

Hardening of *Pinus oaxacana* Mirov seedlings under irrigation management in nursery

Endurecimiento de plántulas de *Pinus oaxacana* Mirov con manejo del riego en vivero

María L. Ávila-Angulo; Arnulfo Aldrete*; J. Jesús Vargas-Hernández; Armando Gómez-Guerrero; Víctor A. González-Hernández; Alejandro Velázquez-Martínez

Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. km 36.5 Carretera México-Texcoco. C. P. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

*Corresponding author: aaldrete@colpos.mx Tel.: 52+ (595) 1011774

Abstract

Introduction: Plants should undergo a hardening process in the nursery to improve the survival of forest plantations in degraded areas.

Objective: The effect of three levels of irrigation was evaluated in the hardening stage on some morphological and physiological variables of *Pinus oaxacana*.

Materials and methods: The treatments evaluated were three levels of irrigation and a control treatment. Irrigation was performed when the containers reduced their saturation weight by 30 % (frequent), 40-45 % (medium) and 45-50 % (low); in the control treatment, irrigation was applied every two or three days. The study used a randomized complete block design; each treatment consisted of 100 plants.

Results and discussion: Morphological indicators with significant differences ($P \leq 0.05$) among treatments were root collar diameter, shoot dry weight, and total dry weight. The physiological indicators using the root growth potential test showed no significant differences. Plants with frequent irrigation had greater diameter, shoot dry weight, and total dry weight.

Conclusion: A reduction of irrigation between 30 to 45 % in *P. oaxacana* allows the production of hardened plants, with greater possibility of success at the time of transplantation in the field.

Keywords: water stress, root growth potential, seedling quality, irrigation frequency.

Resumen

Introducción: Las plantas deben someterse a un proceso de endurecimiento en el vivero para mejorar la supervivencia de las plantaciones forestales en áreas degradadas.

Objetivo: El efecto de tres niveles de riego se evaluó en la etapa de endurecimiento sobre algunas variables morfológicas y fisiológicas de *Pinus oaxacana*.

Materiales y métodos: Los tratamientos evaluados fueron tres niveles de riego más un testigo. El riego se realizó cuando los tubetes reducían su peso de saturación 30 % (frecuente), 40 a 45 % (medio) y 45 a 50 % (escaso); en el testigo, el riego se aplicó cada dos o tres días. El experimento se estableció en un diseño de bloques completos al azar; cada tratamiento constó de 100 plantas.

Resultados y discusión: Los indicadores morfológicos con diferencias significativas ($P \leq 0.05$) entre tratamientos fueron diámetro del cuello de la raíz, peso seco de vástago y peso seco total. Los indicadores fisiológicos mediante la prueba de potencial de crecimiento de raíz no presentaron diferencias significativas. Las plantas con riego frecuente obtuvieron el mayor diámetro, peso seco del vástago y peso seco total.

Conclusión: Una reducción del riego entre 30 a 45 % en *P. oaxacana* permite la producción de plantas endurecidas, con mayor posibilidad de éxito al momento de su trasplante en campo.

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

Introduction

The degradation of forests has generated large areas with intense and frequent disturbances, which causes fragility to the ecosystems and removes the possibility of the vegetation recovering its original condition by natural means (Vilagrosa et al., 2005). For these reasons, it is essential to apply practices such as afforestation, reforestation and soil conservation (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2010).

The result of reforestation at degraded sites depends on site environmental conditions and seedling quality at the time of planting (Duryea, 1985; Grossnickle, 2005). The quality of the plant is the result of genetic, morphological and physiological attributes, and the health condition of the propagules used in reforestation (Birchler, Rose, Royo, & Pardos, 1998).

In the case of nursery production, hardening is the most important phase since the plant decreases growth in height and roots, but increases in diameter (Landis, 2013), which confers resistance to drought and frost events. There are four ways of manipulating the hardening process: reduction in the amount of ammoniacal nitrogen, frequency of watering, photoperiod and exposure of the plants to high and low temperatures (Grossnickle, 2012; Landis, 2013).

The aim of this study was to evaluate the effect of three levels of irrigation in the hardening stage on the quality of *Pinus oaxacana* Mirov, through morphological response (height, diameter, accumulation of biomass and Dickson quality index) and physiological response (root growth potential) of plants grown under nursery conditions. In this study, it was considered that hardening shows a greater ability to form roots in the field and, consequently, greater capacity to avoid water stress, maximum resistance to environmental stress and functional integrity.

Materials and Methods

The study was carried out inside a greenhouse at Posgrado en Ciencias Forestales of Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, Estado de México (19° 28' 26" N - 98° 53' 42.18" W and altitude of 2,240 m). The germplasm bank "El Vergel", located in the city of Puebla, provided the seed of *P. oaxacana* that was used in the sowing. The seed lot, which had 98 % purity and 80 % germination, was collected in 2010 in Perote, Veracruz. Sowing took place in the second half of October 2011; the substrate was a conventional mixture of peat moss, perlite and vermiculite in a 60:20:20 volume ratio, added with controlled release fertilizer (Osmocote® Plus) at a dose of 7 kg·m⁻³. Black individual containers with a volume of 220 mL and

Introducción

La degradación de los bosques ha generado grandes áreas con disturbios intensos y recurrentes, lo cual ocasiona fragilidad a los ecosistemas y elimina la posibilidad de que la vegetación recupere su estado original por medios naturales (Vilagrosa et al., 2005). Por dichas razones es indispensable la aplicación de prácticas como la forestación, reforestación y conservación de suelos (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2010).

