la declinación de los bosques (Choat, Jansen, & Brodribb, 2012). La sequía es un estrés

ambiental que afecta negativamente el crecimiento de las plantas (Kramer & Boyer, 1995) e influye en gran manera en los patrones de su distribución (Engelbrecht *et al.*, 2007; Kursar *et al.*, 2009). Estos eventos podrían disminuir el hábitat natural de *P. hartwegii* hasta en un 42 % (Arriaga & Gómez, 2004). En México, se han reportado cambios en la distribución altitudinal de *P. hartwegii* en el Parque Nacional Izta-Popo, Nevado de Toluca y Cofre de Perote (Iglesias & Tivo, 2006); con una reducción en la densidad de los individuos en los límites inferior y superior (Harsch & Bader, 2011).

Actualmente, no existe una estrategia que permita conservar las poblaciones naturales de *P. hartwegii*. La variación genética entre poblaciones localizadas en diferentes gradientes altitudinales es importante para analizar el potencial de la especie para hacer frente a los efectos del cambio climático, particularmente al incremento en temperatura y al estrés hídrico (Sáez-Romero, Guzmán-Reyna, & Rehfeldt, 2006; Rehfeldt & Jaquish, 2010).

CAPITULO I. PARÁMETROS GERMINATIVOS Y CRECIMIENTO INICIAL EN PLÁNTULAS DE TRES POBLACIONES DE *Pinus hartwegii* Lindl.

1.1. RESUMEN

Pinus hartwegii Lindl. es una de las especies destinadas a la extinción, debido al cambio climático. La baja cantidad y calidad de semilla producida en los últimos años en rodales de la especie y pobre regeneración natural, particularmente en límites altitudinales superiores, amenazan la conservación de los ecosistemas de alta montaña. El objetivo del presente trabajo fue 1) analizar la calidad de semilla de *P. hartwegii* procedentes de dos poblaciones del Estado de México y una de Veracruz con sus diferentes orígenes altitudinales, y 2) evaluar la variación en el crecimiento inicial de plántulas. En las tres poblaciones, la semilla tuvo alta capacidad germinativa, de 80 a 90% en promedio, con un valor pico de 3.2 y valor germinativo de 9.5; sin embargo, la menor capacidad germinativa se registró con la semilla procedente de la mayor altitud, con solo el 50%. El rompimiento del estado cespitoso varió según la población y altitud. El 75% de las plántulas de Veracruz, a los cinco meses de edad, rompieron el estado cespitoso; en contraste con el de las otras dos poblaciones donde solo menos del 35% se presentó. Con respecto a la altitud, la mayor altitud favoreció la aceleración de la salida del estado cespitoso, en caso de la población de Veracruz y la del Tláloc; mientras que en la otra, Nevado de Toluca, se prolongó. Los resultados son discutidos, pero indican ciertas respuestas de la especie, probablemente a cambios en el clima de cada población estudiada.

Palabras Clave: Alta montaña, cambio climático, caracteres adaptativos, calidad de semillas; estado cespitoso.

1.2. INTRODUCCIÓN

Pinus hartwegii Lindl. se localiza en el límite altitudinal de la vegetación arbórea, entre los 2,800 y 4,200 m (Matos, 1995), donde ha desarrollado estrategias adaptativas que le permiten coexistir con los eventos naturales de fuego (Rodríguez-Trejo, 2001) y heladas (Viveros-Viveros, Sáenz-Romero, López-Upton & Vargas-Hernández, 2007a, *et al.*, 2009). *P. hartwegii* forma bancos de semillas transitorios y probablemente persistentes (Tejeda-Landero, Sánchez-Velásquez, Viveros-Viveros, Aparicio-Rentería, & Flores-Peredo, 2019). Sin embargo, en las últimas décadas, diversas actividades antropogénicas han reducido la densidad de sus poblaciones, afectado negativamente el banco de semillas y modificado el régimen de fuego en el ecosistema de la especie (Iglesias & Tivo, 2006); estos últimos factores, son requeridos para su regeneración natural en los diferentes niveles de distribución altitudinal (Espinoza-Martínez, Rodríguez-Trejo & Zamudio-Sánchez, 2008).

La variación genética altitudinal en el crecimiento inicial, daño por heladas, fenología vegetativa y estado cespitoso de plántulas de *P. hartwegii* se estudió por Viveros-Viveros *et al.* (2009), donde las plantas demostraron una asociación negativa con la altitud; las plantas de las poblaciones de mayor altitud crecieron menos que las de menor altitud, pero poco se conoce sobre la variación de la calidad de semilla producida por árboles establecidos en diferentes altitudes de poblaciones fragmentadas y reducidas. Se espera que el cambio climático genere condiciones que agudicen la vulnerabilidad de la especie (Ricker, Gutiérrez-García & Daly 2007); particularmente en las poblaciones localizadas en el límite inferior de su distribución altitudinal, donde los árboles productores de semilla son eliminados con mayor frecuencia (Iglesias & Tivo, 2006).

La disminución de árboles maduros genera problemas de endogamia, lo que resulta en producción de semillas de baja calidad, por su pobre viabilidad, que dan lugar a plántulas deficientes para su regeneración natural y artificial (Bonner, Vozzo, Elam & Land, 1994). La calidad de semilla se define tanto por la capacidad de germinación (porcentaje de semillas germinadas en un lapso de tiempo) como el vigor de la semilla

(la velocidad de germinación) (Perry, 1984); entre más rápida y homogénea sea la germinación, el vigor de la semilla y la uniformidad de la producción de la planta serán mayores (Hernández-Anguiano, López-Upton, Ramírez-Herrera & Romero-Manzanares, 2018).

El estado cespitoso de las plántulas de *P. hartwegii*, afecta el establecimiento y crecimiento inicial de las plántulas, por aspectos de competencia, en condiciones de campo; aunque está considerado como una adaptación al fuego (Koskela, Kuusipalo, & Sirikul, 1995). La duración de las plántulas en este estado es variable, puede ser de 6 a 12 años (Cooling, 1968). En un estudio sobre variación genética de *P. hartwegii*, se encontró que plantas procedentes de mayor altitud se mantienen en estado cespitoso por más tiempo que las de menor altitud (Viveros-Viveros *et al.*, 2009). Ante la competencia por especies invasivas, favorecidas por el cambio climático, el estado cespitoso se podría prolongar en las plántulas y afectar su crecimiento inicial tal como en otras especies que presentan este tipo de crecimiento (Cooling, 1998).

El objetivo del presente trabajo fue analizar la calidad de semilla y el crecimiento inicial, enfatizando en el estado cespitoso, de plántulas de *P. hartwegii* procedentes de diferentes altitudes de tres poblaciones, del Estado de México y Veracruz. La hipótesis fue que la semilla de *P. hartwegii* de árboles procedentes de sitios de menor altitud, independientemente de la población, tendrán una pobre capacidad germinativa que afectará negativamente el crecimiento inicial de las plántulas, en relación a las de altitudes superiores.

1.3. MATERIALES Y MÉTODOS

La recolecta de conos se realizó en dos poblaciones naturales del Estado de México y una de Veracruz, México (Cuadro 1.1), se seleccionaron de 5-15 árboles por sitio altitudinal, los conos recolectados fueron llevados al laboratorio para extraer y procesar la semilla, eliminando la semilla vana y almacenando solo la semilla llena. El experimento se llevó a cabo en un invernadero del huerto semillero de *Pinus leiophylla* Schl. & Cham., ubicado en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. El experimento se estableció durante la primera semana de febrero del 2019 a finales Septiembre del 2019.

Cuadro 1.1 Localización geográfica de las poblaciones de *Pinus hartwegii* consideradas en el estudio.

Población	Clave Sitio	Altitud (m)	Latitud	Longitud
Monte Tlálloc, Edo. Méx	MT36	3600	19°24' 04.48"	98°44' 11.55"
	MT37	3700	19°24' 52.11"	98°44' 29.66"
Nevado de Toluca, Edo. Méx.	NT39	3900	19°07' 47.79"	99°46' 50.31"
	NT40	4000	19°07' 25.66"	99°46' 43.77"
	NT41	4100	19°07' 18.93"	99°45' 11.85"
Cofre de Perote, Veracruz	CP34	3400	19°31' 13.33"	97°09' 49.65"
	CP36	3600	19°31' 13.33"	97°09' 51.31"
	CP38	3800	19°30' 19.42"	97°09' 31.37"
	CP40	4000	19°29' 44.47"	97°09' 09.27"

Germinación

La semilla se germinó en tubete forestal de 310 ml (una semilla por tubete), previamente llenados con una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita (3:1:1, respectivamente). Después, los tubetes fueron colocados en charolas de 54 cavidades en condiciones de invernadero con una temperatura promedio de $24^{\circ} \pm 12$ °C. La humedad del sustrato se mantuvo constante. Diariamente se contaron las semillas germinadas durante 30 días. Para cada población se ocuparon 400 semillas de *P. hartwegii*, total 1200 semillas, las cuales se establecieron en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones de 100 semillas.

Al final del experimento (30 días después de la siembra), se evaluó el porcentaje de germinación (capacidad germinativa= (semillas germinadas/semillas totales) * 100); la energía germinativa a través de la velocidad de germinación (GERM50), se determinó con el número de días que se requirió para obtener el 50% de la capacidad germinativa y del valor máximo (VP), el cual se determinó dividiendo la germinación acumulada entre el número de día de la prueba en que se alcanzó el valor máximo de germinación. Por último, se determinó el valor germinativo como el valor pico multiplicado por la germinación promedio (Kolotelo *et al.*, 2001). Las plántulas producidas, durante los primeros meses, fueron mantenidas en condiciones de invernadero. El riego se proporcionó cada cuatro días o cuando fue necesario.

Evaluación del crecimiento y desarrollo en plantas

Para evaluar el crecimiento y desarrollo de las plántulas, se utilizó un diseño experimental completamente al azar, evaluándose 540 plantas distribuidas en las tres poblaciones. Durante el crecimiento y desarrollo inicial de las plántulas se registró el número de hojas cotiledonares (NHC); el rompimiento del estado cespitoso, es decir la emisión y alargamiento de hipocótilo, para evaluarlo se midió la altura a los cinco meses de edad y, si la planta presentaba una altura ≥ 4 cm se consideró como que ya había roto el estado cespitoso; diámetro a la base de plántula (DB), diámetro de la

yema, tomado con un vernier digital ($\pm 0.01\text{mm}$); y altura total, tomada con regla graduada ($\pm 0.1\text{ cm}$).

La siembra se realizó en la primera semana de febrero del 2019 el cual tuvo un periodo de 30 días, mientras que la evaluación del crecimiento de estas plantas se realizó a finales del mes de septiembre del 2019

Análisis estadístico

Los datos de capacidad germinativa se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada de los datos ($\theta = \arcseno \sqrt{n}$, donde θ es el dato transformado y n es la capacidad germinativa sin transformar) para así mejorar su distribución normal (Sokal & Rohlf, 1981). Para determinar la existencia de diferencias significativas entre poblaciones en los parámetros germinativos evaluados se realizó un análisis de varianza mediante el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS® (SAS Institute, 2003), el modelo empleado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + R_i + P_j + A_{k(i)} + E_{ijk}$$

Donde Y_{ij} es el valor de la característica de la k -ésima altitud anidado en la j -ésima población en el i -ésima repetición, μ es el efecto de la media general, R_i es el efecto aleatorio de la i -ésima repetición, P_j es el efecto del j -ésimo población, A_k es el efecto de la K -ésima altitud dentro de la j -ésima población y e_{ijk} es el error experimental.

Para evaluar la existencia de diferencias significativas entre poblaciones en el crecimiento y desarrollo temprano de plántulas se utilizó el procedimiento MIXED del paquete estadístico SAS® versión 9.4 (SAS Institute, 2003). El modelo para probar las diferencias entre procedencias fue:

$$Y_{ijk} = \mu + P_i + A_{j(i)} + E_{ijk}$$

Dónde: Y_i es el valor de la característica de la k -ésima altitud anidado en la i -ésima población, μ es el efecto de la media general, P_i es el efecto del i -ésima población, A_j es el efecto fijo de la j -ésima altitud dentro de la i -ésima población, y e_{ijk} es el error

experimental. El número de cotiledones y de plantas sin estado cespitoso presentaron distribución normal de acuerdo con la prueba de normalidad realizada con el procedimiento UNIVARIATE del SAS® versión 9.4 (SAS Institute, 2003).

Posteriormente, cuando existieron diferencias significativas entre poblaciones, las medias se compararon por diferencias mínima significativa (DMS, $P=0.05$).

1.4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Variación entre poblaciones de los parámetros germinativos

El análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre las tres poblaciones para los parámetros germinativos evaluados, excepto el valor pico (Cuadro 1.2). El porcentaje promedio de germinación de las tres poblaciones fue de 90 %; sus valores extremos fueron de aproximadamente 80 % (semilla procedente del Nevado de Toluca) y 92 % (semilla del Cofre de Perote) (Cuadro 1.3). Estos resultados son similares a los que reporta Ortega-Mata, Mendizábal-Hernández, Alba-Landa & Aparicio-Rentería (2003), con valores por arriba del 90 % de germinación de poblaciones de la Ciudad de México. Altos porcentajes de germinación indican alta calidad de semilla (Czabator, 1962). Una tendencia similar se registró para el valor pico y germinativo, donde la semilla de la población del C. de Perote tuvo los mayores valores; en contraste con los más bajos del Nevado de Toluca (Cuadro 1.3). Resultados similares en estos parámetros germinativos fueron reportados en *Pinus leiophylla* (Gómez, Ramírez, Jasso & López, 2010), donde los autores argumentan que los valores altos en estos parámetros indican alta calidad de la semilla, ya que tanto el valor pico como el germinativo son indicadores del vigor de la semilla (Kolotelo *et al.*, 2001).

Para las tres poblaciones incluidas en el presente estudio, los parámetros evaluados presentaron valores altos, por lo que se descarta algún problema de endogamia a causa de poblaciones de *Pinus hartwegii* reducidas. Sin embargo, es necesario llevar a cabo un estudio a mayor detalle en aspectos de censo forestal, en las tres poblaciones, para poder analizar el estatus de los índices reproductivos y su relación con los procesos de regeneración natural.

Cuadro 1.2. Valor de P del ANOVA estimados entre poblaciones y sub poblaciones (altitudes) para los parámetros germinativos

Fuente de variación	Capacidad germinativa %	Valor pico	Valor germinativo
Población	0.18	0.0001	0.62
Altitudes (población)	0.0001	0.0004	0.0001

Cuadro 1.3. Comparación de medias (\pm error estándar) de la capacidad germinativa, valor pico y valor germinativo de las poblaciones y sub poblaciones (altitudes) de *Pinus hartwegii*.

Altitud (m)	Capacidad germinativa %	Valor pico	Valor germinativo
CP 3400	95.45 \pm 2.82 b	3.08 \pm 0.11 c	10.79 \pm 0.14 e
CP 3600	91.81 \pm 2.12 d	3.46 \pm 0.28 b	12.02 \pm 0.70 d
CP 3800	94.54 \pm 2.82 c	3.12 \pm 0.17 c	10.97 \pm 0.68 e
CP 4000	87.27 \pm 1.60 f	3.90 \pm 0.15 a	12.46 \pm 0.70 c
Media CP	92.27\pm3.67 a	3.52\pm0.38 a	11.56\pm0.79 a
MT 3600	84.54 \pm 2.82 f	2.55 \pm 0.65 d	9.11 \pm 0.07 e
MT 3700	98.18 \pm 2.12 a	3.71 \pm 0.22 b	13.58 \pm 0.70 b
Media MT	91.36\pm9.64 a	3.13\pm0.77 b	11.34\pm2.35 a
NT 3900	90.90 \pm 1.97 e	3.55 \pm 0.28 b	12.17 \pm 0.41 c
NT 4000	95.45 \pm 1.73 b	4.08 \pm 0.11 a	14.21 \pm 0.70 a
NT 4100	50.90 \pm 2.75 f	1.65 \pm 0.21 e	3.31 \pm 0.07 f
Media	79.08\pm24.51 a	3.11\pm1.15 b	9.89\pm5.04 a

Monte Tlálloc (MT), Nevado de Toluca (NT) y Cofre de Perote (CP).

La curva de germinación de los lotes de semilla de *Pinus hartwegii* de las tres poblaciones presentaron una tendencia similar, con valores altos de germinación (Figura 1.1, a y b); Sin embargo, las semillas de la población Cofre de Perote germinaron con mayor velocidad, seguida de las del Nevado de Toluca; mientras que

la sub población del Monte Tlálloc proveniente de una altitud de 3700 m fue la más lenta en germinar (Cuadro 1.3). Porcentajes (80-95 %) de germinación similares se reportaron en semillas de *Pinus hartwegii* recolectadas en el Cofre de Perote con diferente origen altitudinal (Tejeda-Landero, Sánchez-Velásquez, Viveros-Viveros, Aparicio-Rentería & Flores-Peredo, 2019).

