

# EFFECTO DEL ESTRÉS HÍDRICO EN *Pinus cooperi* Blanco DURANTE SU PREACONDICIONAMIENTO EN VIVERO

## THE EFFECT OF WATER STRESS OVER *Pinus cooperi* Blanco DURING PRECONDITIONING AT THE NURSERY

José Ángel Prieto-Ruíz<sup>1</sup>, René Javier Almaraz Roldán<sup>2</sup>, José Javier Corral-Rivas<sup>2</sup> y Antonio Díaz Vázquez<sup>2</sup>

### RESUMEN

El preacondicionamiento mediante estrés hídrico favorece los mecanismos de resistencia a la sequía de los árboles una vez plantados. Se realizó un ensayo con el objetivo de determinar el efecto de tres condiciones de estrés hídrico a través de riego cada 48, 144 y 288 horas, en el preacondicionamiento de plantas de nueve meses de *Pinus cooperi* producidas en vivero, en contenedores de 170 mL y con sustrato compuesto por turba (55%), vermiculita (24%) y agrolita (21%). Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones y 108 individuos en total. El ensayo constó de tres ciclos de doce días cada uno y se realizaron cuatro evaluaciones de potencial hídrico por ciclo; además, 36 días después del inicio, se registró el crecimiento morfológico de las plantas. El potencial hídrico mostró diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos: en la condición de riego de cada 48 horas fluctuó de -0.17 a -0.29 MPa, en la de intervalos de 144 h varió de -0.17 a -0.59 MPa y en la de cada 288 h fue de -0.26 a -3.24 MPa. Sólo existieron diferencias estadísticas ( $p < 0.05$ ) en las variables altura e índice de robustez. Los individuos sometidos a estrés hídrico hasta por 12 días no disminuyeron su crecimiento en forma significativa. Las plantas sin riego hasta por 144 h presentaron potenciales asociados a un nivel bajo de estrés hídrico.

**Palabras clave:** Calidad de planta, crecimiento, *Pinus cooperi* Blanco, potencial hídrico, riego, vivero.

### ABSTRACT

The preconditioning through water stress, favors the mechanisms of resistance to drought of the trees once planted. An experiment was conducted in order to determine the effect of three conditions of stress through irrigation each 48, 144 and 288 hours, in the preconditioning of nine-month *Pinus cooperi* seedlings produced in nursery in containers of 170 mL with substrate made of peat moss (55%), vermiculite (24%) and agrolite (21%). The treatments were distributed in a completely randomized experimental design with three replications per treatment and 108 individuals in total. The test consisted of three cycles of twelve days each; four evaluations of water potential per cycle were conducted. In addition, 36 days after the start, it was recorded the seedlings morphological growth. Water potential showed statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) among treatments. In the condition of irrigation every 48 hours it ranged from -0.17 to -0.29 MPa; when the irrigation was every 144 hours it ranged from -0.17 to -0.59 MPa and where irrigation was performed every 288 hours the water potential was from -0.26 to -3.24 MPa. Regarding morphology, statistical differences ( $p < 0.05$ ) only existed in the variables height and strength index. The individuals subjected to water stress by up to 12 days did not significantly diminish their growth. The seedlings without watering for 144 hours presented potential associated with a low level of water stress.

**Key words:** Seedling quality, growth, *Pinus cooperi* Blanco, water potential, watering, nursery.

Fecha de recepción: 18 de febrero de 2011

Fecha de aceptación: 21 de junio de 2012

<sup>1</sup> Campo Experimental Valle del Guadiana. CIR Norte Centro. INIFAP. Correo-e: prieto.jose@inifap.gob.mx

<sup>2</sup> Facultad de Ciencias Forestales. Universidad Juárez del Estado de Durango.

## INTRODUCCIÓN

El estrés hídrico es uno de los factores que más limitan la supervivencia y crecimiento inicial de los árboles durante y después de su plantación en campo, y sus causas son la escasez de humedad durante la época de estiaje, la distribución irregular de la lluvia, el pobre contacto entre el cepellón y el suelo, así como las bajas temperaturas, las cuales dificultan la absorción del agua por las raíces (Burdett, 1990). La superación de esas condiciones depende de la capacidad de resistencia al estrés hídrico (Ritchie y Landis, 2010).