El resultado de la reforestación en sitios degradados depende de las condiciones ambientales del sitio y de la calidad de la planta al momento de la plantación (Duryea, 1985; Grossnickle, 2005). La calidad de la planta es el resultado de los atributos genéticos, morfológicos y fisiológicos, y del estado sanitario de los propágulos utilizados en la reforestación (Birchler, Rose, Royo, & Pardos, 1998).

En la producción en vivero, el endurecimiento es la fase más importante ya que la planta detiene el crecimiento en altura y en raíces, pero aumenta en diámetro (Landis, 2013), lo que confiere resistencia a eventos de sequía y heladas. Existen cuatro formas de manipular el proceso de endurecimiento: la reducción en la cantidad de nitrógeno amoniacal, la frecuencia de los riegos, el fotoperiodo y la exposición de las plantas a temperaturas altas y bajas (Grossnickle, 2012; Landis, 2013).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de tres niveles de riego en la etapa de endurecimiento sobre la calidad de *Pinus oaxacana* Mirov, a través de la respuesta morfológica (altura, diámetro, acumulación de biomasa e índice de calidad de Dickson) y fisiológica (potencial de crecimiento de raíz) de la planta producida en vivero. En el presente trabajo se consideró que el endurecimiento presenta una mayor capacidad de formar raíces en campo y, en consecuencia, mayor capacidad para evitar el estrés hídrico, máxima resistencia al estrés ambiental e integridad funcional.

Materiales y métodos

El estudio se realizó en los invernaderos del Posgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados-Campus Montecillo, Estado de México (19° 28' 26" LN - 98° 53' 42.18" LO y altitud de 2,240 m). El banco de germoplasma "El Vergel", ubicado en la ciudad de Puebla, proporcionó la semilla de *P. oaxacana* que se utilizó en la siembra. El lote de semilla, el cual presentaba 98 % de pureza y 80 % de germinación, se colectó en el año 2010 en Perote, Veracruz. La siembra se realizó en la segunda quincena del mes de octubre de 2011; el sustrato fue una mezcla convencional de turba de musgo, perlita y vermiculita en proporción

lateral openings were used, which were placed in a tray with 25 cavities.

Seedlings grew for nine months, before applying the hardening treatments. Plant nursery management included light irrigation (1 to 3 cm depth) per day for six weeks, and then heavy irrigation (to saturation) every two days during the rapid growth stage. In addition to controlled release fertilization, soluble fertilizer (Peters®) was applied once a week in irrigation water. In the fast-growing stage, the formulation 20-20-20 was used in doses of 70 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ of nitrogen, 62.5 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ of phosphorus and 77.5 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ of potassium.

The effect of hardening by reduction of irrigation was evaluated from July 2, 2012 on 1,600 plants. The treatments were three levels of irrigation (frequent, medium and low) and the control treatment. In the treatment of frequent (F) level, irrigation was applied when the weight of the container was reduced 30 % with respect to the weight of saturation; in the treatment of medium (M) irrigation, when the weight of the container was reduced between 40 and 45 %; and in the case of low irrigation, when the container lost 46 to 50 % of the weight; in the control treatment (T), irrigation was applied every 48 to 72 h, to maintain a moisture content in the substrate close to field capacity. The treatments were maintained in that condition for eight weeks.

The weight of the container at field capacity was determined before starting the experiment. All the trays with the containers were irrigated at field capacity and weighed on a digital scale. With the data obtained, the mean and its 95 % confidence interval were calculated per treatment per replicate. From these data, we estimated the weight range equivalent to the loss of 30 %, 40 to 45 % and 46 to 50 %.

The weight of two trays with the containers, per treatment per replicate, was monitored daily to determine the loss of moisture and to define the moment of irrigation per treatment. During irrigation, the trays with the containers were irrigated and then weighed, and if they did not reach the weight at field capacity, they were watered again. The average weight range of the 25 containers at field capacity was 4,221 to 4,617 g with an average of 4,419 g. The weight of the 25 containers when they lost 30 % ranged from 2,915 g to 3,331 g; when they lost between 40 and 45 % ranged from 2,159 g to 2,769 g; and when the loss was 50 %, the weight ranged from 2,000 g to 2,396 g.

Assessment of the morphological characteristics

After the hardening period, eight weeks after starting the treatments two recovery irrigations were applied.

60:20:20 en volumen, adicionada con fertilizante de liberación controlada (Osmocote® Plus) a una dosis de 7 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$. Los envases fueron tubetes individuales de color negro con volumen de 220 mL y aberturas laterales, los cuales estaban colocados en mesas portatubetes de 25 cavidades.