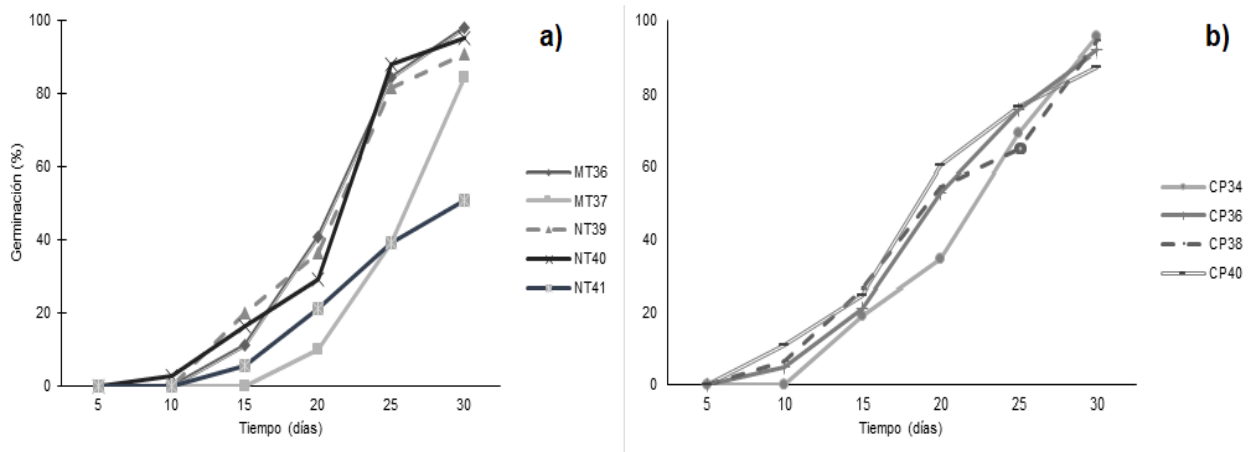


Figura 1.1. Curva de germinación acumulada de semillas de *Pinus hartwegii*: a) del Monte Tlálloc (3600 m [MT36] y 3700 m [MT37]) y Nevado de Toluca (3900 m [NT39], 4000 m [NT40] y 4100 m [NT41]) en el Edo. de Méx. b) Cofre de Perote, Ver. (3400 m [CP34], 3600 m [CP36], 3800 m [CP38] y 4000 m [CP40]).

Variación altitudinal de los parámetros germinativos

A nivel de subpoblación (altitud) anidada en población también se encontraron diferencias significativas en todos los parámetros germinativos evaluados (Cuadro 1.2). Aunque con diferencias, todos los valores de los parámetros estudiados fueron altos e indican una buena calidad de semilla producida a diferentes altitudes; excepto para la de mayor altitud del Nevado de Toluca. Las semillas de los árboles del Nevado de Toluca (NT) localizados a mayor altitud (4100 m) tuvieron valores menores y muy contrastantes en capacidad germinativa, valor pico y valor germinativo de 47, 47 y 70 %, respectivamente; con respecto a los mejores valores registrados en otras altitudes (Cuadro 1.3). Resultados similares han sido publicados en otros estudios con el mismo *P. hartwegii*, pero en poblaciones del Ajusco (CDMX) con una capacidad germinativa de 98% (Ortega-Mata *et al.*, 2003). Aunque la variación en la capacidad germinativa

entre diferentes altitudes, particularmente en nuestro estudio con la de mayor altitud, puede ser causa de las diferencias climatológicas y geográficas en las que se desarrolla esta conífera; la reducción y fragmentación de estos rodales naturales en su límite altitudinal también debe considerarse, ya que afecta de gran manera la calidad de semilla (Harsch & Bader, 2011). El deterioro y fragmentación de las poblaciones tiene mayor riesgo en los límites altitudinales superiores con un impacto negativo en los índices reproductivos de la especie (Bonner *et al.*, 1994; Edwards & El-Kassaby, 1995).

Características morfológicas y crecimiento de plántulas

Se encontraron diferencias significativas entre poblaciones y altitudes dentro de poblaciones para las características morfológicas y crecimiento de *P. hartwegii* (Cuadro 1.4). El número de hojas cotiledonares presentó poca variación entre poblaciones, con valores promedio entre los cinco y seis cotiledones por planta. Las plántulas procedentes de semillas del M. Tláloc y C. de Perote presentaron el mayor porcentaje de plántula con cinco hojas cotiledonares; mientras que las del N. de Toluca presentó mayor frecuencia de plántulas con 6 hojas cotiledonares (Cuadro 1.5). Plántulas con tres y ocho hojas cotiledonares fueron mínimas (2.5 y 0.8 % respectivamente). Los cotiledones son formados y definidos durante el desarrollo del embrión y son los primeros órganos fotosintetizadores de la planta; por lo que el crecimiento inicial tiene relación con los cotiledones presentes (Daniel, Helms & Baker, 1982). Dentro de las especies de coníferas en las primeras etapas de desarrollo hay una gran variación entre estos (Niembro & Fierros, 1990).

Cuadro 1.4. Valor de P del ANOVA estimados entre poblaciones y sub poblaciones (altitudes) para las características morfológicas y crecimiento de plántulas de *Pinus hartwegii* del Edo. de México y Veracruz.

Fuente de Variación	Características morfológicas				
	NHC	Diámetro	Altura	D. de Yema	REC
Población	0.06	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
Altitud (población)	0.05	0.0001	0.0001	0.0117	0.0001

NHC= número de hojas cotiledonares, D. de Yema = diámetro de la yema, REC= rompimiento del estado cespitoso.

Cuadro 1.5. Valores de frecuencia de hojas cotiledonares de las subpoblaciones de *Pinus hartwegii*. del Monte Tláloc y el Nevado de Toluca en el Edo. de México y Cofre de Perote, Ver.

Subpoblación	Número de hojas cotiledonares (%)					
	3	4	5	6	7	8
CP 3400	1.7	38.3	40	15	5	0
CP 3600	6.7	25	41.7	20	6.7	0
CP 3800	1.7	15	45	31.7	5	1.7
CP 4000	0	30	40	23.3	5	1.7
MT 3600	0	11.7	51.7	35	1.7	0
MT 3700	1.7	16.7	58.3	23.3	0	0
NT 3900	0	11.7	21.7	46.7	15	5
NT 4000	0	8.3	30	38.3	18.3	5
NT 4100	0	3.6	37.5	46.4	12.5	0
Media general	1.3	17.8	40.6	31.1	8.6	1.5

El porcentaje del rompimiento del estado cespitoso varió de manera significativa entre poblaciones y altitudes (Cuadro 1.6). En general, las plántulas iniciaron el rompimiento del estado cespitoso a los cinco meses de edad. Las del Cofre de Perote presentaron

el mayor porcentaje de rompimiento del estado cespitoso; mientras que las del Monte Tláloc fueron las de menor porcentaje (Figura 1.2 y Cuadro 1.6).

Cuadro 1.6. Medias (\pm error estándar) de características morfológicas y crecimiento de plántulas de *Pinus hartwegii*.

Poblaciones	Características morfológicas				
	AT (cm)	DB (mm)	DY (mm)	NHC	REC (%)
CP 3400	9.21 \pm 0.40 a	6.76 \pm 0.20 de	4.42 \pm 0.17 a	4.83 \pm 0.11 c	51.00 \pm 2.50 c
CP 3600	8.81 \pm 0.26 a	6.48 \pm 0.13 e	4.18 \pm 0.06 b	4.96 \pm 0.14 c	63.00 \pm 1.06 b
CP 3800	9.82 \pm 0.32 a	7.07 \pm 0.15 d	4.30 \pm 0.09 ab	5.29 \pm 0.21 ab	84.00 \pm 1.41 a
CP 4000	8.76 \pm 0.27 b	7.17 \pm 0.22 d	4.37 \pm 0.14 a	5.09 \pm 0.08 bc	81.00 \pm 1.42 a
Media CP	9.15\pm0.17 a	6.87\pm0.10 c	4.30\pm0.06 a	5.03\pm0.07 b	69.75\pm7.78a
MT 3600	5.71 \pm 0.50 d	8.71 \pm 0.14 a	3.90 \pm 0.14 c	5.07 \pm 0.03 bc	19.00 \pm 0.50 ef
MT 3700	6.84 \pm 0.31 c	9.01 \pm 0.12 a	3.95 \pm 0.15 c	5.27 \pm 0.06 ab	24.50 \pm 1.50 e
Media MT	6.32\pm0.33 b	8.86\pm0.10 a	3.97\pm0.10 b	5.19\pm0.04 b	22.10\pm2.75 c
NT 3900	7.27 \pm 0.29 bc	8.06 \pm 0.19 b	3.93 \pm 0.06 c	5.75 \pm 0.31 a	45.50 \pm 1.63 c
NT 4000	6.66 \pm 0.28 cd	8.52 \pm 0.09 b	4.12 \pm 0.17 bc	5.81 \pm 0.26 a	39.50 \pm 1.22 d
NT 4100	5.48 \pm 0.24 d	7.95 \pm 0.21 bc	3.81 \pm 0.09 c	5.55 \pm 0.05 b	17.50 \pm 0.81 f
Media NT	6.65\pm0.24 b	8.18\pm0.11 b	4.28\pm0.07 b	5.75\pm0.13 a	34.20\pm8.51 b

AT= altura total, DB= diámetro en la base, DY= diámetro de la yema, NHC= número de hojas cotiledonares, REC= rompimiento del estado cespitoso.

Las plantas del Cofre de Perote y Monte Tláloc presentaron un patrón de rompimiento del estado cespitoso similar, el cual consistió en que a mayor altitud mayor número de plantas rompieron el estado cespitoso; mientras que las plántulas provenientes de menor altitud presentaron menor porcentaje de rompimiento (Figura 1.3). En contraste con las del Nevado de Toluca, las cuales presentaron un patrón inverso, en el que las plántulas de menor altitud presentaron mayor rompimiento del estado cespitoso y las de mayor altitud menor porcentaje (Cuadro 1.6). Después de ocho meses de edad, el 90 % de todas las plántulas rompieron el estado cespitoso.

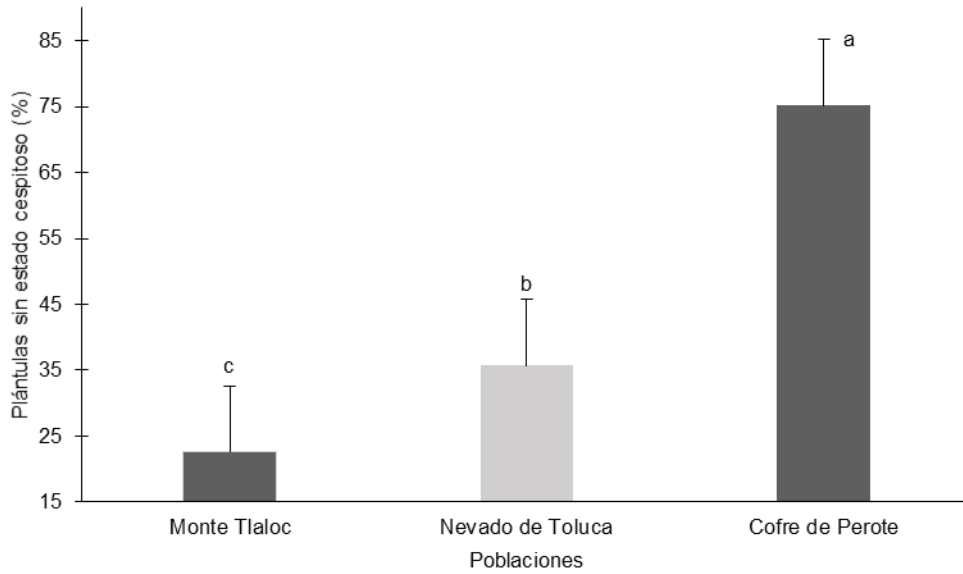


Figura 1.2. Porcentaje de plántulas de *Pinus hartwegii* con rompimiento del estado cespitoso a los cinco meses de edad.

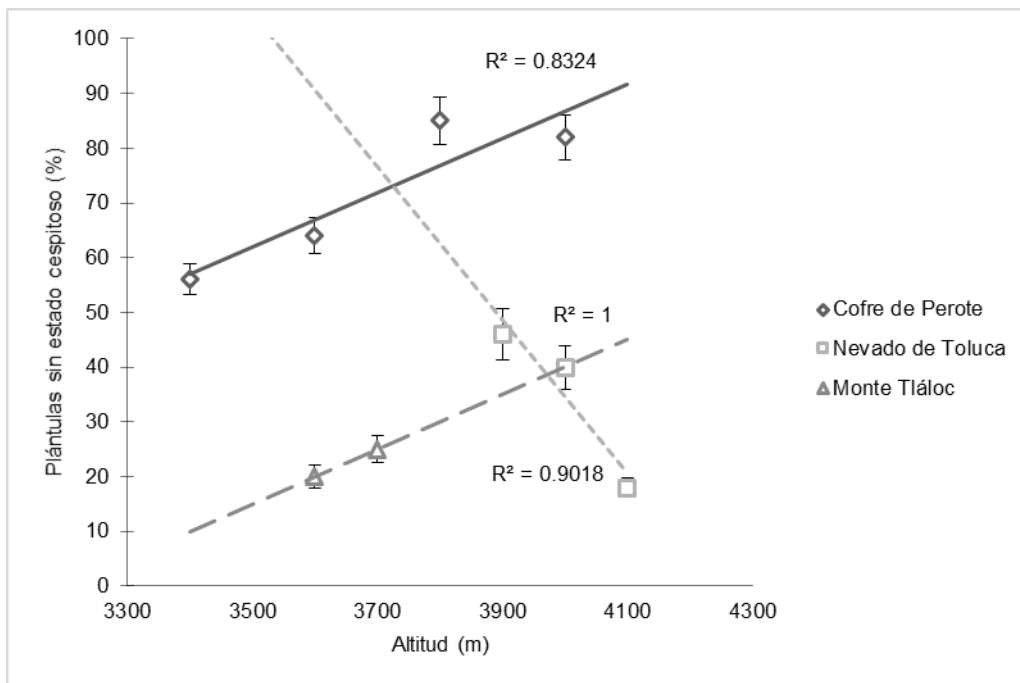


Figura 1.3. Porcentaje de plántulas de *P. hartwegii* que rompieron el estado cespitoso, después de nueve meses de edad, por población y altitudes anidadas en población.

El estado cespitoso, que se puede prolongar hasta por siete años, es controlado genéticamente y considerado como una estrategia adaptativa para sobrevivir ante incendios y condiciones de sequía (González-Rosales & Rodríguez-Trejo, 2004; Koskela, Kuusipalo, & Sirikul, 1995); aunque esta condición no es deseable durante su producción en vivero y establecimiento de plantaciones. Los patrones de variación del estado cespitoso observados en nuestro estudio, entre poblaciones y altitudes, dejan entrever la existencia de diferentes niveles de control genético en cada población, probablemente generado por las diferentes condiciones (temperatura, humedad, incidencia de incendios) imperantes en cada altitud (Bader, Rietkerk & Bregt, 2007; Harsch & Bader, 2011). Es necesario realizar mayores estudios, al respecto, para confirmar esta posibilidad. Ventajas y desventajas de la aceleración en el rompimiento del estado cespitoso deben ser evaluadas con estudios en condiciones de campo, para analizar la vulnerabilidad de esta condición a los cambios de temperatura, sequía e incendios (Holtmeier & Broll, 2005; Körner, 1998); la respuesta ante estas condiciones en el crecimiento y desarrollo estará en función de la especie (Jobbágy & Jackson, 2000).

Por tener un crecimiento inicial pausado del epicotilo (estado cespitoso) al igual que *Pinus montezumae* Lamb. el cual puede presentarse por un periodo de dos a seis años (González-Rosales & Rodríguez-Trejo, 2004; Koskela, 2000), esto puede llegar a ser un problema para las plántulas de *P. hartwegii* en los bosque naturales quedando expuestas a la competencia ecológica por hierbas anuales o pastos suprimiendo su crecimiento por largo tiempo (Brockway, Outcalt & Boyer, 2006). Algunos autores atribuyen que la suspensión temporal del crecimiento del epicotilo en especies de coníferas puede ser una adaptación que permite la resistencia a factores de estrés (Viveros-Viveros & Vargas-Hernández, 2007).