Para incrementar la supervivencia inicial de los árboles en los sitios de plantación, es necesario que posean características morfológicas y fisiológicas mínimas, las cuales se logran mediante prácticas de cultivo en vivero (Navarro *et al.*, 2006). En la producción de planta, un aspecto fundamental relacionado con la calidad de los individuos es su preacondicionamiento o intemperización previa a su incorporación al sitio. Durante esa etapa es común limitar la humedad disponible para preadaptarlos a donde se plantarán, sin saber si tendrán algún cambio en su estructura o función (Ritchie y Landis, 2010). Así mismo, es frecuente que se apliquen dosis altas de potasio y, en ocasiones, se elimine la condición de sombra prevaleciente durante su cultivo (Landis *et al.*, 1989).

En la fase de pre-acondicionamiento cambia la función del agua en los árboles, ya que, además de servir en su metabolismo, se induce estrés hídrico al disminuir su aporte, lo cual reduce el crecimiento, promueve la aparición de la yema apical y se inician mecanismos de resistencia a temperaturas bajas extremas (Villar-Salvador *et al.*, 2000), así como a condiciones de sequía (Landis, 1989; Van Den Driessche, 1992). El potencial hídrico describe la relación sustrato-planta-aire; cuando la planta está turgente en su totalidad, el potencial hídrico es de cero porque el potencial de presión es positivo e iguala al potencial osmótico, situación que lo hace negativo. En viveros, el riego del sustrato es básico, pues los árboles comienzan a transpirar tan pronto aparece el sol y conforme pierden humedad, a través de esta función, el potencial hídrico disminuye; por lo tanto, si el riego es deficiente, el crecimiento se limita y puede generar daños o incluso la muerte (Landis, 1989; Ritchie y Landis, 2010).

El estrés hídrico en plantas forestales en vivero ha sido poco estudiado en México; algunos casos evaluados son los de Cetina *et al.* (2001) y Cetina *et al.* (2002) en *Pinus greggii* Engelm.; Martínez *et al.* (2002) en *P. leiophylla* Schltdl. et Cham.; Cornejo y Emmingham (2003) en *P. arizonica* Engelm.; *P. durangensis* Martínez y *P. engelmannii* Carrière; Prieto *et al.* (2004) en *P. engelmannii*; Martiñón-Rodríguez *et al.* (2010) en *P. pinceana* y Maldonado-Benítez *et al.* (2011) en *Pinus greggii*. Dichos autores destacan, en general, que el estrés hídrico induce la lignificación, lo cual propicia un mejor pre-acondicionamiento.

## INTRODUCTION

Water stress is one of the factors that limit greatly survival and initial growth of trees during and after they are planted in the field, and their causes are lack of moisture during the drought season, irregular distribution of rain, a poor contact between root mass and soil as well as low temperatures, which make water absorption a difficult task for roots (Burdett, 1990). To overcome these conditions plants must have an ability to resist water stress (Ritchie and Landis, 2010).

In order to increase the initial survival of trees in plantation sites it is necessary to possess morphologic and physiological features which they accomplish by nursery cultivation practices (Navarro *et al.*, 2006). In plant production, a basic thing related to the quality of individuals is preconditioning or acclimatization previous to their input into the plantation site. During this stage it is common to limit the available moisture to pre-adapt them to the place where they will be planted, without knowing if they will have any changes in their structure or function (Ritchie and Landis, 2010). Also high potassium doses are frequently applied and, occasionally, the shadow condition that prevails during their cultivation is removed (Landis *et al.*, 1989).

In the preconditioning phase, the role of water in trees changes, since, besides being useful in their metabolism, water stress is induced as income lowers, which affects growth, promotes apical bud formation and the mechanisms to resist extreme low temperatures and to drought, get started (Villar-Salvador *et al.*, 2000; Landis, 1989; Van Den Driessche, 1992). Water potential describes the soil-plant-air relation; when the plant is totally turgent, water potential is zero because pressure potential is positive and equals the osmotic potential, which makes it negative. At nurseries, substrate watering is crucial, as trees start to transpire as soon as the sun comes out and, as they lose moisture by this way, water potential lowers, and, if, watering is deficient, growth decreases, and it can bring damages or even death (Landis, 1989; Ritchie and Landis, 2010).