Las plántulas crecieron durante nueve meses, antes de aplicar los tratamientos de endurecimiento. El manejo de planta en vivero incluyó riegos ligeros (1 a 3 cm de profundidad) diarios durante seis semanas, y después riegos pesados (a saturación) cada dos días durante la etapa de crecimiento rápido. Complementariamente a la fertilización de liberación controlada, se aplicó fertilizante soluble (Peters®) una vez por semana en el agua de riego. En la etapa de crecimiento rápido se utilizó la formulación 20-20-20 en dosis de 70 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ de nitrógeno, 62.5 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ de fósforo y 77.5 $\mu\text{L}\cdot\text{L}^{-1}$ de potasio.

El efecto de endurecimiento por reducción del riego se evaluó a partir del 2 de julio de 2012 en 1,600 plantas. Los tratamientos fueron tres niveles de riego (frecuente, medio y escaso) y el testigo. En el tratamiento de nivel frecuente (F), el riego se aplicó cuando el peso del contenedor se redujo 30 % con respecto al peso de saturación; en el tratamiento de riego medio (M), cuando el peso del contenedor se reducía entre 40 y 45 %; y en el de riego escaso, cuando el tubete perdió 46 a 50 % del peso; en el tratamiento testigo (T), el riego se aplicó cada 48 a 72 h, para mantener un contenido de humedad en el sustrato cercano a capacidad de campo. Los tratamientos se mantuvieron en esa condición durante ocho semanas.

El peso del tubete a capacidad de campo se determinó antes del inicio del experimento. Para ello, todas las mesas portatubetes se regaron a capacidad de campo y se pesaron en una báscula digital. Con los datos obtenidos se calculó la media y su intervalo de confianza al 95 % por tratamiento por repetición. A partir de estos datos se estimó el rango de peso equivalente a la pérdida de 30 %, 40 a 45 % y 46 a 50 %.

El peso de dos mesas portatubetes, por tratamiento por repetición, se monitoreó diariamente para determinar la pérdida de humedad y definir el momento del riego por tratamiento. Durante la actividad de riego, las mesas portatubetes se regaban y después se pesaban, y si no alcanzaban el peso a capacidad de campo se regaban nuevamente. El rango del peso promedio de los 25 tubetes a capacidad de campo fue de 4,221 a 4,617 g con una media de 4,419 g. El peso de los 25 tubetes cuando perdieron 30 % osciló entre 2,915 g a 3,331 g; cuando perdieron entre 40 a 45 % de peso fue de 2,159 g a 2,769 g; y cuando la pérdida fue de 50 %, el peso varió entre 2,000 g a 2,396 g.

Consisting of watering at field capacity leaving a period of two days to let the plants recover from the stress generated by irrigation from weeks ago. A random sample of 12 plants per treatment per block was selected from the central part of the plots and the total height and diameter of the root collar were measured. In each plant, the substrate was removed from the root using tap water in abundance and being careful not to damage the structure. Then the shoot was separated of the radical part with a cut at the collar of the root. Samples were placed in a drying oven at a temperature of 70 °C for 72 h to determine the dry weight of the shoot and root, and the total dry weight of the plant. With the data collected, the sturdiness quotient (plant height and diameter ratio), shoot/root ratio (RPAR) and the Dickson quality index (DQI) were calculated using the following equation (Dickson, Leaf, & Hosner, 1960):

$$DQI = \frac{TDW}{(\text{height} / \text{diameter}) + (SDW / RDW)}$$

where:

TDW = Total dry weight (g)

SDW = Shoot dry weight (g)

RDW = Root dry weight (g)

Height was expressed in centimeters and diameter in millimeters.

Root growth potential

The root growth potential (RGP) test consisted in placing a random sample of plants in a favorable controlled environment to promote rapid root growth. The sample size was 12 plants per treatment. The plants were transplanted in pots with a capacity of 10 L using a substrate of bark and perlite in a ratio of 70:30; at the time of transplantation, all white roots were cut. The plants were kept for 40 days in the greenhouse with daily irrigations. The arrangement of the pots was random. At 40 days, the plants were removed from the pots for careful washing of the roots and their measurement. The variables measured were: total number (TN), total length (TL) and dry weight of new roots (DWNR) in growth. The new roots were identified by the white color and only those that had a length greater than 1 cm were considered.