Al final del estudio, el crecimiento y desarrollo de las plántulas de *P. hartwegii*, mostraron diferencias estadísticamente significativas. Con relación a las plantas del Monte Tláloc (que resultaron las más pequeñas), las plantas del Cofre de Perote fueron 25% más altas, con un desarrollo y crecimiento de yema apical superior al 85%, pero con diámetro menor al 20% con respecto a las del Edo. de México (Cuadro 1.6).

Benavides-Meza *et al.* (2011), también señala la misma tendencia en el crecimiento de diámetro (5.99 mm) y altura (10.5 cm) en plantas de *P. hartwegii* del C. de Perote, respecto a otras poblaciones del Estado de México y Ciudad de México. Esto se explica por el rápido rompimiento del estado cespitoso que tuvieron las plantas de Cofre de Perote en el presente trabajo, donde se supone que mayor cantidad de sustancias de reserva fueron destinadas al crecimiento en longitud y desarrollo de yema apical; mientras planta en estado cespitoso continuaron su nulo o poco crecimiento en altura y destinaron su crecimiento en diámetro y raíz (Brockway *et al.*, 2006; O'Brien, Hiers, Callaham, Mitchell & Jack, 2008). Por lo que la aceleración del rompimiento del estado cespitoso mejoró el crecimiento en altura de las plantas de *P. hartwegii*. El crecimiento temprano de las plantas bajo condiciones naturales e invernadero con mayor vigor, durante la fase de crecimiento exponencial, serán las más eficientes en suministrarse del medio de crecimiento como agua, luz y los nutrimentos disponibles (Repo, 1992); y así mismo tener un alto porcentaje de supervivencia cuando se establezcan en condiciones de campo (Villar *et al.*, 2004).

En cuanto a la formación de la yema (diámetro de yema), las tres poblaciones presentaron esta característica (95%) (Figura 1.4). En el lugar de origen y bajo sus condiciones naturales la especie presenta un crecimiento continuo, durante la época de evaluación respondiendo a las condiciones ambientales correspondientes al verano y otoño con un crecimiento continuo y mediante la formación de yemas. Las poblaciones de coníferas tienden a diferenciarse genéticamente y en sus patrones de crecimiento tales como la elongación de la yema, resistencia a los factores adversos, en respuesta a los cambios en los rangos de temperatura ambiental (Benowicz, L'Hirondelle & El-Kassaby, 2001; Oleksyn, Reich, Tjoelker & Chalupka, 2001).



Figura 1.4. Diferencia entre la formación de la yema en plantas; a) con estado cespitoso y b) sin estado cespitoso, de *Pinus hartwegii*.

1.5. CONCLUSIONES

La semilla de *Pinus hartwegii* producida por los árboles de las tres poblaciones consideradas en este estudio, resultó de buena calidad; independientemente del nivel altitudinal del sitio. Se descartan problemas de endogamia, excepto en la semilla de los árboles localizados en el sitio de mayor altitud (4100 m) correspondiente al Nevado de Toluca, debido a sus bajos porcentajes de germinación registrados. La aceleración del rompimiento del estado cespitoso y por lo tanto el inicio del crecimiento inicial en altura de las plántulas de *Pinus hartwegii* depende de la población y del nivel altitudinal, indicando variación adaptativa, según condiciones del sitio, en el control genético de la ontogenia temprana de la especie. Plántulas de *Pinus hartwegii* con menor tiempo en estado cespitoso presentan mayor crecimiento en altura y mejor formación de yema principal, pero menor crecimiento en diámetro.

CAPITULO II. EFECTO DE LA SEQUÍA EN EL CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Pinus hartwegii* Lindl. CON ESTADO Y SIN ESTADO CESPITOSO.

2.1. RESUMEN

Plántulas de *Pinus hartwegii* Lindl. con diferente estado de crecimiento (con y sin estados cespitoso) fueron sometidas a déficit hídrico, con la finalidad de estudiar su respuesta en términos de consumos, potencial hídrico (Ψ_a), crecimiento en altura y diámetro a la base de planta, componentes y asignación de biomasa. El experimento en invernadero incluyó dos niveles de humedad del suelo (S1 riego y S2 sequía) durante tres meses y medio (periodo de sequía) y un periodo de recuperación de un mes. El consumo de agua varió en los dos estados de crecimiento durante el periodo de sequía; siendo las plantas con estado cespitoso las de menor consumo con un 30% menor que las plantas sin estado cespitoso, y en general el Ψ_a fue de -1.1 MPa. La acumulación de biomasa fue afectada significativamente ($P=0.001$) en las plantas con y sin estado cespitoso. En promedio, la biomasa aérea de las plantas en sequía con estado cespitoso fue 25% menor que las planta sin estado cespitoso. En ambas condiciones de crecimiento las plantas presentaron una alta resistencia al estrés hídrico y no presentaron ningún síntoma de marchitamiento.

Palabras Clave: estrés hídrico, *Pinus hartwegii*, estado cespitoso, consumo de agua, potencial hídrico, asignación de biomasa.

2.2. INTRODUCCIÓN

Pinus hartwegii Lindl. se distribuye en el límite de la vegetación arbórea de los volcanes más altos del Eje Volcánico Transversal de México y en las partes altas de las montañas de Guatemala, a una altitud que va de los 2,800 a 4,200 m (Matos, 1995; Gernandt & Pérez-de la Rosa, 2014). Esta especie es importante en la regulación del ciclo hidrológico, producto del deshielo de los volcanes, en la contribución de la recarga de los mantos freáticos y en la amortiguación de los efectos de la contaminación ambiental (Viveros-Viveros *et al.*, 2009). Desafortunadamente las poblaciones naturales de esta especie se encuentran reducidas y fragmentadas por causas naturales y antropogénicas (López-Upton, Jasso-Mata, Vargas-Hernández & Ayala, 1993). Además, *P. hartwegii* se considera como susceptible al calentamiento global (Hernández, Gutiérrez, Almeida, & Ordóñez, 2005); por lo que las altas temperaturas y los eventos de sequía pondrían en riesgo su supervivencia (Hernández *et al.*, 2005).

El estrés hídrico limita la regeneración natural y el establecimiento inicial de las plántulas, provocando la declinación de los bosques (Choat, Jansen & Brodribb, 2012). Sin embargo, la variabilidad genética entre las especies forestales y la plasticidad adaptativa son los principales mecanismos que les permiten a los individuos de las especies arbóreas adaptarse a las condiciones de sequía (Valladares *et al.*, 2014).

En las plantas, el cierre de los estomas es una de las respuestas inmediatas a la sequía para evitar la pérdida de agua por transpiración y mantener los potenciales hídricos en las células (Wu, Ballif & Huang, 2006).

Por otra parte, *P. hartwegii* logra sobrevivir a incendios forestales frecuentes que ocurren en su hábitat natural, gracias a la condición cespitosa que presenta durante sus etapas de plántula; esta característica consiste en el nulo crecimiento del epicótilo y desarrollo abundante de hojas secundarias, que protegen a la yema principal, este carácter adaptativo en plántulas de *P. hartwegii* puede permanecer de dos a seis años en campo (González-Rosales & Rodríguez-Trejo, 2004). Sin embargo, las plantas pueden salir del estado cespitoso durante la producción en vivero cuando se aplican

tratamientos de fertilización o bien naturalmente (Sung, Dumroese, Pinto & Sayer, 2019).

La condición cespitosa es una característica que podría aumentar la sensibilidad a la sequía, ya que el área foliar que desarrollan las plántulas implicaría mayor transpiración de las mismas; además, bajo condiciones de estrés hídrico, el rápido crecimiento debe ser una prioridad para el establecimiento de las plántulas ante eventos de sequía (Hart, O'Keefe, Augustine, & McCulloh, 2019). Por lo que durante la regeneración natural de *P. hartwegii*, las plántulas en estado cespitoso pueden ser afectadas negativamente por la sequía. Entonces la reforestación asistida de *P. hartwegii* deberá realizarse con plantas que ya no presentan estado cespitoso para favorecer la supervivencia durante el establecimiento de las plantaciones.

Estudiar el manejo del estrés hídrico de las plantas de *P. hartwegii* con y sin estado cespitoso, permitirá saber las ventajas o desventajas de esta condición adaptativa ante los eventos de sequía que se pronostican con el cambio climático. En la presente investigación, el objetivo fue comparar la respuesta a la sequía controlada de plantas de *Pinus hartwegii* con y sin estado cespitoso. La hipótesis fue que la respuesta a la sequía de plántulas de *P. hartwegii* con y sin estado espitoso es diferente en cuanto a la supervivencia, crecimiento, fisiología; se espera que las plantas con estado cespitoso sean las más afectadas por el estrés hídrico.

2.3. MATERIALES Y MÉTODOS

Recolecta de Conos

La recolecta de conos se realizó en dos poblaciones naturales del Estado de México y una de Veracruz, México (Cuadro 2.1). Para lo que se seleccionaron de 5 a 15 árboles por sitio, considerando la presencia de conos y la ausencia de plagas. Los conos recolectados fueron llevados al laboratorio para extraer y procesar la semilla, eliminando la semilla vana y almacenando solo la semilla llena.

Cuadro 2.1. Localización geográfica de nueve poblaciones de *Pinus hartwegii* consideradas en el estudio.

Población	Clave Sitio	Altitud (m)	Latitud	Longitud
Monte Tláloc, Estado de México	MT36	3600	19°24' 04.48"	98°44' 11.55"
	MT37	3700	19°24' 52.11"	98°44' 29.66"
Nevado de Toluca, Estado de México	NT39	3900	19°07' 47.79"	99°46' 50.31"
	NT40	4000	19°07' 25.66"	99°46' 43.77"
	NT41	4100	19°07' 18.93"	99°45' 11.85"
Cofre de Perote, Veracruz	CP34	3400	19°31' 13.33"	97°09' 49.65"
	CP36	3600	19°31' 13.33"	97°09' 51.31"
	CP38	3800	19°30' 19.42"	97°09' 31.37"
	CP40	4000	19°29' 44.47"	97°09' 09.27"

Localización del experimento

En la primera semana de febrero del 2019, se realizó la siembra en charolas de 54 cavidades con tubetes de 310 ml para lo que se usó una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita, en proporción volumétrica de 3:1:1, en el invernadero del huerto semillero de *Pinus leiophylla* Schl. & Cham; ubicado en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. Méx; a 19°29' LN y 98°53' LO, a una altitud de 2,250 m.

Manejo de planta

Las plántulas producidas fueron mantenidas en condiciones de invernadero. El riego se proporcionó cada cuatro días o cuando fue necesario. La fertilización se realizó cada 15 días, consistió en que durante los primeros cuatro meses de crecimiento se aplicó el fertilizante Peters Professional® de macro y micro nutrientes a base de nitrógeno, fósforo y potasio en proporciones de 10-30-20, respectivamente.

A los cinco meses, independiente de la población se realizó una selección al azar, considerando las plantas que habían salido del estado cespitoso y en mismo número aquellas que todavía se encontraban en dicho estado, 45 plantas por cada estado de crecimiento. En ambas condiciones se escogieron plantas homogéneas en cuanto a su tamaño y morfología. Posteriormente las plantas se trasplantaron a tubetes de 1 L, para lo que como sustrato se usó una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita, en proporción volumétrica de 3:1:1, respectivamente. Al sustrato no se añadió fertilizante debido a que éste ocasiona interacción en la tolerancia al estrés (Villar, Pañuelas & Jacobs, 2013). Previamente a la mezcla se le realizó un análisis en el laboratorio de física de suelo en el Colegio de Postgraduados Campus Montecillo. El pH fue de 6, con porosidad de 86 % y con densidad aparente de 0.1 Mg/m³. Finalmente, para establecer el nivel de humedad a aplicar en el tratamiento de sequía, se determinó la capacidad de campo (-0.02 MPa) y el punto de marchites permanente (-1.5 MPa).

Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en la segunda semana de diciembre del 2019. El experimento tuvo un diseño experimental en bloques completos al azar con parcelas divididas. El factor humedad del suelo, se consideró como la parcela grande y, tuvo dos niveles: riego (S1) y sequía (S2); y a la parcela chica, fue la condición cespitosa y tuvo, dos niveles: con (C1) y sin estado cespitoso (C2). Se utilizaron seis plantas por unidad experimental y el experimento fue replicado 15 veces, utilizando un total de 180 plantas en el experimento; 90 plantas con y sin estado cespitoso y, por ambiente de humedad.

Para mantener los niveles de humedad en el sustrato, se utilizó el método gravimétrico. En el tratamiento de riego la humedad fluctuó de 85 a 70 % de humedad; mientras que en el de sequía fluctuó de 25 a 10 % de humedad. El agua se repuso cuando se alcanzó el mínimo de humedad para cada tratamiento (Figura 2.1).

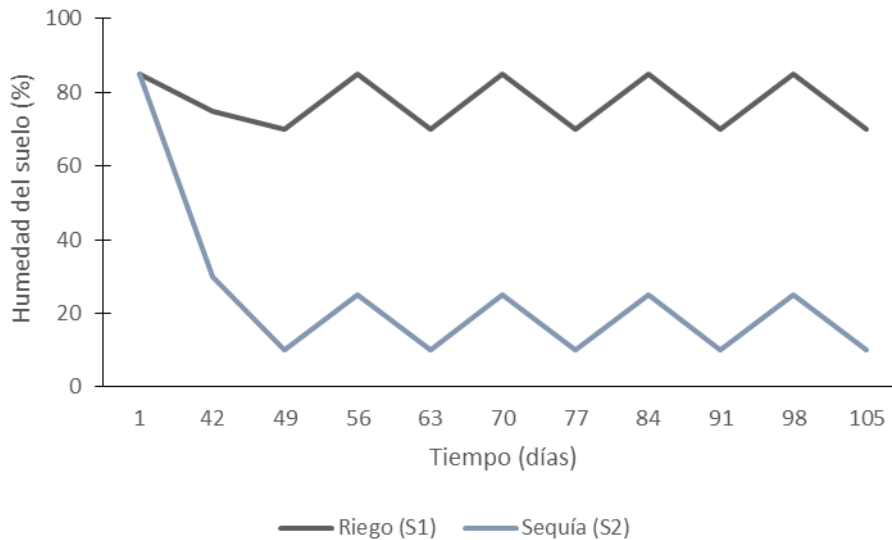


Figura 2.1. Dinámica del contenido de humedad del sustrato empleado en los tratamientos de Riego (S1) y Sequía (S2) aplicados a planta de *Pinus hartwegii* procedente de nueve procedencias.

2.4. VARIABLES EVALUADAS

Consumo de agua

Para evaluar el consumo de agua de las plantas durante el periodo de sequía, se utilizó una balanza digital con precisión de 0.001 g. El consumo de agua se registró cada siete días. Para evitar la pérdida de agua, los tubetes fueron cubiertos con bolsa de polietileno en la parte inferior y para contrarrestar la evaporación por parte del sustrato en la parte superior, se trasplantaron 20 plantas en tubetes de la misma capacidad y con el mismo sustrato, se cortó la parte superior de las plantas; 10 plantas bajo riego (S1) y 10 en sequía (S2). El peso de las macetas con y sin plantas se determinó a las 7:00 h de la mañana y la diferencia se le atribuyó a la transpiración. Con los datos obtenidos durante el periodo de sequía, se calculó el consumo diario promedio por planta en cada uno de sus dos estados de crecimiento.

Potencial hídrico

El potencial hídrico de la planta se estimó en el día 105 al final del periodo de sequía con el método de balance de presiones (Scholander, Hammel, Bradstreet & Hemmingsen, 1965) usando una cámara de presión tipo Scholander (Modelo 3005, Soilmoisture Equipment Corp.). La prueba se realizó antes del amanecer, entre las 4:00 y 5:30 h del día. Se utilizó una muestra aleatoria de 72 plantas; 36 de planta con estado cespitoso y 36 sin estado cespitoso, por cada tratamiento de humedad. A cada planta se le cortó el tallo desde la base de la raíz, y entonces se introdujo a la cámara de presión, con el corte expuesto al exterior; fue sometido gradualmente a la presión del gas de nitrógeno. Se registró la presión (MPa) hasta que la primera gota de savia fue emitida en el sitio de escisión, que representa la tensión a la cual la savia era retenida en el xilema (Boyer, 1995).

Crecimiento

Al inicio del experimento en el día uno y al final de la sequía (105), en cada una de las plantas se registró la altura y el diámetro a la basa de planta (DB), con esto se estimó el incremento de estas variables. Las variables fueron registradas con una regla graduada ($\pm 1\text{mm}$) y un vernier digital ($\pm 0.1\text{ mm}$). Al finalizar el periodo de sequía se muestrearon 36 plantas con y sin estado cespitoso por tratamiento, separando la parte aérea (tallo) y la raíz, para determinar la biomasa total de cada una de las partes. Para el cual, el sistema radicular fue lavado cuidadosamente para poder contar las raíces nuevas (raíces con puntas blancas) en cada una de las plantas. En seguida, ambas secciones se depositaron en bolsas de papel, y se colocaron en una estufa de secado al $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta alcanzar un peso constante. Se realizaron mediciones de crecimiento y acumulación de biomasa: al inicio, el día 1; el día 105, correspondiente al último día de sequía; y el día 145 (después de 35 días de recuperación de humedad), el último día de recuperación.