Experimental design and statistical analysis

The experiment was set up in randomized complete blocks design, in four growth beds; each bed was considered a block. Each treatment consisted of 100 plants per block, which were placed on four tables. The data was subjected to a variance analysis (ANDEVA) using the PROC GLM procedure with SAS software

Evaluación de características morfológicas

Después del periodo de endurecimiento, a las ocho semanas del inicio de los tratamientos, se aplicaron dos riegos de recuperación. Estos consistieron en regar a capacidad de campo dejando un periodo de dos días, con la finalidad de que las plantas se recuperaran del estrés generado por el manejo del riego semanas atrás. Posteriormente se seleccionó una muestra al azar de 12 plantas por tratamiento por bloque, de la parte central de las parcelas, y se midieron la altura total y el diámetro del cuello de la raíz. En cada planta, el sustrato se retiró de la raíz con agua corriente en abundancia y con cuidado de no dañar la estructura. Luego la parte aérea se separó de la radical con un corte a la altura del cuello de la raíz. Las muestras se colocaron en un horno de secado a una temperatura de 70 °C durante 72 h para determinar el peso seco de la parte aérea y de la raíz, y el peso seco total de la planta. Con los datos recabados se calcularon el índice de esbeltez (relación entre la altura de la planta y el diámetro), la relación vástago/raíz (RPAR) y el índice de calidad de Dickson (ICD) con la siguiente ecuación (Dickson, Leaf, & Hosner, 1960):

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

donde:

PST = Peso seco total (g)

PSA = Peso seco vástago (g)

PSR = Peso seco raíz (g)

La altura se expresó en centímetros y el diámetro en milímetros.

Potencial de crecimiento de raíz

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

version 9.0 (Statistical Analysis System [SAS], 2002). The statistical model used for the design of completely randomized blocks with subsampling is as follows:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} + \delta_{ijk}$$

where:

y_{ij} = Response variables (height, diameter, shoot dry weight, root dry weight, total dry weight, sturdiness quotient, shoot/root ratio, Dickson index, total number of new roots, total length of new roots and dry weight of new roots)

μ = general mean

τ_i = effect of the j -th treatment

β_j = effect of the i -th block

ε_{ij} = error associated with treatment j in block i

δ_{ijk} = error associated with subsampling of the treatment j in block i subsampling k

i = block 1, 2, 3, 4

j = irrigation levels: control treatment, frequent, medium and low.

k = subsampling 1, 2, 3, 4..., 12.

Significant differences were considered when $P \leq 0.05$. The Tukey's test was used to determine the least significant difference among treatments. The sturdiness quotient, shoot/root ratio and Dickson index were transformed with the sine-arc function for data normalization. In the case of the variables of the RGP, a linear regression was also made to find the trend of the data.

Results and discussion

Morphology of *Pinus oaxacana* under different levels of irrigation

Hardening treatments with different levels of irrigation showed significant differences ($P \leq 0.05$) in the variables diameter, shoot dry weight and total dry weight (Table 1). The control and frequent irrigation treatments (reduction of 30 % with respect to saturation weight) had the highest values in diameter, shoot and total dry weight. In contrast, the plants with low irrigation treatment had the lowest values of diameter and total dry weight. In all treatments there were values of DQI near 1, which indicates balance between the shoot and radical part of the plant.

The response of the plants to the different levels of irrigation in the nursery was related to the availability of water; to greater amount of water available, greater diameter and biomass, while the growth of the root was not reduced. This contradicts the results of Villar-Salvador, Peñuelas-Rubira, and Jacobs (2013), who report that the plants of *Pinus pinea* L. reduced

Diseño experimental y análisis estadístico

El experimento se estableció en bloques completos al azar, en cuatro camas de crecimiento; cada cama se consideró un bloque. Cada tratamiento constó de 100 plantas por bloque, las cuales se colocaron en cuatro mesas portatubetes. Los datos se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el procedimiento PROC GLM con el programa SAS versión 9.0 (Statistical Analysis System [SAS], 2002). El modelo estadístico utilizado para el diseño de bloques completamente al azar con submuestreo es el siguiente:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij} + \delta_{ijk}$$

donde:

y_{ij} = Variables respuesta (altura, diámetro, peso seco aéreo, peso seco de raíz, peso seco total, índice de esbeltez, relación parte vástago/raíz, índice de Dickson, número total de raíces nuevas, longitud total de raíces nuevas y peso seco de raíces nuevas)

μ = media general

τ_i = efecto del j -ésimo tratamiento

β_j = efecto del i -ésimo bloque

ε_{ij} = error asociado al tratamiento j en el bloque i

δ_{ijk} = error asociado al submuestreo al tratamiento j en el bloque i submuestro k

i = bloque 1, 2, 3, 4

j = niveles de riego: testigo, frecuente, medio y escaso.

k = submuestreo 1, 2, 3, 4..., 12.

Las diferencias significativas se consideraron cuando $P \leq 0.05$. La prueba de Tukey se usó para determinar la diferencia mínima significativa entre tratamientos. Las variables índices de esbeltez, relación vástago/raíz e índice de Dickson se transformaron con la función arco seno para la normalización de los datos. En el caso de las variables del PCR se hizo además una regresión lineal para encontrar la tendencia de los datos.

Resultados y discusión

Morfología de *Pinus oaxacana* bajo distintos niveles de riego

Los tratamientos de endurecimiento con distintos niveles de riego presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en las variables diámetro, peso seco aéreo y total (Cuadro 1). Los tratamientos testigo y de riego frecuente (reducción de 30 % respecto a peso de saturación) tuvieron los mayores valores en diámetro, peso seco aéreo y total. En contraste, las plantas con tratamiento de riego escaso tuvieron los valores menores de diámetro y peso seco total. En todos los tratamientos hubo valores de ICD cercanos a 1, lo cual indica balance entre la parte aérea y radical de la planta.