Diseño experimental

Para el análisis de las variables fisiológicas (consumo de agua y potencial hídrico) y morfológicas (altura y diámetro), se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + B_k + S_i + C_j + SB_{ik} + SC_{ij} + e_{ijk}$$

Donde Y_{ijk} es el valor observado en el i -ésimo individuo del K -ésimo estado de crecimiento, en el j -ésimo bloque anidado en el i -ésimo nivel de humedad. μ es la media general; S_i es el efecto fijo del i -ésimo nivel de humedad (S_0 y S_1); C_j es el efecto fijo del j -ésimo estado de crecimiento (con y sin estado cespitoso); B_k es el efecto aleatorio de los bloques (1, 2, 3, 4...15 bloques), SB_{ik} es el efecto fijo de la interacción del nivel de humedad con los bloques (error de la parcela grande); SC_{ij} es el efecto aleatorio de la interacción del nivel de humedad con el estado de crecimiento; y e_{ijk} es el error experimental de la parcela chica.

Los datos del número de raíces nuevas se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada de ($\theta = \arcseno \sqrt{n}$, donde θ es el dato transformado) para así mejorar su distribución normal (Sokal & Rohlf, 1981).

2.5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Consumo de agua

El análisis de varianza mostró diferencias significativas ($p < 0.003$) entre las condiciones de crecimiento de las plantas (con y sin estado cespitoso) en el consumo de agua bajo las dos condiciones de humedad durante el tratamiento de sequía. En general, las plantas sometidas a sequía redujeron la tasa de consumo de agua en más del 58% con respecto a las de riego (Cuadro 2.2).

Las plantas en la condición de sequía (S2), en las primeras semanas de tratamiento, registraron un menor consumo de agua que las plantas con riego (S1); sin embargo, en las siguientes cuatro semanas las plantas de ambas condiciones de crecimiento (con y sin estado cespitoso) tuvieron un ajuste y la diferencia en consumo de agua se redujo, después de la sexta semana, esta diferencia se fue incrementando hasta el final del tratamiento, al decaer el porcentaje de humedad en el suelo se redujo el consumo de agua; esto permite mantener condiciones adecuadas de humedad durante un periodo de sequía, lo cual podría reducir el impacto de los daños en las plantas (Martínez–Trinidad, Vargas-Hernández, Muñoz-Orozco & López-Upton, 2002) (Figura 2.2).

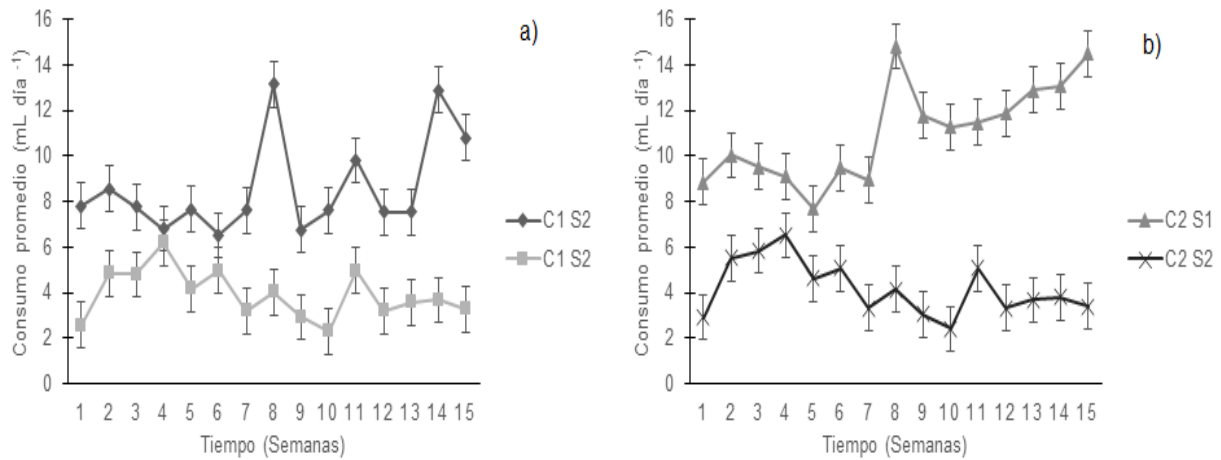


Figura 2.2. Consumo promedio de agua en a) plantas con estado cespitoso y b) plantas sin estado cespitoso de *Pinus hartwegii* Lindl. sometidas a dos condiciones de humedad: riego (S1) y sequía (S2). n=45.

Cuadro 2.2. Tasa de consumo de agua en plantas con y sin estado cespitoso de *Pinus hartwegii* en dos niveles de humedad, durante un periodo de 150 días.

Tratamiento Humedad	Tasa de consumo de agua (mL día ⁻¹)		
	Cespitoso (C1)	No Cespitoso (C2)	Total
Con riego (S1)	8.6 ± 0.14 a	11.0 ± 0.14 a	9.8±0.14
Sequía (S2)	3.9 ± 0.07 b	4.2 ± 0.08 b	4.0±0.07
S1-S2	4.7	6.8	

El consumo de agua dependió de la condición cespitosa de las plantas, ya que tanto en riego como en sequía, las plantas que ya habían salido del estado cespitoso (C2) tuvieron una tasa promedio de consumo de 30% superior a las de estado cespitoso (Cuadro 2.2). El menor consumo de agua mostrado por las plantas en estado cespitoso, en ambas condiciones de humedad debe estar relacionado con la latencia que experimenta la planta. Aunque se ha señalado que durante la condición cespitosa la planta incrementa la producción de follaje y el crecimiento en raíz, la planta se encuentra en latencia y con un metabolismo reducido, por lo que su demanda de agua es menor; mientras que las plantas que ya salieron de dicho estado se encuentran en crecimiento activo y su demanda de agua se incrementa; ya que en condiciones

favorables las plantas de hoja larga pueden llegar a crecer más de 30 cm en altura en una sola temporada (Wahlenberg, 1946)

La disponibilidad de agua en el suelo afectó la tasa de consumo por las plantas bajo sequía; las plantas bajo el tratamiento de sequía disminuyeron el contenido de humedad del sustrato. Esto genera menores potenciales hídricos del suelo. Todo esto sugiere una estrategia para evitar potenciales de agua muy bajos y mantener un balance hídrico favorable; realizando varios ajustes estructurales y fisiológicos en la planta.

Rook, Swanson & Cranswick (1977) reportaron que la baja disponibilidad de agua afecta en primer lugar al diámetro de la base y el desarrollo de raíces, siguiendo con las demás características fisiológicas como el cierre estomático (Albaugh, Allen, Dougherty, Kress & King 1998); así mismo reduciendo la acumulación de biomasa (Watt, Whitehead, Mason, Richardson & Kimberley, 2003; Espinoza, Magni, Martinez & Ivkovic, 2013). En la presente investigación se encontró que la alta resistencia a la sequía de la planta de *Pinus hartwegii* se debe a una mayor eficiencia en el consumo de agua, esto al tener un mejor desarrollo de raíces para la absorción de agua, este desarrollo se favorece durante el periodo que la planta permanece en estado cespitoso.

Potencial hídrico (Ψ_a)

Se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre las condiciones de crecimiento de las plantas (con y sin estado cespitoso) en el Ψ_a , bajo las dos condiciones de humedad durante el tratamiento de sequía (Cuadro 2.3), el Ψ_a tuvo un decremento ligeramente mayor en las plantas no cespitosas (-1.18) que en las cespitosas (-1.14) (Figura 2.3). El Ψ_a de las plantas sin riego disminuyó después de haber perdido el 70 % de humedad en el sustrato. Al final del día 105, los Ψ_a de las plantas sometidas a sequía alcanzó un valor de menor de -1.1 Mpa para ambas condiciones de crecimiento de la planta.

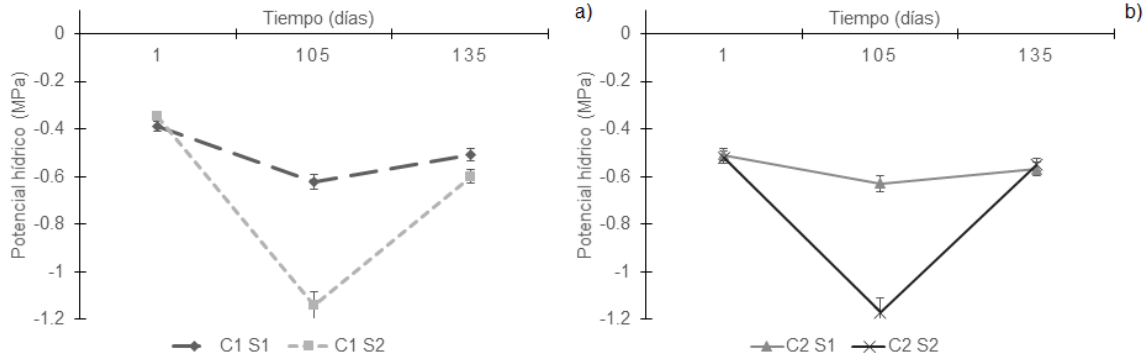


Figura 2.3. Potencial hídrico del tallo de plántulas de *Pinus hartwegii* bajo los dos tratamientos de humedad [con riego (S1) y sequía (S2)] aplicados durante un período de 105 días y posteriormente 30 días con riegos de recuperación. a) plantas con estado cespitoso (C1) y b) plantas sin estado cespitoso (C2).

Cuadro 2.3. Valor de P del ANOVA del potencial hídrico del tallo de los dos estados de crecimiento de *Pinus hartwegii* en dos niveles de humedad. En dos fechas de muestreo durante un periodo de 105 días de sequía progresiva (Día 1 y 105) y otro después de 30 días de recuperación (145R).

Fuente de Variación	Potencial hídrico		
	Día 0	Día 105	Día 145R
Humedad (H)		0.0001	0.40
E. Crecimiento (C)	0.07	0.0001	0.34
H X C		0.92	0.27

Aunque las plantas alcanzaron bajos niveles de Ψ_a , siempre conservaron la rigidez de la zona apical del tallo, no presentaron marchitez, o algún daño foliar y no hubo muertes. En coníferas operan bajo potenciales hídricos (-1.1 a -1.4) y estas sufren daños severos, restringen su crecimiento y causan la muerte (Cleary, Zaerr, & Hamel, 1998; Lopushinsky & Max, 1990; Ritchie & Landis, 2010; Prieto-Ruíz, Almaraz, Corral & Díaz-Vázquez, 2012). Por lo que esta especie debe ser considerada con cierta tolerancia a la sequía.

El Ψ_a de las plantas se recuperó en ambas condiciones de planta después de 30 días de riegos periódicos. En especies del género *Pinus* tienen capacidad de tolerar periodos relativamente largos de sequía y muestran una rápida recuperación después de reactivar los riegos (Castelán-Muñoz, Jiménez-Casas, López-Delgado, Campos-García & Vargas-Hernández, 2015).

Crecimiento de plantas

Existió interacción significativa entre el régimen de humedad y el estado de crecimiento de la planta (H X C) en el incremento en altura y diámetro de base de las plantas, mientras que tanto los tratamientos de humedad como la condición cespitosa de la planta tuvieron efectos significativos en el número de raíces nuevas (Cuadro 2.4).

Cuadro 2.4. Valor de significancia del análisis de varianza para las variables de incremento de *Pinus hartwegii* en dos niveles de humedad.

Fuente variación	G.L.	Incremento en altura (cm)	Incremento en DB (mm)	Número de raíces nuevas
Humedad (H)	1	0.9	0.08	0.0001
E. Crecimiento	1	0.0001	0.05	0.0001
H X C	1	0.0001	0.05	0.031

La diferencia en el incremento en altura entre las plantas con y sin estado cespitoso, ya existía desde antes de iniciar el experimento de sequía, por este hecho no es correcto analizar las diferencias finales encontradas para esta variable. Sin embargo para el incremento en diámetro basal, la interacción significativa entre los factores probados generó información importante. Como se esperaba el incremento en diámetro de la base de planta fue mayor en la planta que ya no estaban salido del estado cespitoso y que contaron con riego normal, mientras que el incremento menor se dio en planta con estado cespitoso y sometido a sequía, y no existieron diferencias significativas entre la planta en estado cespitoso con riego y la planta sin estado cespitoso, la sequía causó una reducción del 4% en el diámetro (Cuadro 2.5).

El estrés hídrico reduce el crecimiento de las plantas, entre otras cosas, por la disminución de la fotosíntesis (Matías & Jump, 2012). Durante la etapa cespitosa las plantas mantienen un crecimiento limitado, particularmente en la altura, y destinan la mayor parte de sus recursos al incremento radial y radical, lo que queda de manifiesto en los resultados encontrados; una vez que rompen el estado cespitoso las plantas continúan con su crecimiento y desarrollo de manera continua (Brockway, Outcalt & Boyer (2006); O'Brien, Hiers, Callaham, Mitchell & Jack, 2008). En la presente investigación la sequía limitó en mayor medida el crecimiento de las plantas no cespitosas, a diferencia de las plantas cespitosas que no registraron cambios importantes. A pesar de los efectos negativos de la sequía en las plantas no cespitosas, estos no fueron muy severos; ya que en otros pinos como *Pinus pinceana* Gordon la sequía limitó el crecimiento en altura y diámetro en 80 y 49 %, respectivamente (Martíñón-Martínez, Vargas-Hernández, López-Upton, Gómez-Guerrero & Vaquera-Huerta, 2010).

La condición cespitosa de las plantas de *P. hartwegii* es considerada como un mecanismo adaptativo que demostró cierta ventaja contra la duración e intensidad del déficit hídrico; como lo han indicado varios autores los caracteres adaptativos determinan la supervivencia de las especies bajo condiciones ambientales limitantes, como el bajo contenido de humedad del suelo (Samuelson & Seiler, 1993; Ngugi, Hunt, Doley, Ryan & Dart, 2003; Susiluoto & Berninger, 2007).

Cuadro 2.5. Medias y error estándar del incremento en altura, diámetro basal y raíces de plántulas con y sin estado cespitoso (C1-C2) bajo dos tratamientos de humedad (S1-S2) de *Pinus hartwegii*.

Tratamiento/estado de crecimiento	Incremento en altura (cm)	Incremento en DB (mm)	Numero de raíces nuevas
S1	5.8±0.6 a	8.1±0.3 a	23.4±1.5 a
S2	5.7±0.5 a	7.3±0.3 a	40.4±2.6 b
C1 S1 (T1)	3.5±0.2 b	7.7±0.2 b	23.7±2.6 c
C1 S2 (T2)	3.6±0.1 b	6.7±0.4 c	42.1±4.6 a
T1-T2	+ 0.1	- 1.0	+ 18.4
C2 S1 (T3)	8.2±0.2 a	8.3±0.5 a	23.0±1.9 c
C2 S2 (T4)	7.8±0.4 a	7.9±0.4 ab	38.6±2.7b
T1-T2	- 0.4	- 0.4	+ 15.6

S1= con riego, S2= sequía, C1= estado cespitoso, C2= sin estado cespitoso.

La sequía en las plantas promovió la producción de raíces nuevas en más del 50% en comparación con las plantas en riego; mientras que para las plantas de condición cespitosa la producción fue poco más del 14% que las de sin condición cespitosa. Esta respuesta registrada en la producción de raíces es común en especies cespitosas, particularmente bajo condiciones de sequía (Brockway *et al.*, 2006). Las plantas con un sistema radicular más desarrollado permite explorar estratos de suelos más profundos para la captación de agua y nutrientes (Lloret, Casanovas & Peñuelas, 1999; Paula & Ojeda, 2009), esto se ha identificado como una característica clave para la resistencia a la sequía (Collins & Brass, 2007; Markesteijn & Poorter, 2009). Los resultados encontrados indican que el desarrollo de raíces fue fundamental para la supervivencia de las plantas ante el déficit hídrico.

Acumulación de biomasa

Al final del tratamiento, la sequía afectó la cantidad de biomasa aérea, así como la relación parte aérea/raíz ($p < 0.035$). Similar variación en dichas variables causó la condición cespitosa de la planta y la interacción entre niveles de humedad y estado de crecimiento para la biomasa aérea (Cuadro 2.6).

Cuadro 2.6. Análisis de varianza para el peso seco de la parte aérea, de la raíz y de la relación parte aérea/raíz (A/R) de planta de *Pinus hartwegii*, sometida a dos condiciones de humedad y en dos estados de crecimiento, al inicio (Día 0), al final (día 105) de un periodo de sequía progresiva y después de un periodo de riegos de recuperación (Día 135R).

Fuente	Biomasa								
	Día 0			Día 105			Día 145		
De	aéreo	Raíz	A/R	aéreo	Raíz	A/R	aéreo	Raíz	A/R
Variación									
Humedad				0.001	0.442	0.035	0.60	0.48	0.38
(H)									
E. de	0.88	0.65	0.49	0.001	0.483	0.0013	0.0001	0.38	0.49
Crecimiento									
H X C				0.0017	0.53	0.28	0.0004	0.22	0.25

La mayor cantidad de biomasa se encontró en plantas que ya habían salido del estado cespitoso con riego, no existieron diferencias significativas entre la planta con estado cespitoso en riego y planta sin estado en sequía, mientras que la menor cantidad de biomasa se encontró en planta con estado cespitoso en sequía. El estrés hídrico redujo la acumulación de biomasa aérea en más de 35 % en los dos tipos de planta (con y sin estado cespitoso), pero no la biomasa de raíz. Esto también se reflejó en la relación parte aérea/raíz de las plantas en estrés hídrico que disminuyó 36 %, respecto a las plantas bajo riego (Cuadro 2.7). Varios estudios realizados con pinos han reportado que a pesar de la sequía prolongada, el crecimiento de la raíz de las plantas es poco afectado, en comparación con la parte aérea, pero depende de la especie (Martíñón-

Martínez *et al.*, 2010; Ávila-Flores, Prieto-Ruíz, Hernández-Díaz, Whehenkel & Corral-Rivas, 2014).

Esta respuesta en la biomasa de raíz fue similar en los dos tipos de planta evaluadas en ambos tratamientos de humedad, pero a diferencia de las plantas con estado cespitoso, que no mostraron efecto alguno; las plantas sin dicho estado incrementaron su biomasa radical ligeramente en un 10% (Cuadro 2.7) aunque no fue estadísticamente significativa. Es probable que la latencia de las plantas con la condición cespitosa genere un metabolismo muy reducido que implique un menor consumo de agua, sin necesidad de crecimiento excedente de raíz; mientras que las plantas sin estado cespitoso, ya en crecimiento y desarrollo, requieren mayor crecimiento de raíz debido a la sequía. Al parecer esta respuesta en el crecimiento de la raíz es un mecanismo que ciertas especies utilizan, bajo condiciones de estrés hídrico, para tener una mayor capacidad de absorción y uso del agua (Duan, Yin, & Li, 2005). En condiciones de estrés hídrico en campo, el rápido desarrollo de las raíces para encontrar agua disponible determina su supervivencia (Verdú & Treveset, 2005; Castro, 2006).

Cuadro 2.7. Medias y error estándar para las variables de biomasa de plántulas con y sin estado cespitoso (C1-C2) bajo dos tratamientos de humedad (S1-S2).

Trat/E. de c.	Biomasa		Relación aérea/raíz
	Aérea	Raíz	
S1	2.3±0.1 a	2.3±0.1 a	1.0±0.1 a
S2	1.8±0.1 b	2.5±0.2 a	0.8±0.1 b
C1S1 (T1)	2.0±0.1 b	2.3±0.1 a	0.9±0.1 b
C1S2 (T2)	1.5±0.1 c	2.3±0.2 a	0.7±0.1 b
T1-T2	- 0.5	0.0	- 0.2
C2S1 (T3)	2.5±0.1 a	2.3±0.1 a	1.1±0.1 a
C2S2 (T4)	2.0±0.1 b	2.6±0.3 a	0.8±0.1 b
T3-T4	- 0.5	0.2	- 0.3

S1= humedad, S2= sequía, C1= estado cespitoso, C2= sin estado cespitoso.

Acumulación de biomasa después de riegos de recuperación

Al final del periodo de recuperación, la biomasa y la asignación de la misma en las plántulas no fue estadísticamente diferentes entre los niveles de humedad y entre los estados de crecimiento ($p < 0.4$), excepto para la parte aérea, esto indicando una recuperación importante de las plantas después de la sequía (Cuadro 2.6).

Después del periodo de recuperación, las plantas sin estado cespitoso sometidas a sequía, mostraron un incremento en biomasa aérea superior en relación a las de riego (Cuadro 2.8).

Cuadro 2.8. Medias y error estándar para las variables de biomasa seca de *Pinus hartwegii* bajo dos condiciones de humedad, después del periodo de 30 días de riegos de recuperación.

Trat/E. de c.	Biomasa		Relación aérea/raíz
	Aérea	Raíz	
S1	2.8±0.17 a	2.5±0.55 a	1.4±0.11 a
S2	3.0±0.19 a	2.1±0.11 a	1.4±0.06 a
C1	2.48± b	1.91±0.18 a	1.39±0.07 a
C2	3.36± a	2.79±0.06 a	1.5±0.11 a
C1S1	2.54±0.18 bc	1.88±0.21 a	1.45±0.07 a
C1S2	2.43±0.20 c	1.93±0.16 a	1.33±0.08 a
T1-T2	- 0.11	+ 0.05	- 0.12
C2S1	3.2±0.22 b	3.2±1.06 a	1.5±0.22 a
C2S2	3.5±0.09 a	2.4±0.07 a	1.5±0.04 a
T3-T4	+ 0.33	- 0.86	+ 0.09

S1= humedad, S2= sequía, C1= estado cespitoso, C2= sin estado cespitoso.]

El incremento en biomasa, después de un periodo de recuperación, en plantas sometidas a sequías es común cuando las plantas tuvieron un manejo eficiente de la poca agua disponible durante el estrés; ya que mantienen su capacidad de respuesta cuando los potenciales hídricos de la célula regresan a niveles normales (Martínez–

Trinidad *et al.*, 2002). En especies poco tolerantes la recuperación total no se lleva a cabo o tarda más tiempo, debido a que la reactivación depende del daño causado en los tejidos (Clements, 1970). Por lo que, en la presente investigación la recuperación observada de las plantas de *Pinus hartwegii*, tanto cespitosas como no cespitosas, demuestra su capacidad de respuesta durante y después de la sequía, sin mostrar daños severos y cero mortalidad.

2.6. CONCLUSIONES

Se encontró diferente comportamiento entre los dos estado de crecimiento de planta de *Pinus hartwegii* ante el déficit hídrico; el lento crecimiento y la baja acumulación de biomas por parte de las plantas con estado cespitoso permitieron tener un menor consumo de agua durante el periodo de sequía. La alta resistencia de *Pinus hartwegii* ante la sequía no se vio influenciada por el estado de crecimiento. Hay una gran posibilidad de que estas plantas se encuentren ante un déficit hídrico en sus ecosistemas naturales, es necesario comprender la prevalencia del estrés hídrico en los entornos naturales para evaluar el efecto en plantas con y sin estado cespitoso, a pesar de su resistencia las plantas con estado cespitoso pueden ser las más afectas en condiciones naturales por su lente crecimiento y por entrar en competencia con las plantas anuales, es necesario realizar estos estudios para así mismo predecir su crecimiento y mortalidad ante el cabio climático.

CAPITULO III. EFECTO DEL DÉFICIT HÍDRICO EN LA FISIOLOGÍA Y CRECIMIENTO DE PLÁNTULAS DE *Pinus hartwegii* Lindl. DE DIFERENTE ORIGEN ALTITUDINAL

3.1. RESUMEN

Las plántulas de *Pinus hartwegii* Lindl. de diferente origen altitudinal (3400, 3600, 3800 y 4000 m) fueron sometidas a déficit hídrico, con la finalidad de estudiar su respuesta en términos de consumo de agua, potencial hídrico (Ψ_a), crecimiento en altura y diámetro a la base de planta. El experimento en invernadero incluyó dos niveles de humedad del suelo (S1 riego y S2 sequía) durante tres meses y medio (periodo de sequía) y un periodo de recuperación de un mes. El consumo de agua varió en las plantas de diferentes altitudes durante el periodo de sequía, siendo las plantas de los límites inferior y superior las de menor consumo con un 10 % menor que las plantas de 3600 y 3800 m, y en general el Ψ_a fue de -1.0 MPa. El incremento en la altura y diámetro el daño fue ligero para las plantas bajo sequía, la mayor producción de raíces nuevas fueron las del origen altitudinal de 3,600 y 4,000 m, el desarrollo de raíces permitió un mayor uso en el consumo de agua para contrarrestar los daños del déficit hídrico. En todas las plantas de diferente origen altitudinal presentaron una alta resistencia al estrés hídrico y no presentaron ningún síntoma de marchitamiento.

3.2. INTRODUCCIÓN

Las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. en México se localizan en los límites de la vegetación arbórea, entre los 2,900 a 4,200 msnm, del Nevado de Colima, Nevado de Toluca, Sierra de Río Frío Popocatepetl-Iztaccihuatl, Pico de Orizaba y Cofre de Perote (Gernandt & Pérez-de la Rosa, 2014), entre otras poblaciones. *P. hartwegii* es una especie dominante en su ecosistema, adaptada a los incendios y bajas temperaturas que ocurren en la alta montaña; donde contribuye en la regulación de procesos hidrológicos, en la conservación de suelos, en el almacenamiento de carbono y en otros servicios ecosistémicos locales (Alfaro-Ramírez, Ramírez-Albores, Vargas-Hernández, Franco-Maass & Pérez-Suárez, 2020).

Estudios basados en modelos matemáticos estiman que el incremento en temperatura y el cambio en los patrones de precipitación, debido al calentamiento global, modificarán negativamente al ecosistema de *P. hartwegii* (Sáenz-Romero *et al.*, 2009). De tal manera que su área potencial de distribución se reducirá entre 30 y 70%, en las siguientes décadas (Arriaga & Gómez, 2004).

Algunos autores han señalado que la precipitación y temperatura, entre otras variables climáticas, varía con la altitud (Wang, Jia, Wang, Zhu & McDowell, 2017; Panthi, Fan, van der Sleen & Zuidema, 2019). Los límites altitudinales, inferior y superior, difieren en sus características biofísicas y se reconocen como zonas sensibles para las especies forestales maderables (Holtmeier & Broll, 2005). Eventos de sequía prolongada afectarían en mayor grado a las poblaciones adaptadas a las condiciones de estas zonas (Gaire *et al.*, 2019). Por lo que la respuesta al estrés hídrico de las poblaciones procedentes de diferentes elevaciones permitiría evaluar su vulnerabilidad y distribución ante sequías estacionales.

El efecto de la sequía dentro de un gradiente altitudinal es variable y depende de la especie (Peñuelas Lloret, & Montoya, 2001; Sánchez-Salguero, Navarro-Cerrillo, Swetnam, & Zavala, 2012). Algunas coníferas muestran una mejor respuesta al estrés en un determinado límite altitudinal; mientras otras no lo toleran y su distribución dentro del gradiente se limita (Rai *et al.*, 2019). En México, se han reportado cambios en la

distribución altitudinal de *P. hartwegii* en el Parque Nacional Izta- Popo, Nevado de Toluca y Cofre de Perote (Iglesias & Tivo, 2006); con una reducción en la densidad de los individuos en los límites inferior y superior (Harsch & Bader, 2011).

En las coníferas se reconocen dos estrategias para manejar el estrés hídrico. En una de ellas las plantas mantienen un potencial hídrico alto, ya sea incrementando o reduciendo la tasa de absorción de agua para satisfacer la demanda por transpiración (árboles isohídricos), en este caso el ácido abscísico juega un papel central en el control del cierre estomático. En la otra estrategia las plantas permiten la caída del potencial hídrico, pero mantienen la turgencia celular con agentes osmóticos, el control osmótico celular es vital (árboles anisohídricos) (Moran, Lauder, Musser, Stathos & Shu, 2017).

El objetivo de este estudio fue conocer el efecto de la sequía en la fisiología y crecimiento en las plantas de *Pinus hartwegii* Lindl. procedente de cuatro diferentes niveles altitudinales del Cofre de Perote, Ver. Bajo la hipótesis de que la respuesta a la sequía varía en función del nivel altitudinal en el que se encuentre la planta, desde que se ha señalado que las estrategias desarrolladas en las plantas son definidas por condiciones biofísicas del sitio donde habitan y estas difieren según el nivel altitudinal, incluyendo las condiciones de humedad.

3.3. MATERIALES Y MÉTODOS

La recolecta de conos se realizó en cuatro diferentes altitudes en la población de *Pinus hartwegii* localizada en el Cofre de Perote, Veracruz, México (Cuadro 3.1); para lo que se seleccionaron de cinco a 15 árboles por sitio, considerando la presencia de conos y la ausencia de plagas. Los conos recolectados fueron llevados al laboratorio para extraer y procesar la semilla, eliminando la semilla vana y almacenando solo la semilla llena.

Cuadro 3.1. Localización geográfica de las poblaciones de *Pinus hartwegii* Lindl. En el Cofre de Perote, Veracruz, México.

Población	Clave Sitio	Altitud (m)	Latitud	Longitud
Cofre de Perote, Veracruz	CP34	3400	19°31' 13.33"	97°09' 49.65"
	CP36	3600	19°31' 13.33"	97°09' 51.31"
	CP38	3800	19°30' 19.42"	97°09' 31.37"
	CP40	4000	19°29' 44.47"	97°09' 09.27"

Localización del experimento

En la primera semana de febrero del 2019, se realizó la siembra en charolas de 54 cavidades con tubetes de 310 ml, para lo que se usó una mezcla de peat moss, agrolita y vermiculita, en proporción volumétrica de 3:1:1. La germinación de la semilla se llevó a cabo en el invernadero ubicado en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, Edo. Méx; a 19°29' N y 98°53' O y una altitud de 2,250 m.

Manejo de Planta

Las plántulas producidas fueron mantenidas en condiciones de invernadero. El riego se proporcionó cada cuatro días o cuando fue necesario. La fertilización se realizó cada 15 días, mediante el fertilizante Peters Professional® de macro y micro nutrientes a

base de nitrógeno, fósforo y potasio en proporciones de 10-30-20, respectivamente. La fertilización se realizó de marzo a noviembre del 2019.

A los nueve meses de edad, 40 plantas de cada origen altitudinal fueron seleccionadas al azar. Posteriormente estas plantas se trasplantaron a tubetes de 1 L, utilizando la misma mezcla empleada para la germinación y crecimiento de las plantas. Al sustrato no se añadió fertilizante debido a que éste ocasiona interacción en la tolerancia al estrés (Villar, Pañuelas & Jacobs, 2013). Previamente a la mezcla se le realizó un análisis en el laboratorio de Física de Suelos en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. El pH fue de seis, con porosidad de 86 % y con densidad aparente de 0.1 Mg/m³. Finalmente, para establecer el nivel de humedad a aplicar en el tratamiento de sequía, se determinó la capacidad de campo (-0.02 MPa) y el punto de marchites permanente (-1.5 MPa).

Establecimiento del experimento

El experimento se estableció en la segunda semana de diciembre del 2019. El experimento tuvo un diseño experimental en bloques completos al azar con parcelas divididas. El factor humedad del suelo, se consideró como la parcela grande y, tuvo dos niveles: riego (S1) y sequía (S2); y a la parcela chica, fue el factor altitud, cuatro niveles: con 3400 (34), 3600 (36), 3800 (38) y 4000 m (40). Se utilizaron cuatro plantas por unidad experimental y el experimento fue replicado 20 veces, utilizando un total de 160 plantas en el experimento; 80 planas por ambiente de humedad.

Para mantener los niveles de humedad en el sustrato, se utilizó el método gravimétrico; con la balanza digital (precisión de 0.001 g) se registró la pérdida de agua en cada una de las plantas y así mismo se repuso el agua perdida hasta alcanzar el peso constante del tratamiento. En el tratamiento de riego la humedad fluctuó de 85 a 70 % de humedad; mientras que en el de sequía fluctuó de 25 a 10 % de humedad. El agua se repuso cuando se alcanzó el mínimo de humedad para cada tratamiento (Figura 3.1).