Table 1. Morphological characteristics of *Pinus oaxacana* plants submitted to different levels of irrigation as hardening treatments.**Cuadro 1. Características morfológicas de plantas de *Pinus oaxacana* sometidas a distintos niveles de riego como tratamientos de endurecimiento.**

Irrigation level/ Nivel de riego	Height (cm)/ Altura (cm)	Diameter (mm)/ Diámetro (mm)	Dry weight (g)/Peso seco (g)			SRR/ RPAR	Sturdiness quotient/ Índice de esbeltez	DQI/ ICD
			Shoot/ Vástago	Root/ Raíz	Total			
Frequent/ Frecuente	29.4 ± 2.9 a	6.5 ± 0.1 a	7.5 ± 0.6 a	2.3 ± 0.1 a	9.8 ± 0.6 a	3.4 ± 0.2 a	4.6 ± 0.4 a	1.3 ± 0.1 a
Medium/ Medio	26.7 ± 1.4 a	6.1 ± 0.2 bc	7.1 ± 0.3 ab	2.0 ± 0.3 a	9.1 ± 0.6 ab	3.6 ± 0.3 a	4.5 ± 0.3 a	1.2 ± 0.1 a
Low/ Escaso	26.4 ± 1.5 a	5.9 ± 0.2 c	6.4 ± 0.4 b	2.0 ± 0.2 a	8.4 ± 0.7 b	3.3 ± 0.3 a	4.6 ± 0.2 a	1.1 ± 0.2 a
Control/ Testigo	28.9 ± 3.0 a	6.3 ± 0.2 ab	7.5 ± 0.3 a	2.2 ± 0.2 a	9.6 ± 0.5 a	3.6 ± 0.3 a	4.7 ± 0.6 a	1.2 ± 0.1 a

Frequent, medium and low irrigations were applied when there was reduction of 30 %, 40 to 45 % and 46 to 50 %, respectively, with respect to the saturation weight. SRR = Shoot/root ratio. DQI = Dickson Quality Index. Means with different letters in a column are statistically different (Tukey $P \leq 0.05$).

Los riegos frecuente, medio y escaso se aplicaron cuando hubo reducción de 30 %, 40 a 45 % y 46 a 50 %, respectivamente, con relación al peso de saturación. RPAR = Relación parte vástago/raíz. ICD = Índice de calidad de Dickson. Medias con distinta letra en una columna son diferentes estadísticamente (Tukey $P \leq 0.05$).

the growth of the root, because it was inhibited with water stress by the growth of the shoot. Other species have shown similar results in the shoot and total dry weight as a response to severe water stress, because as it increases there is less production of total biomass. This may be due to the fact that drought affects the elasticity of the cell wall, as in the case of *Eucalyptus globulus* Labill. (Coopman, Jara, Escobar, Corcuera, & Bravo, 2010; Pita & Pardos, 2001). In contrast, in *Pinus halepensis* Mill. (Royo, Gil, & Pardos, 2001) and *Quercus ilex* L. (Planelles-González, Villar-Salvador, Oliet-Palá, & López-Arias, 2004; Villar-Salvador et al., 2004), water stress did not affect the shoot/root ratio; that is, it did not have an effect on the equilibrium of the plant. In *P. oaxacana*, white roots were generated in the event of water stress, because it is found in regions with dry and cold climates. This species has developed adaptation mechanisms such as the rapid emission of white roots to ensure the absorption of water and nutrients, and the plant may present stomatal closure in the cells of the needles to avoid water loss (Valladares et al., 2008).

Root growth potential of *Pinus oaxacana* under different levels of irrigation

The RGP test showed no significant difference ($P > 0.05$) between irrigation treatments. The correlation between the level of irrigation and the production of new roots is high; when the level of irrigation is low, the production of white roots decreases. The variability among the data, as shown in Figure 1, is influenced by the high value of the coefficient of variation in the variables total number of roots (0.10), total root length (10.82) and dry weight of white roots (0.17), therefore, it is not possible to conclude which one is the treatment that promotes a greater regeneration of roots. In

La respuesta de las plantas a los distintos niveles de riego en el vivero se relacionó con la disponibilidad de agua; a mayor cantidad de agua disponible, mayor diámetro y biomasa, mientras que el crecimiento de la raíz no se redujo. Esto contradice los resultados de Villar-Salvador, Peñuelas-Rubira, y Jacobs (2013), quienes reportan que las plantas de *Pinus pinea* L. redujeron el crecimiento de la raíz, debido a que fue inhibida con el estrés hídrico por el crecimiento de la parte aérea. En otras especies se han encontrado resultados similares en el peso seco del vástago y total como respuesta al estrés hídrico severo, pues a medida que éste aumenta hay menor producción de biomasa total. Esto se puede deber a que la sequía afecta la elasticidad de la pared celular, como en el caso de *Eucalyptus globulus* Labill. (Coopman, Jara, Escobar, Corcuera, & Bravo, 2010; Pita & Pardos, 2001). En cambio, en *Pinus halepensis* Mill. (Royo, Gil, & Pardos, 2001) y *Quercus ilex* L. (Planelles-González, Villar-Salvador, Oliet-Palá, & López-Arias, 2004; Villar-Salvador et al., 2004), el estrés hídrico no afectó la relación parte aérea/raíz; es decir, no presentó un efecto en el equilibrio de la planta. En *P. oaxacana* se generaron raíces blancas ante un evento de estrés hídrico, debido a que se encuentra en regiones con climas seco y frío. Esta especie ha desarrollado mecanismos de adaptación como la emisión rápida de raíces blancas para asegurar la absorción de agua y nutrientes, además, la planta puede presentar cierre estomático en las células de las acículas para evitar la pérdida de agua (Valladares et al., 2008).

Potencial de crecimiento de raíz de *Pinus oaxacana* bajo distintos niveles de riego

La prueba de PCR no mostró diferencia significativa ($P > 0.05$) entre los tratamientos de riego. La correlación

general, in all treatments, the number of roots emitted on average was greater than 100 and it is inferred that there was a positive response in *P. oaxacana* at all levels of irrigation.

In a similar study with *Q. ilex*, the highest root biomass was present in the control treatment, while in low, medium and severe water stress levels (40, 45 and 50 % weight loss from saturation) there was no difference ($P \leq 0.05$) in the number of roots emitted (Villar-Salvador et al., 2004). In some conifers such as *P. halepensis*, the average root yield between treatments was 30 to 42 per plant, and the length varied between 80 and 100 cm; the response to water stress did not differ ($P \leq 0.05$) among treatments, except for the treatment with severe stress (Villar-Salvador et al., 1997). In both cases, the response in the formation of new roots at maximum stress was negative.

entre el nivel de riego y la producción de nuevas raíces es alta; cuando el nivel de riego es escaso, la producción de raíces blancas disminuye. La variabilidad entre los datos, como se puede observar en la Figura 1, está influenciada por el alto valor del coeficiente de variación en las variables número total de raíces (0.10), longitud total de raíces (10.82) y peso seco de raíces blancas (0.17), por lo tanto, no es posible concluir cual es el tratamiento que promueve una mayor regeneración de raíces. De manera general, en todos los tratamientos, el número de raíces emitidas en promedio fue mayor de 100 y se infiere que existió una respuesta positiva en *P. oaxacana* en todos los niveles de riego.

En un trabajo similar con *Q. ilex*, la mayor biomasa de raíces se presentó en el testigo, mientras que en los niveles de estrés hídrico bajo, medio y severo (40, 45 y 50 % de pérdida de peso desde la saturación) no hubo