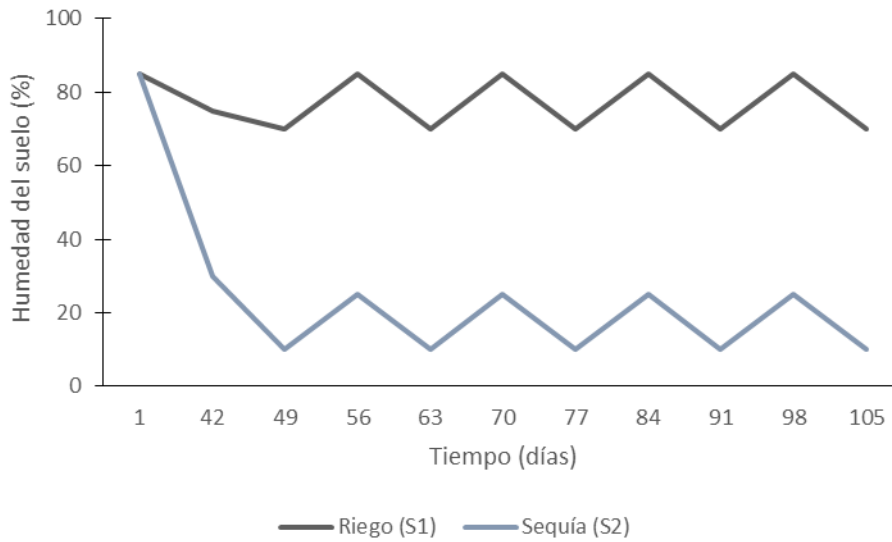


Figura 3.1. Dinámica del contenido de humedad de la mezcla de sustrato usada en la producción de plantas de *Pinus hartwegii*, procedente de cuatro diferentes niveles altitudinales del Cofre de Perote, sometidas a tratamientos de sequía: Riego (S1) y Sequía (S2) durante un periodo de 105 días.

3.4. VARIABLES EVALUADAS

Consumo de agua

Para evaluar el consumo de agua de las plantas durante el periodo de sequía, se utilizó una balanza digital con precisión de 0.001 g. El consumo de agua se registró cada siete días por un periodo de 105 días pesando las plantas en tubetes. Para evitar la pérdida de agua, los tubetes fueron cubiertos con bolsa de polietileno en la parte inferior y para contrarrestar la evaporación por parte del sustrato en la parte superior. Se trasplantaron 20 plantas en tubetes de la misma capacidad y con la misma mezcla de sustrato, a estas plantas se les cortó la parte aérea desde la base del diámetro basal; 10 plantas bajo riego (S1) y 10 en sequía (S2). El peso de las macetas con y sin plantas se determinó a las 7:00 h de la mañana y la diferencia se le atribuyó a la transpiración. Con los datos obtenidos durante el periodo de sequía, se calculó el consumo diario promedio por planta.

Potencial hídrico

El potencial hídrico de la planta se estimó en el día 105, al final del periodo de sequía, con el método de balance de presiones (Scholander, Hammel, Bradstreet & Hemmingsen, 1965) usando una cámara de presión tipo Scholander (Modelo 3005, Soilmoisture Equipment Corp.). La evaluación se realizó antes del amanecer, entre las 4:00 y 5:30 h del día. Se utilizó una muestra aleatoria de seis plantas por tratamiento. A cada planta se le cortó el tallo desde la base de la raíz, y entonces fue introducido a la cámara de presión, con el corte expuesto al exterior; fue sometido gradualmente a la presión del gas de nitrógeno. Se registró la presión (MPa) hasta que la primera gota de savia fue emitida en el sitio de escisión, que representa la tensión a la cual la savia era retenida en el xilema (Boyer, 1995).

Crecimiento

Al inicio del experimento (día uno) y al final de la sequía (día 105), en cada una de las plantas se registró la altura y el diámetro a la basa de planta (DB), la diferencia con respecto al inicio y al final de la sequía se le atribuyo al incremento de estas variables. Al finalizar el periodo de sequía se muestrearon seis plantas por tratamiento, separando la parte aérea (tallo) y la raíz, para lo cual, el sistema radicular fue lavado, con agua corriente, cuidadosamente para poder contar las raíces nuevas (raíces con puntas blancas) en cada una de las plantas.

Diseño experimental

Para el análisis de las variables fisiológicas (consumo de agua y potencial hídrico el cual fue analizado en el día 1 y al final de la sequía en el día 105) y morfológicas (altura y diámetro basal), se utilizó el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + B_k + S_i + C_j + SB_{ik} + SC_{ij} + e_{ijk}$$

Donde Y_{ijk} es el valor observado en el i -ésimo individuo del K -ésimo origen altitudinal, en el j -ésimo bloque anidado en el i -ésimo nivel de humedad. μ es la media general; S_i es el efecto fijo del i -ésimo nivel de humedad (S_0 y S_1); C_j es el efecto fijo del j -ésimo origen altitudinal (3400, 3600, 3800 y 4000 m); B_k es el efecto aleatorio de los bloques (1, 2, 3, 4...20 bloques), SB_{ik} es el efecto fijo de la interacción del nivel de humedad con los bloques (error de la parcela grande); SC_{ij} es el efecto aleatorio de la interacción del nivel de humedad con el origen altitudinal; y e_{ijk} es el error experimental de la parcela chica.

Los datos del número de raíces nuevas se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada de ($\theta = \text{arcoseno } \sqrt{n}$, donde θ es el dato transformado) para así mejorar su distribución normal (Sokal & Rohlf, 1981).

3.5.RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Consumo de agua y potencial hídrico (Ψ_a)

Al final del tratamiento (Día 105), para el consumo de agua el análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre los tratamientos de sequía, pero no entre los diferentes orígenes altitudinales; mientras que para el potencial hídrico se encontraron diferencias significativas para ambos factores considerados (Cuadro 3.2). Al final del periodo de recuperación (día 145), el potencial hídrico no presentó diferencias significativas para ninguno de los dos factores. En todos los casos las interacciones no fueron significativas (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Valor de P del ANOVA del consumo de agua y potencial hídrico de las plantas de *Pinus hartwegii* de diferente origen altitudinal en tratamiento de sequía. Al final del tratamiento de sequía (Día 105) y al final del periodo de recuperación (Día 145).

Fuente de Variación	Consumo de agua	Potencial hídrico	
	Día 105	Día 105	Día 145 R
Sequía (S)	0.01	0.0001	0.80
Altitud (A)	0.33	0.0002	0.54
S*A	0.2	0.33	0.44

Consumo de agua. En la primera semana de tratamiento, las plantas en condiciones de sequía (S2) inmediatamente registraron una disminución en su consumo de agua, respecto a las plantas con riego (S1); aunque después de la semana 5, las plantas en S2 tuvieron un leve ajuste e incrementaron ligeramente su consumo. Durante los siguientes días y hasta el final del tratamiento, las plantas en S1 y S2 mostraron fluctuaciones leves en su consumo de agua. Las plantas en S1 tuvieron una tasa de consumo de agua de 12.5 mL día^{-1} ; mientras que las plantas en sequia (S2) registraron un decremento en su consumo de aproximadamente 45%, respecto a las S1 (Figura 3.2).

Aunque no hubo diferencias entre los niveles de altitud e interacciones respectivas, leves tendencias se observaron. Las plantas del límite inferior (3,400 m) y las de límite superior (4,000 m) consumieron menos agua durante el período de sequía, 6.5 y 6.7 mL día⁻¹, respectivamente, que las plantas de los límites intermedios (3,600 y 3,800) con 7.1 y 7.0 mL día⁻¹, respectivamente. Es probable que las plantas de ambos límites altitudinales eviten consumir mayor cantidad de agua como una estrategia para manejar de manera eficiente el estrés hídrico, debido a adaptaciones generadas por las condiciones existentes en sus sitios de origen. Una reducción en el consumo de agua permite ahorrar la poca agua disponible en el suelo y mantiene un balance hídrico favorable en las plantas durante la sequía (Farquhar, Ehleringer & Hubick, 1989). Lo cual permite el ajuste fisiológico de la planta para reducir el daño y riesgo de morir, dando oportunidad para una rápida recuperación tan pronto como el agua vuelva a estar presente en el suelo (Martínez-Trinidad, Vargas-Hernández, Muñoz-Orozco & López-Upton, 2002 a).

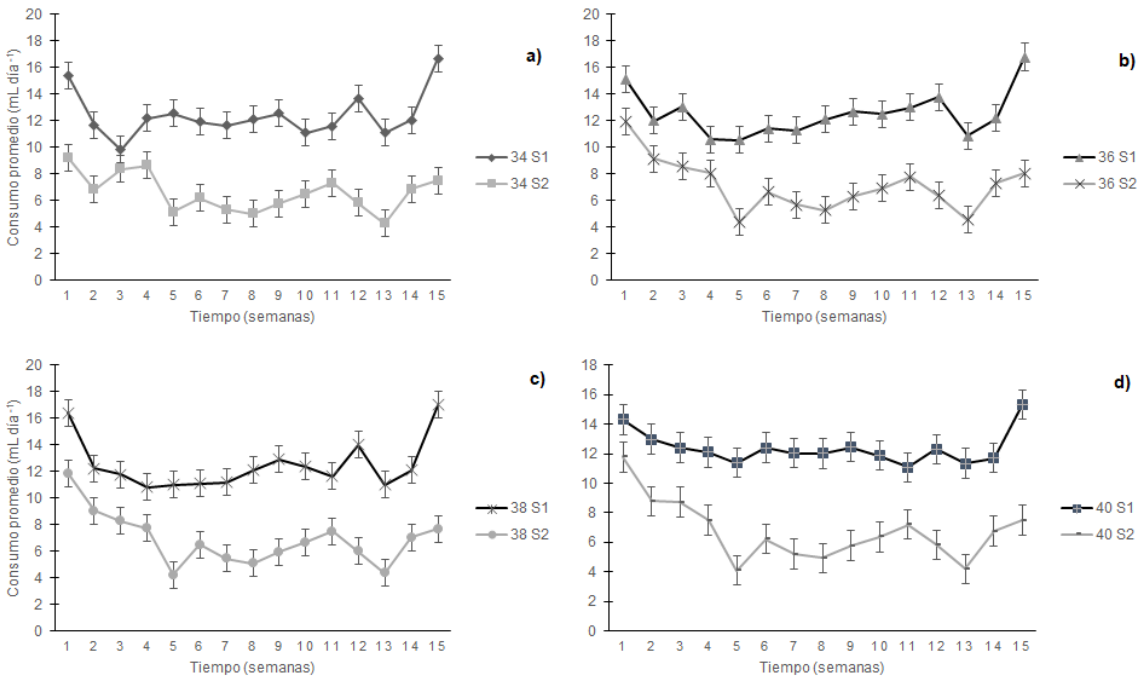


Figura 3.2. Consumo promedio diario de agua en plantas *Pinus hartwegii* Lindl. de diferente origen altitudinal a) 3400, b) 3600, c) 3800 y d) 4000 m sometidas a dos condiciones de humedad: riego (S1) y sequía (S2) durante 15 semanas.

Al final del tratamiento (105 días), las plantas en S2 no presentaron ningún síntoma de marchitamiento, daño o mortalidad. Esto demuestra la resistencia de esta especie a las condiciones de sequía. En otras coníferas, como *Pinus leiophylla* Schl. et Cham, considerada como especie tolerante a sequía, daños severos en el follaje y mortalidad hasta de 40% se reportaron cuando plantas de esta especie fueron sometidas a sequia similar a la realizada en este trabajo, pero en solo 60 días de tratamiento (Martínez-Trinidad et al., 2002 b). Lo cual implica que *P. hartwegii* es una especie con mayor adaptación a condiciones de sequía que otras coníferas.

Potencial hídrico. Al inicio del experimento las plantas presentaron un potencial hídrico (Ψ_a) de -0.45 a -0.58 MPa (Figura 3.3). Al final del periodo de sequía (día 105), los efectos de la sequía y la altitud fueron significativos ($P \leq 0.05$) en las plantas de *P. hartwegii*, pero sin interacción significativa entre los factores (Cuadro 2). Al final del periodo de recuperación no se obtuvieron valores significativos ($P \leq 0.05$) para ningún factor evaluado ni para su interacción (Cuadro 3.2).

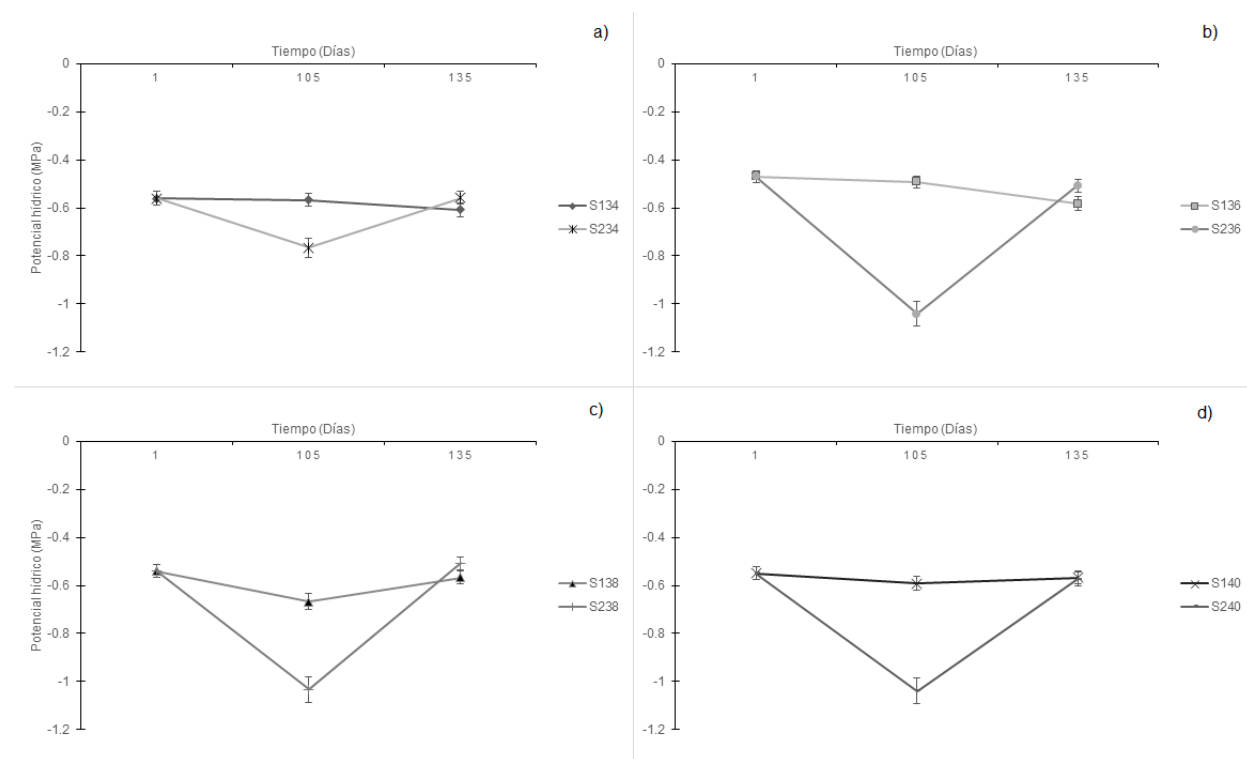


Figura 3.3. Potencial hídrico (Ψ_a) de las plantas de diferente origen altitudinal (3400, 3600, 3800 y 4000 m) de *Pinus hartwegii*, en tratamientos de sequía: S1 (riego) y S2

(sequía). Al final de un periodo de sequía (105 días) y de recuperación de 30 días (día 145).

Al final del tratamiento de sequía (105 días), el Ψ_a de las plantas del límite inferior altitudinal (3,400 m) resultó menos afectado por la sequía, ya que aproximadamente se redujo en un 23%, respecto a su testigo; mientras que en plantas de las otras altitudes la reducción fue mayor del 40% (Figura 3.3). En condiciones de estrés hídrico las coníferas pueden cerrar sus estomas (debido a la acción del ácido abscísico) para mantener el Ψ_a o permitir que este caiga (Tardieu & Simonneau, 1998). Las plantas que permiten la caída de su potencial evitan el daño celular al sintetizar moléculas que actúan como agentes osmóticos. Estos reducen el potencial de solutos e incrementan la turgencia celular en bajos potenciales hídricos (Yuxiu, Zi & Jin, 2007). Se cree que estas moléculas protectoras son producidas al inicio de la sequía, ya que el potencial hídrico cae muy rápidamente (Moran *et al.*, 2017). Es probable que las plantas del límite altitudinal inferior desarrollen la estrategia del cierre de estomas de manera más eficaz; mientras que las de las altitudes superiores permitan la caída de Ψ_a y manejen la pérdida de turgencia celular con la síntesis de agentes osmóticos. Estos mecanismos probablemente permitieron evitar daño celular en las plantas de *P. hartwegii* que como se señaló nunca mostraron síntomas de marchitez, pese al prolongado periodo de sequía. Lo cual les permitió una rápida recuperación. En coníferas, las plantas pueden tolerar Ψ_a de hasta -1.2 MPa sin causar daño y sin afectar su crecimiento (Cleary, Zaerr & Hamel, 2003).