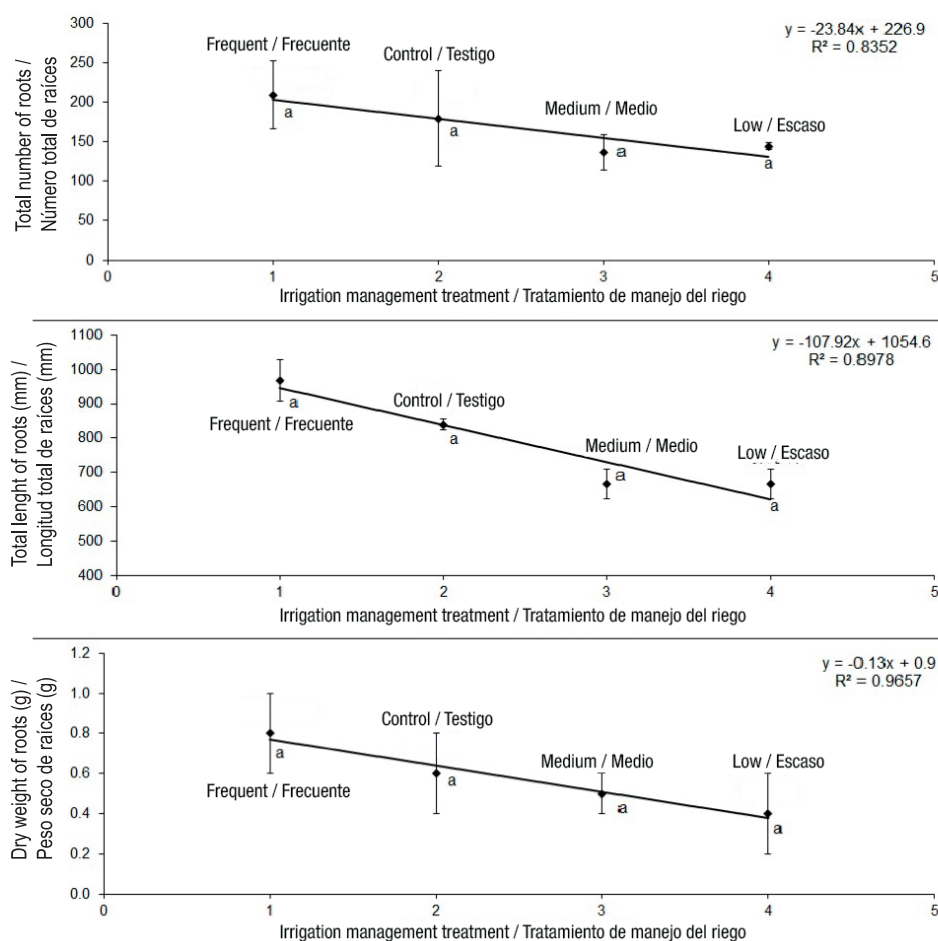


Figure 1. Production, length and dry weight root in *Pinus oaxacana* plants with different levels of irrigation. Frequent, medium and low irrigations were applied when there was reduction of 30 %, 40 to 45 % and 46 to 50 %, respectively, with respect to the saturation weight. Bars with different letter are statistically different (Tukey, $P \leq 0.05$).

Figura 1. Producción, longitud y peso seco de raíces en plantas de *Pinus oaxacana* con distintos niveles de riego. Los riegos frecuente, medio y escaso se aplicaron cuando hubo reducción de 30 %, 40 a 45 % y 46 a 50 %, respectivamente, con relación al peso de saturación. Barras con distinta letra son estadísticamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$).

In contrast to the results obtained from the water stress hardening activity, there is no effect on the ability to regenerate the root system, one of the causes may be the intensity and time of hardening (Grossnickle, 2005). Emission of new roots is sensitive to the history of drought stress experienced by the seedling (Tinus, 1996).

In this test it was expected that at higher RGP, plant development capacity in the field would be higher, due to the correlation of a greater ability to form roots in the field and to avoid water stress. The functions of water absorption in roots and leaves indicate that the plant has an optimal physiological condition, i. e., the plant has functional integrity (Villar et al., 1997). According to the above, we can relate the data and infer that *P. oaxacana* has the capacity to regenerate the radical system in the event of severe drought.

Conclusions

Hardening with reduced irrigation in *P. oaxacana* seedlings developed morphological parameters in equilibrium. Reduced irrigation increased the diameter of the root collar without affecting the growth of the root system. Hardening in the months of May to June with eight weeks of duration created an adaptation response to water stress. The species tolerates a level of 50 % in the reduction of irrigation without presenting less regeneration of the root system. A reduction of irrigation between 30 and 45 % in *P. oaxacana* allows the production of hardened plants with greater possibility of success at the time of transplantation in the field.

End of English version

References / Referencias

- Birchler, T., Rose, R. W., Royo, A., & Pardos, M. (1998). La planta ideal: revisión del concepto, parámetros definitorios e implementación práctica. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*, 7, 109–121. Retrieved from <http://compostamasvi.com/ebooks/plantaideal.pdf>
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2010). *Prácticas de reforestación*. Jalisco, México: Autor.
- Coopman, R. E., Jara, J. C., Escobar, R., Corcuera, L. J., & Bravo, L. A. (2010). Genotypic variation in morphology and freezing resistance of *Eucalyptus globulus* seedlings subjected to drought hardening in nursery. *Electronic Journal Biotechnology*, 13(1), 1–9. doi: 10.2225/vol13-issue1-fulltext-10
- Dickson, A., Leaf, A. L., & Hosner, J. F. (1960). Quality appraisal of white spruce and white pine seedlings

diferencia ($P \leq 0.05$) en el número de raíces emitidas (Villar-Salvador et al., 2004). En algunas coníferas como *P. halepensis*, el promedio de raíces generadas entre tratamientos fue de 30 a 42 por planta, y la longitud varió entre 80 y 100 cm; la respuesta al estrés hídrico no presentó diferencias ($P \leq 0.05$) entre tratamientos, excepto en el tratamiento con estrés severo (Villar-Salvador et al., 1997). En ambos casos, la respuesta en la formación de raíces nuevas al máximo estrés fue negativa.

En contraste con los resultados obtenidos de la actividad de endurecimiento con estrés hídrico, no hay un efecto en la capacidad de regenerar el sistema radical, una de las causas puede ser la intensidad y época de endurecimiento (Grossnickle, 2005), además de que la emisión de raíces nuevas es sensible a la historia de estrés por sequía experimentada por la plántula (Tinus, 1996).

En esta prueba se esperaba que a mayor PCR, la capacidad de desarrollo de las plantas en campo fuera más alta, debido a la correlación de una mayor capacidad de formar raíces en campo y de evitar el estrés hídrico. Las funciones de absorción de agua en las raíces y hojas indican que la planta presenta un estado fisiológico óptimo, es decir, la planta tiene integridad funcional (Villar et al., 1997). De acuerdo con lo anterior podemos relacionar los datos e inferir que *P. oaxacana* tiene la capacidad de regenerar el sistema radical ante un evento de sequía severo.