Las plantas de todas las altitudes, sometidas a sequía, recuperaron sus Ψ_a , al mismo nivel que las de plantas testigo después de que volvieron a ser irrigadas por 30 días (Figura 3.3). La recuperación de las plantas, después de un periodo de sequía, depende del grado de afectación generado. Se ha señalado que el daño en el sistema hidráulico del xilema determina la recuperación o muerte de la planta (Brodribb & Cochard, 2009). En nuestro estudio podemos señalar que las plantas de *P. hartwegii* pudieron manejar el estrés hídrico impuesto a través de las estrategias señaladas y evitaron daño severo, lo que les permitió recuperar los Ψ_a después de 30 días de hidratación.

Crecimiento en altura, diámetro y número de raíces nuevas

La sequía y la altitud afectaron significativamente ($P \leq 0.05$) tanto el incremento en altura como en diámetro basal de las plantas de *P. hartwegii*; así como la producción de número de raíces nuevas, la interacción entre factores solo fue significativo para las raíces nuevas (Cuadro 3.3).

Cuadro 3.3. Valor de significancia del análisis de varianza para los incrementos de altura y diámetro; así como para el número de raíces nuevas de plantas de *Pinus hartwegii* de diferentes niveles altitudinales, sometidas a tratamiento de sequía.

Fuente de variación	Incremento en altura (cm)	Incremento en diámetro (mm)	Número de raíces nuevas
Sequía (S)	0.0012	0.022	0.0017
Altitud (A)	0.0085	0.053	0.0023
S*A	0.13	0.16	0.025

El incremento en altura para las plantas bajo el tratamiento de sequía fue 13 % menor que para las plantas testigo (riego) y 5 % para el diámetro basal (Cuadro 3.4 y Figura 3.4). El decremento en crecimiento es un efecto que ya se esperaba en las plantas sometidas a estrés hídrico, ya que se sabe que la sequía afecta seriamente la fotosíntesis y reduce todas las funciones fisiológicas del individuo con un decremento en crecimiento (Matías & Jump, 2012).

Pero resulta interesante saber si entre plantas de diferente nivel altitudinal la sequía las afecta por igual. En este trabajo se encontró que el efecto de la sequía en el incremento en altura varió entre las plantas de diferente nivel altitudinal. Las plantas con menor incremento en altura, pero con mayor producción de raíces nuevas fueron las del origen altitudinal de 3,600 y 4,000 m (Cuadro 3.4). Por lo que plantas de estas altitudes mostraron una estrategia interesante ante condiciones de sequía, limitando su crecimiento en altura y desarrollando mayor número de raíces nuevas, 36% más que las de 3,400 y 3,800 (Cuadro 3.4). La producción de raíces nuevas es una estrategia clave de resistencia a condiciones de sequía (Collins & Brass, 2007; Markesteijn &

Poorter, 2009). El sistema radicular más desarrollado permite la exploración del suelo en sus perfiles más profundos para la captación de agua y nutrimentos (Lloret, Casanovas & Peñuelas, 1999; Paula & Ojeda, 2009). Las plantas con un sistema radicular poco desarrollado son más propensas a sufrir un estrés hídrico letal (Brodrigg, Bowman, Nichols, Delzon & Burrett, 2010). La modificación del sistema radical frente al déficit hídrico varía ampliamente entre las especies forestales; se han encontrado diferencias entre poblaciones y dentro de estas en la asignación de recursos y crecimiento de la raíz, ya que es de gran importancia para la adaptación de la planta a condiciones de sequía (García-Figueroa & Vargas-Hernández, 2000).

Cuadro 3.4. Medias y error estándar del incremento en altura, diámetro basal y raíces nuevas de las diferentes altitudes de *Pinus hartwegii* sometidas a riego y sequía.

Tratamiento/Altitud	Incremento en altura (cm)	Incremento en diámetro (mm)	Raíces nuevas
S1	13.80±0.43 a	7.84±0.104 a	33.79±4.46 b
S2	12.03±0.31 b	7.50±0.105 b	55.54±5.60 a
34 S1	13.50±0.38 ab	7.73±0.14 ab	35.00±8.86 bc
36 S1	12.87±0.53 b	7.74±0.22 ab	54.67±9.22 b
38 S1	15.51±1.05 a	7.80±0.24 a	23.50±7.71 c
40 S1	13.34±1.05 ab	8.08±0.21 a	22.00±2.51 c
34 S2	12.79±0.38 b	7.48±0.24 ab	50.83±14.28 b
36 S2	11.40±0.34 c	7.14±0.08 b	68.33±9.86 a
38 S2	12.38±0.32 b	7.45±0.21ab	36.17±7.22 bc
40 S2	11.55±1.06 bc	7.93±0.17 a	66.86±9.22 a

S1= con riego, S2= sequía, Altitudes: 3400 (34), 3600 (36), 3800 (38) y 4000 (40) m.



Figura 3.4. Crecimiento de las planta de *Pinus hartwegii* de diferente origen altitudinal: 3400 (34), 3600 (36), 3800 (38) y 4000 (40) m, sometidas a dos niveles de humedad: S1= con riego, S2= sequía.

3.6. CONCLUSIONES

Las plantas de *P. hartwegii* de diferentes niveles altitudinales tuvieron respuestas distintas a la condición de sequía aplicada. Las del límite inferior contrarrestaron el impacto de la sequía al consumir menos agua y evitar la caída del potencial hídrico. Las de los otros niveles altitudinales permitieron la caída del potencial hídrico, pero redujeron su crecimiento en altura y modificaron su morfología radical al producir mayor número de raíces nuevas para tener un uso eficiente de agua. A pesar de la alta resistencia a la sequía de *P. hartwegii*, es necesario profundizar sobre estas dos estrategias que mostraron las plantas para poder recomendar planes de conservación que considere programas de migración asistida ante los escenarios del cambio climático.

CONCLUSIÓN GENERAL

Se encontró variación entre las poblaciones de *Pinus hartwegii* en la capacidad germinativa y del crecimiento inicial de plántulas, la semilla fue de buena calidad; independientemente del nivel altitudinal del sitio, excepto en la semilla de los árboles localizados en el sitio de mayor altitud (4100 m) del Nevado de Toluca. En cuanto al crecimiento inicial el rompimiento del estado cespitoso de *Pinus hartwegii* depende de la población y del nivel altitudinal; ya que en las zonas en las que se distribuye esta especie existe una selección diferencial por las diferentes precipitaciones y temperatura, por eso las plántulas con menor tiempo en estado cespitoso presentan mayor crecimiento en altura y mejor formación de yema principal, pero menor crecimiento en diámetro.

Las respuestas ante el déficit hídrico para las plantas con diferentes estado de crecimiento de planta de *Pinus hartwegii* fue diferente; el lento crecimiento y la baja acumulación de biomas por parte de las plantas con estado cespitoso permitieron tener un menor consumo de agua durante el periodo de sequía. La alta resistencia de *Pinus hartwegii* ante la sequía no se vio influenciada por el estado de crecimiento. Hay una gran posibilidad de que estas plantas se encuentren ante un déficit hídrico en sus ecosistemas naturales.

Las plantas de *P. hartwegii* de diferentes niveles altitudinales tuvieron respuestas distintas a la condición de sequía aplicada. Las del límite inferior contrarrestaron el impacto de la sequía al consumir menos agua y evitar la caída del potencial hídrico. Las de los otros pisos altitudinales permitieron la caída del potencial hídrico,

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestra la variabilidad entre procedencias y dentro de estas (en diferentes pisos altitudinales), en cuanto a la calidad de semilla, en el crecimiento y la aceleración de salir del estado cespitoso. *Pinus hartwegii* demostró una gran resistencia a la sequía, aunque el lento crecimiento se mostró en las plantas con estado cespitoso. A nivel general las características fisiológicas y la morfología radical de *P. hartwegii* permitieron tener un uso eficiente de agua para la resistencia a la sequía. Es necesario profundizar sobre estas dos

estrategias que mostraron las plantas para poder recomendar planes de conservación que considere programas de migración asistida ante los escenarios del cambio climático y así mismo predecir su crecimiento y mortalidad en estos entornos naturales, a pesar de su resistencia las plantas con estado cespitoso pueden ser las más afectas en condiciones naturales por su lente crecimiento y por entrar en competencia con las plantas anuales.

LITERATURA CITADA

- Albaugh, T. J., Allen, H. L., Dougherty, P. M., Kress, L. W., & King, J. S. (1998). Leaf area and above- and belowground growth responses of loblolly pine to nutrient and water additions. *Forest Science*, 44, 317–328.
- Alfaro-Ramírez, F. U., Ramírez-Albores, J. E., Vargas-Hernández, J. J., Franco-Maass, S., Pérez-Suárez, M. (2020). Potential reduction of Hartweg's Pine (*Pinus hartwegii* Lindl.) geographic distribution. *Plos One* 15(2): e0229178. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0229178>
- Arriaga, L., & Gómez, L. (2004). Posibles efectos del cambio climático en algunos componentes de la biodiversidad de México. In: Martínez J. y A. Fernández-Bremauntz (comps.). *Cambio Climático: una Visión desde México*. Instituto Nacional de Ecología. SEMARNAT. México, D. F. pp: 255-265.
- Ávila-Flores, I. J., Prieto-Ruíz, J. A., Hernández-Díaz, J. C., Whehenkel, C. A., & Corral-Rivas, J. J. (2014). Preacondicionamiento de *Pinus engelmannii* Carr. mediante déficit de riego en vivero. *Revista Chapingo serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 20(3), 237-245. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2014.02.004>
- Bader, M. Y., Rietkerk, M., & Bregt, A. K. (2007). Vegetation structure and temperature regimes of tropical alpine treelines. *Arctic, Antarctic, and Alpine Research*, 39, 353–364. doi:10.1657/1523-0430(06-055).
- Becerra L., F. (1995). Establishment of *Pinus montezumae* Lamb. In the presence of fire, grass and grazing in the Highland of central Mexico (seedling). Thesi D. For., School of Forestry and Environmental Studies, Yale University. 124 pp.
- Benavides-Meza, H. M., Gazca-Guzmán, M. O., López-López, S. F., Camacho-Morfín, F., Fernández-Grandizo, D. Y., de la Garza-López de Lara, M. del P., & Nepamuceno-Martínez, F. (2011). Crecimiento inicial en plántulas de 12 procedencias de *Pinus hartwegii* Lindl. bajo condiciones de vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 2(5), 73-89. doi 10.29298/rmcf.v2i5.584
- Benowicz, A., L'Hirondelle, S., & El-Kassaby, Y. A. (2001). Patterns of genetic variation in mountain hemlock (*Tsuga mertensiana* (Bong.) Carr.) with respect to height growth and frost hardiness. *Forest Ecology and Management*, 154 (1-2): 23-33. doi: 10.1016/S0378-1127(00)00607-1
- Bonner, F. T. (1993). Análisis de Semillas Forestales. Traducido por D. A. Rodríguez T. Serie de Apoyo Académico N.º 47. *Tree Seed Technology Training Course*. Instructor's Manual. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 35 p.

- Bonner, F. T., Vozzo, J. A., Elam, W. W., & Land, S. B. (1994). *Tree Seed Technology Training Course*. Instructor's Manual. General Technical Report SO-106. USDA Forest Service. New Orleans, Louisiana. 160 p. doi: 10.2737/SO-GTR-106
- Boyer, E. A. (1995). *Measuring the water status of plants and soils*. Academic Press. San Diego, CA. EUA.
- Brockway, D. G., Outcalt, K. W., & Boyer, W. D. (2006). Longleaf pine regeneration ecology and methods. Pages 95–133 in: S. Jose, E.J. Jokela, and D.L. Miller, editors. *The longleaf pine ecosystem: ecology, silviculture, and restoration*. Springer Science+Business Media, LLC, New York, New York, USA. doi: 10.1007/978-0-387-30687-2_4.
- Brodribb, T. J., & Cochard, H. (2009). Hydraulic Failure Defines the Recovery and Point of Death in Water-Stressed Conifers. *Plant Physiology* 149, 575–584.
- Brodribb, T. J., Bowman, D. J., Nichols, S., Delzon, S., Burlett, R. (2010) Xylem function and growth rate interact to determine recovery rates after exposure to extreme water deficit. *New Phytol.* 188(2):533-542. doi:10.1111/j.14698137.2010.03393.
- Campos, J.L. (1993). Claves para la determinación de los pinos mexicanos. *Universidad Autónoma Chapingo*, México 22:70 p.
- Castelán-Muñoz, N., Jiménez-Casas, M., López-Delgado, H. A., CamposGarcía, H., & Vargas-Hernández, J. J. (2015). Familial variation in *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. seedlings in response to drought: water and osmotic potential. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(3), 295-306. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.10.043.
- Castro, J. (2006). Short delay in timing of emergence determines establishment success in *Pinus sylvestris* across microhabitats. *Ann. Bot.* 98, 1233–1240.
- Choat, B., Jansen, S., & Brodribb, T. J. (2012). Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* 491:752–755.
- Cleary, B., Zaerr, J., & Hamel, J. (1998). Guidelines for measuring plant moisture stress with a pressure chamber. Oregon, USA: SPM Instrument Company.
- Cleary, B., Zaerr, J., & Hamel, J. (2003). Guidelines for measuring plant moisture stress with a pressure chamber. <http://www.pmsinstrument.com>. (agosto de 2008)
- Clements, J. R. (1970). Shoot responses of young red pine to watering applied over two seasons. *Can. J. Bot.* 48: 75-80.

- Collins, D. B., Bras, R. L. (2007). Plant rooting strategies in water-limited ecosystems. *Water Resour. Res.* 43, W06407.
- Cooling, E. N. (1968). *Pinus merkusii. Fast growing timber trees of the lowland tropics*; No. 4. Commonwealth Forestry Institute, Oxford. 169 p.
- Coop, J. D., & Givnish, T. J. (2008). Constraints on tree seedling establishment in montane grasslands of the Valles Caldera, New Mexico. *Ecology*, 89, 1101–1111. doi:10.1890/06-1333.1.
- Czabator, F. J. (1962) Germination value: An index combining speed and completeness of pine seed germination. *Forest Science*. 8:386-396. doi: 10.12691/wjar-3-4-4
- Daniel, T. W., Helms, J. A., & Baker, F. S. (1982). *Principios de silvicultura*. McGraw - Hill. México. 492 p.
- Duan, B., Yin, C., & Li, C. (2005). Responses of conifers to drought stress. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 11, 115–122. Obtenido de <http://www.cibj.com/Upload/PaperUpload/ebook/2005/001/27.pdf>.
- Edwards, D. G. W., & El-Kassaby, Y. A. (1995). Douglas-Fir response to seed stratification. *Seed Science & Technology*. 23: 771-778. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/235764810>
- Engelbrecht, B. M. J., Comita, L. S., Condit, R., Kursar, T. A., Tyree, M. T., Turner, B. L. & Hubbell, S. P. (2007) Drought sensitivity shapes species distribution patterns in tropical forests. *Nature* 447, 80–U82.
- Espinoza–Martínez, L.A., Rodríguez–Trejo, D. A., & Zamudio–Sánchez, F.J. (2008). Sinecología del sotobosque de *Pinus hartwegii* dos y tres años después de quemas prescritas. *Agrociencia* 42,6: 717-730. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v42n6/v42n6a11.pdf>
- Espinoza, S. E., Magni, C. R., Martinez, V. A., & Ivkovic, M. (2013). The effect of water availability on plastic responses and biomass allocation in early growth traits of *Pinus radiata* D. Don. *Forest Systems*, 22, 3–14.
- Farquhar, G. D., Ehleringer, J. R., & Hubick, K. T. (1989). Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 40, 503-537.
- Fuchigami, L. H., Hotze, M., & Weiser, C. J. (1977). The relationship of vegetative maturity to rest development and spring budbreak. *Journal of the American Society Horticulture Science*, 102(4): 450-452. Retrieved from <https://eurekamag.com/research/006/751/006751991.php>