Conclusiones

Basados en los resultados concluimos que el endurecimiento con reducción del riego en plántulas de *P. oaxacana* desarrolló parámetros morfológicos en equilibrio. La reducción del riego aumentó el diámetro del cuello de la raíz sin afectar el crecimiento del sistema radical. El endurecimiento en los meses de mayo a junio con ocho semanas de duración generó una respuesta de adaptación al estrés hídrico. La especie tolera un nivel de 50 % en la reducción del riego sin presentar menor regeneración del sistema radical. Una reducción del riego entre 30 y 45 % en *P. oaxacana* permite la producción de plantas endurecidas con mayor posibilidad de éxito al momento del trasplante en campo.

Fin de la versión en español

- stock in nurseries. *Forestry Chronicle*, 36(1), 10–13. doi: 10.5558/tfc36010-1
- Duryea, M. L. (1985). Evaluating seedling quality: Importance to reforestation. In M. L. Duryea (Ed.), *Evaluating seedling quality: Principles, procedures, and predictive abilities of major tests* (pp. 1–4). Corvallis, Oregon, USA: Forest Research Laboratory, Oregon State University. Retrieved from http://www.rngr.net/publications/evaluating/PDF.2003-10-27.2237/at_download/file+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=mx
- Grossnickle, S. C. (2005). Importance of root growth in overcoming planting stress. *New Forests*, 30(2), 273–294. doi: 10.1007/s11056-004-8303-2
- Grossnickle, S. C. (2012). Why seedlings survive: Influence of plant attributes. *New Forests*, 43(5), 711–738. doi: 10.1007/s11056-012-9336-6
- Landis, T. D. (2013). Conditioning nursery plants to promote hardiness and dormancy. In R. K. Dumroese, & T. D. Landis (Eds.), *Forest nursery notes* (pp. 5–14). Washington, DC, USA: USDA. Retrieved from http://www.rngr.net/publications/fnn/2013-winter/2013-winter-forest-nursery-notes/at_download/file
- Pita, P., & Pardos, J. A. (2001). Growth, leaf morphology, water use and tissue water relations of *Eucalyptus globulus* clones in response to water deficit. *Tree Physiology*, 21(9), 599–607. doi: 10.1093/treephys/21.9.599
- Planelles-González, R., Villar-Salvador, P., Oliet-Palá, J., & López-Arias, M. (2004). Efecto de tres niveles de estrés hídrico y dos periodos de aplicación sobre algunos parámetros de calidad funcional de *Quercus ilex* L. y su desarrollo postrasplante. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 17, 81–85. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/ejemplar/223445>
- Royo, A., Gil, L., & Pardos, J. A. (2001). Effect of water stress conditioning on morphology, physiology and field performance of *Pinus halepensis* Mill. seedlings. *New Forests*, 21(2), 127–140. doi: 10.1023/A:1011892732084
- Statistical Analysis System (SAS Institute). (2002). The SAS system for Windows. Release version 9.0. Cary, NC, USA: Author.
- Tinus, R. (1996). Root growth potential as an indicator of drought stress history. *Tree Physiology*, 16(9), 795–799. doi: 10.1093/treephys/16.9.795
- Valladares, F., Vilagrosa, A., Peñuelas, J., Ogaya, R., Camarero, J. J., Corcuera, L., ... Gil-Pelegrí, E. (2008). Estrés hídrico: ecofisiología y escalas de la sequía. En Valladares, F. (Ed.), *Ecología del bosque mediterráneo en un mundo cambiante* (2ª ed., pp. 165–192). España: Organismo Autónomo Parques Nacionales.
- Vilagrosa, A., Cortina, J., Rubio, E., Trubat, R., Chirino, E., Gil P., E., & Vallejo, V. R. (2005). El papel de la ecofisiología en la restauración forestal de ecosistemas mediterráneos. *Investigación Agraria: Sistemas y Recursos Forestales*, 14, 446–461. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1341367>
- Villar-Salvador, P., Ocaña-Bueno, L., Peñuelas-Rubira, J. L., Carrasco-Manzano, I., Domínguez-Lerena, S., & Renilla-Estrada, I. (1997). Relaciones hídricas y potencial de formación de raíces en plántulas de *Pinus halepensis* Mill. sometidas a diferentes niveles de endurecimiento por estrés hídrico. *Cuadernos de la Sociedad Española de Ciencias Forestales*, 4, 81–92. Retrieved from http://www.magrama.gob.es/es/desarrollo-rural/temas/politica-forestal/endurecimiento_ph1_tcm7-23450.pdf
- Villar-Salvador, P., Peñuelas-Rubira, J. L., & Jacobs, D. F. (2013). Nitrogen nutrition and drought hardening exert opposite effects on the stress tolerance of *Pinus pinea* L. seedlings. *Tree Physiology*, 33(2), 221–232. doi: 10.1093/treephys/tps133
- Villar-Salvador, P., Planelles, R., Oliet, J., Peñuelas-Rubira, J. L., Jacobs, D. F., & González, M. (2004). Drought tolerance and transplanting performance of holm oak (*Quercus ilex*) seedlings after drought hardening in the nursery. *Tree Physiology*, 24(10), 1147–1155. doi: 10.1093/treephys/24.10.1147