- Gaire, N., Dhakal, Y. R., Shah, S. K., Fan, Z.-X., Bräuning, A., Thapa, U. K., Bhandari, S., Aryal, S., & Bhujju, D. R. (2019). Drought (scPDSI) reconstruction of trans-Himalayan region of central Himalaya using *Pinus wallichiana* tree-rings. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.*, 514, 251-264. DOI: [10.1016/j.palaeo.2018.10.026](https://doi.org/10.1016/j.palaeo.2018.10.026)
- García-Figueroa, M., & Vargas-Hernández, J. J. (2000). Growth and biomass allocation of *Gliricidia sepium* seed sources under drought conditions. *J. Sustainable For.* 10: 45-50
- Gernandt, D. S., & Pérez-de la Rosa, J. A. (2014). Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85 (Suplem.), S126–S133. <https://doi.org/10.7550/rmb.32195>
- Gómez J. D., Ramírez, H. C., Jasso, M. J., & López U. J. (2010). Variación en características reproductivas y germinación de semillas de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schldl. & Cham. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33,4: 297-304. Retrieved from <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/33-4/3a.pdf>
- González-Rosales, A., & Rodríguez-Trejo, D. A. (2004). Efecto del chamuscado de copa en el crecimiento en diámetro de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Distrito Federal, México. *Agrociencia*, 38, 537–544. Retrieved from <http://www.fire.unifreiburg.de/GlobalNetworks/MesoAmerica/Research/Chamuscado-Dante.pdf>
- Harsch, M. A., & Bader, M. Y. (2011). Treeline form - a potential key to understanding treeline dynamics. *Global Ecology and Biogeography*, 20, 582–596. doi: 10.1111/j.1466-8238.2010.00622.x.
- Hart, J., O'Keefe, K., Augustine, S. P., McCulloh, K. A. (2019). Physiological responses of germinant *Pinus palustris* and *P. taeda* seedlings to water stress and the significance of the grass-stage. *Forest Ecology and Management*. 458. DOI: 10.1016/j.foreco.2019.117647
- Hernández, A. J. C., Gutiérrez, G. G., Almeida, L. L., & Ordóñez, D. J. A. B. (2005). Análisis dendroclimático de *Pinus hartwegii* en el volcán nevado de Toluca. México. I Simposio Ecología, manejo y conservación de los ecosistemas de montaña en México. Memorias. Laboratorio de Biotecnología y Ecología Aplicada. LABIOTECA. Xalapa, Veracruz, México. Noviembre 17 y 18, 2005. pp: 102-103.
- Hernández-Anguiano, L. A., López-Upton, J., Ramírez-Herrera, C., & Romero-Manzanares, A. (2018). Variación en germinación y vigor de semillas de *Pinus cembroides* y *Pinus orizabensis*. *Agrociencia* 52: 1161-1178. Obtenido de <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n8/1405-3195-agro-52-08-1161-en.pdf>

- Holtmeier, F. K., & Broll, G. (2005). Sensitivity and response of northern hemisphere altitudinal and polar treelines to environmental change at landscape and local scales. *Global Ecology and Biogeography*, 14, 395–410. doi: 10.1111/j.1466-822x.2005.00168.x.
- Iglesias A., L. G., & Tivo F., Y. (2006). Caracterización morfométrica de la población de *Pinus hartwegii* Lindl. del Cofre de Perote, Veracruz, México. *Ra Ximhai* 2(2), 449–468. Retrieved from <http://www.revistas.unam.mx/index.php/rxm/article/view/6883>.
- Jobbágy, E. G., & Jackson, R. B. (2000). Global controls of forest line elevation in the northern and southern hemispheres. *Global Ecology and Biogeography*, 9, 253–268. doi: 10.1046/j.1365-2699.2000.00162.x
- Kolotelo, D., Van-Steenis E., Peterson M., Bennett R., Trotter, D., & Dennis, J. (2001). *Seed Handling Guidebook*. Ministry of Forests, Tree Improvement Branch. British Columbia, Canada. 106 p. Retrieved from <https://www.yumpu.com/en/document/read/20626159/seed-handling-guidebook-ministry-of-forests>
- Körner, C. (1998). A re-assessment of high elevation treeline positions and their explanation. *Oecologia*, 115, 445–459. doi: 10.1007/s004420050540.
- Koskela, L., Kuusipalo, J., & Sirikul, W. (1995). Natural regeneration dynamics of *Pinus merkusii* in northern Thailand. *Forest Ecology and Management* 77: 169-179. doi: 10.1016/0378-1127(95)03571-Q.
- Kramer, P. J. & Boyer, J. S. (1995) *Water Relations of Plants and Soils*. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Kursar, T. A., Engelbrecht, B. M. J., Burke, A., Tyree, M. T., El Omari, B. & Giraldo, J. P. (2009) Tolerance to low leaf water status of tropical tree seedlings is related to drought performance and distribution. *Functional Ecology* 23, 93–102.
- Lloret, F., Casanovas, C., & Peñuelas, J. (1999). Seedling survival of Mediterranean shrub land species in relation to root: shoot ratio, seed size and water and nitrogen use. *Funct. Ecol.* 13, 210–216.
- López-Upton, J., Jasso-Mata, J., Vargas-Hernández, J. J., & Ayala, S. J. C. (1993). Variación de características morfológicas en conos y semillas de *Pinus greggii* Engelm. *Agrociencia. Serie Recursos Naturales Renovables* 1(3), 81-95.
- Lopushinsky, W., & Max, T. A. (1990). Effect of soil temperature on root and shoot growth and on budburst timing in conifer seedling transplants. *New Forests*, 4(2), 107–124. doi: 10.1007/BF00119004.

- Markesteyn, L., Poorter, L. (2009). Seedling root morphology and biomass allocation of 62 tropical tree species in relation to drought- and shade-tolerance. *J. Ecol.* 97, 311–325.
- Martínez-Trinidad, T., Vargas-Hernández, J. J., Muñoz-Orozco, A., & López-Upton, J. (2002). Respuesta al déficit hídrico en *Pinus leiophylla*: Consumo de agua y crecimiento en plántulas de diferentes poblaciones. *Agrociencia*, 36: 365-376.
- Martiñón-Martínez, R. J., Vargas-Hernández, J., López-Upton, J., Gómez- Guerrero, A., & Vaquera-Huerta, H. (2010). Respuesta de *Pinus pincea* Gordon a estrés por sequía y altas temperaturas. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(3), 239–248. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61014249007>.
- Matías, L., & Jump, A. S. (2012). Interactions between growth, demography and biotic interactions in determining species range limits in a warming world: the case of *Pinus sylvestris*. *For. Ecol. Manage.* 282, 10–22.
- Matos, J. A. (1995), “*Pinus hartwegii* and *P. rudis*: A critical assessment”, *Systematic Botany*, vol. 20, pp. 6-21. doi: 10.2307/2419628
- Mirov, N. T. (1967). The genus *Pinus*. New York: The Ronald Press Company. 602 p.
- Moran E., Lauder J., Musser C., Stathos A. & Shu, M. (2017). The genetics of drought tolerance in conifers. *New Phytologist* 216, 4:1034-1048
- Ngugi, M. R., Hunt, M. A., Doley, D., Ryan, P., & Dart, P. (2003). Dry matter production and allocation in *Eucalyptus cloeziana* and *Eucalyptus argophloia* seedlings in response to soil water deficits. *New For.* 26:187-200.
- Niembro R., A., & Fierros, A. M. (1990). Factores ambientales que controlan la germinación de las semillas de pinos. In: *Memoria. Mejoramiento Genético y Plantaciones Forestales*. Centro de Genética Forestal, A. C. Chapingo, México. Pp: 124-144.
- O'Brien, J. J., Hiers, J. K., Callaham, M. A. J., Mitchell, R. J., & Jack, S. B. (2008). Interactions among overstory structure, seedling life-history traits, and fire in frequently burned neotropical pine forests. *Ambio* 37(7), 542–547. doi: 10.1579/0044-7447-37.7.542.
- Oleksyn, J., Reich, P. B., Tjoelker, M. G., & Chalupka, W. (2001). Biogeographic differences in shoot elongation pattern among European Scots pine populations. *For. Ecol. Manage.* 148(1-3): 207-220. doi: 10.1016/S0378-1127(00)00537-5
- Ortega-Mata, A., Mendizábal-Hernández, L., Alba-Landa, J., & Aparicio-Rentería, A. (2003). Germinación y crecimiento inicial de *Pinus hartwegii* Lindl. de siete

poblaciones del Estado de México. *Foresta Veracruzana* 5(2): 29-34. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/497/49750205.pdf>

- Panthi, S., Fan, Z-X., van der Sleen, P., & Zuidema, P. A. (2019). Long-term physiological and growth responses of Himalayan fir to environmental change are mediated by mean climate. *Glob Chang Biol.* 1778-1794. doi: 10.1111/gcb.14910.
- Paula, S., Ojeda, F., (2009). Belowground starch consumption after recurrent severedisturbance in three resprouter species of the genus *Erica*. *Botany-Botanique* 87,253–259.
- Peñuelas, J., Lloret, F., & Montoya, R. (2001). Severe drought effects on Mediterranean woody flora in Spain. *Forest Science* 47: 214-218.
- Perry, D. A. (1984). Commentary on ISTA vigour test committee collaborative trial. *Seed Science Technology*, 12:301–308.
- Prieto-Ruiz J., Almaraz, R. R., Corral, R. J., & Díaz-Vázquez, A. (2012). Efecto del estrés hídrico en *Pinus cooperi* Blanco durante su preacondicionamiento en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 3(12), 19–28. Obtenido de <http://revistas.inifap.gob.mx/index.php/Forestales/article/view/1845/1837#>.
- Rai, S., Dawadi, B., Wang, Y., Lu, X., Ru, H., & Sigdel, S. R. (2019). Growth response of *Abies spectabilis* to climate along an elevation gradient of the Manang valley in the central Himalayas *J. For. Res.* DOI: 10.1007/s11676-019-01011-x
- Rehfeldt, G. E., & Jaquish, B. C. (2010) Ecological impacts and management strategies for western larch in the face of climate-change. *Mitig Adapt Strat Glob Change* 15:283–306
- Repo, T. (1992). Seasonal changes of frost hardiness in *Picea abies* and *Pinus sylvestris* in Finland. *Canadian Journal of Forest Research*, 22: 1949–1957. doi: 10.1139/x92-254
- Ricker, M., Gutiérrez-García, G., & Daly, D. C. (2007). Modeling long-term tree growth curves in response to warming climate: Test cases from a subtropical mountain forest and a tropical rainforest in México. *Canadian Journal of Forest Research*, 37, 977–989. doi: 10.1139/X06-304
- Ritchie, G. A., & Landis, T. D. (2010). Assessing plant quality. Seedling processing, storage and outplanting. Washington, DC, USA: US Department of Agriculture Forest Service.

- Rodríguez-Trejo D. A. (2001). Ecología del fuego en el ecosistema de *Pinus hartwegii* Lindl. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 7(2): 145-151. Obtenido de <https://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2010/08/rodriguez-2001.pdf>
- Rook, D. A., Swanson, R. H., & Cranswick, A. M. (1977). Reaction of Radiata Pine to Drought. In *Proceedings of Soil and Plant Water Symposium* (pp. 55–68). Wellington, New Zealand: New Zealand Department of Scientific and Industrial Research Information Series No. 126. Department of Scientific and Industrial Research.
- Sáenz-Romero, C., Guzmán-Reyna, R., & Rehfeldt, G. E. (2006). Altitudinal genetic variation among *Pinus oocarpa* populations in Michoacán, México; implications for seed zoning, conservation of forest genetic resources, tree breeding and global warming. *For Ecol Manag* 229:340–350
- Sáenz-Romero, C., Rehfeldt, G. E., Crookston, N.L., Duval, P., St-Amant, R., Beaulieu, J., & Richardson, B. A. (2009). Spline models of contemporary, 2030, 2060 and 2090 climates for Mexico and their use in understanding climate-change impacts on the vegetation. *Climatic Change*. In press. DOI 10.1007/s10584-009-9753-5.
- Samuelson, L. J., Seiler, J. R. (1993). Interactive role of elevated CO₂, nutrient limitations, and water stress in the growth responses of red spruce seedlings. *For. Sci.* 39:348-358.
- Sánchez-Salguero, R., Navarro-Cerrillo, R. M., Swetnam, T. W., Zavala, M. A., 2012. Is drought the main decline factor at the rear edge of Europe? The case of southern Iberian pine plantations. *For. Ecol. Manage.* 271, 158–169.
- Scholander, P. F., Hammel, H. T., Bradstreet, E. D., & Hemmingsen, E. (1965). Sap pressure in vascular plants. *Science*, 148, 339–346. doi: 10.1126/science.148.3668.339
- Sokal, R. R., & Rohlf, F. J. (1981). *Biometry: The Principles of Practice of Statistics in Biological Research*. W. H. Freeman and Company. San Francisco. 776 p.
- Sung, S. S., Dumroese, R. K., Pinto, R. J., & Sayer, S. A. (2019). The persistence of container nursery treatments on the field performance and root system morphology of longleaf pine seedlings. *Forests*, 10(9), 807. doi: 10.3390/f10090807
- Susiluoto, S., & Berninger, F. (2007). Interactions between morphological and physiological drought responses in *Eucalyptus microtheca*. *Silva Fenn.* 41:221-229.
- Tardieu, F., & Simonneau, T. (1998). Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* 49: 419– 432.

- Tejeda-Landero, V. M., Sánchez-Velásquez, L. R., Viveros-Viveros, H., Aparicio-Rentería, A., & Flores-Peredo, R. (2019). Seed bank formation and removal of *Pinus hartwegii* (pinaceae) seeds along an altitudinal gradient in the Cofre de Perote national park, Veracruz, Mexico. *Botanical Sciences*, 97(4), 623-629. doi:10.17129/botsci.2204.
- Valladares, F., Matesanz, S., Guilhaumon, F., Araujo, M. B., Balaguer, L., Benito-Garzon, M., Cornwell, W., Gianoli, E., van Kleunen, M., Naya, D. E., Nicotra, A. B., Poorter, H. & Zavala, M. A. (2014). The effects of phenotypic plasticity and local adaptation on forecasts of species range shifts under climate change. *Ecol Lett* 17:1351–1364
- Villar, S. P., Pañuelas, J. L., & Jacobs, D. F. (2013). Nitrogen nutrition and drought hardenin exert opposite effects on the stress tolerance of *Pinus pinea* L. seedlings. *Tree Physiology* 33:221-232.
- Villar, R., Ruiz-Robledo, J., Quero, J. L., Poorter, H., Valladares, F., & Marañon, F. (2004). Tasas de crecimiento en especies leñosas: aspectos funcionales e implicaciones ecológicas. In: F. Valladares (Ed.). *Ecología del Bosque Mediterráneo en un Mundo Cambiante*. Ministerio de Medio Ambiente, EGRAF, S.A. Madrid, España pp. 191-227. Obtenido de <https://digital.csic.es/bitstream/10261/47933/1/Tasas%20de%20crecimiento%20en%20especies%20le%C3%B1osas.pdf>
- Villar, S. P., Pañuelas, J. L., & Jacobs, D. F. (2013). Nitrogen nutrition and drought hardenin exert opposite effects on the stress tolerance of *Pinus pinea* L. seedlings. *Tree Physiology* 33:221-232.
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., Ramírez-Valverde, G., & Santacruz-Varela, A. (2009). Altitudinal genetic variation in *Pinus hartwegii* Lindl.: Height growth, shoot phenology and cold damage in seedlings. *Forest Ecology and Management*, 257, 836–842. doi: 10.1016/j.foreco.2008.10.021
- Viveros-Viveros, H., Sáenz-Romero, C., López-Upton, J., & Vargas-Hernández, J. J. (2007). Growth and frost damage variation among *Pinus pseudostrobus*, *P. montezumae* and *P. hartwegii* tested in Michoacán, México. *Forest Ecology and Management* 253, 81-88. doi: 10.1016/j.foreco.2007.07.005
- Viveros-Viveros, H., & Vargas-Hernández, J. J. (2007). Dormancia en yemas de especies forestales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 13: 131-135. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/629/62913206.pdf>
- Verdú, M., Traveset, A. (2005). Early emergence enhances plant fitness: a phylogenetically controlled meta-analysis. *Ecology* 86, 1385–1394.

- Wahlenberg, W. G. (1946). Longleaf pine: Its use, ecology, regeneration, protection, growth and management. C.L. Pack Forestry Foundation and USDA Forest Service, Washington, DC.
- Wang, W., Jia, M., Wang, G., Zhu, W., & McDowell, N. G. (2017). Rapid warming forces contrasting growth trends of subalpine fir (*Abies fabri*) at higher- and lower-elevations in the eastern Tibetan plateau Forest Ecol. Manage., 402, 135-144. DOI: [10.1016/j.foreco.2017.07.043](https://doi.org/10.1016/j.foreco.2017.07.043)
- Watt, M. S., Whitehead, D., Mason, E. G., Richardson, B., & Kimberley, M. O. (2003). The influence of weed competition for light and water on growth and dry matter partitioning of young *Pinus radiata*, at a dryland site. Forest Ecology and Management, 183, 363–376.
- Wu, Y., Ballif, J., & Huang, B. (2006). Molecular mechanisms in hormonal regulation of drought tolerance. In: Huang, B. (ed). Plant-environmental interactions. Taylor & Francis Group, New York, pp 101-120.
- Yuxiu, Z., Zi, W., & Jin, X. (2007). Molecular mechanism of dehydrin in response to environmental stress in plants. Progress in Natural Science 17: 237– 246.