Water stress in forest plants at the nursery has been little studied in Mexico. Some of the assessed cases refer to Cetina *et al.* (2001) and Cetina *et al.* (2002) in *Pinus greggii* Engelm.; Martínez *et al.* (2002) in *P. leiophylla* Schltdl. et Cham.; Cornejo and Emmingham (2003) in *P. arizonica* Engelm.; *P. durangensis* Martínez and *P. engelmannii* Carrière; Prieto *et al.* (2004) in *P. engelmannii*; Martiñón-Rodríguez *et al.* (2010) in *P. pinceana* and Maldonado-Benítez *et al.* (2011) in *Pinus greggii*. These authors, in general, highlight that water stress induces lignification, which favors a better preconditioning.

In 15 forest nurseries of Durango state, around 12 million *Pinus* plants a year are produced; nevertheless, preconditioning is made in an empirical way, that is, without following clear patterns and only criteria based upon the experience of the workers related to

En 15 viveros forestales del estado de Durango se producen alrededor de 12 millones de plantas de *Pinus* al año; no obstante, el pre-acondicionamiento se realiza en forma empírica, es decir, sin seguir patrones definidos y sólo se siguen criterios basados en la experiencia de los viveristas relacionados con la eliminación del efecto invernadero, por medio del retiro del plástico y de la malla sombra, así como la aplicación de fertilizantes con alto contenido de potasio.

Con base en lo anterior, es importante precisar criterios que definan las mejores alternativas de manejo del riego en la fase de pre-acondicionamiento para producir individuos con las características morfológicas y fisiológicas que les permitan una adecuada supervivencia y arraigo en los sitios de plantación. Este ensayo tuvo como objetivo determinar el efecto de tres condiciones de estrés hídrico, mediante riego cada 48, 144 y 288 horas, en el potencial hídrico y crecimiento de plantas de nueve meses de edad de *Pinus cooperi* Blanco en vivero. Se parte del supuesto de que el estrés hídrico influye en sus características morfológicas durante la etapa de pre-acondicionamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización del área de estudio

El experimento se realizó en el vivero de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Juárez del Estado de Durango, ubicado entre los 24° 00' 47.5" N y los 104° 41' 02.5" W, a una altitud de 1,860 m en Durango, Dgo., México.

### Condiciones de producción

El germoplasma original se recolectó a partir de alrededor de 30 árboles de un rodal natural próximo al poblado Vencedores, municipio San Dimas, Durango. Previo a la siembra, la semilla se remojó en agua durante 24 h y se desinfectó por 5 min en una solución compuesta por 90% de agua y 10% de cloro comercial. Como envase se utilizó una charola de poliestireno de 77 cavidades y 170 mL por cavidad. El sustrato empleado consistió en una mezcla de turba (55%), vermiculita (24%) y agrolita (21%). Durante nueve meses la planta sujeta a experimentación se desarrolló en un invernadero cubierto con plástico y malla sombra a 60%, en el vivero forestal Sahuatoba de la Secretaría de Recursos Naturales y Medio Ambiente del gobierno del estado de Durango.

A los brinzales se les agregó fertilizante en dos formas: granulado y foliar; en el primer caso se adicionó Multicote™, que tarda de 9 a 12 meses en liberarse. La relación N-P-K fue de 15-07-15 en dosis de 5 kg m<sup>-3</sup>; además, dos veces por semana se fertilizó con *Peters Professional*™ (PP) soluble en agua, con tres niveles de contenido de N-P-K, que corresponden a cada fase de crecimiento de las plantas. En la etapa de establecimiento, a partir del primer mes de edad y durante cuatro meses, se les suministraron 75 ppm

the elimination of the greenhouse effect by removing plastic covers and shadow nets, as well as the application of diverse fertilizers with a high potassium content, are followed.

From this basis, it is important to specify some criteria that define the best options for watering management in the preconditioning phase in order to produce individuals with the morphologic and physiological features that let them have a convenient survival and root to the plantation sites. The objective of the actual essay was to determine the effect of three water stress conditions, by watering every 48, 144 and 288 hours, in the water potential and growth of nine-months old *Pinus cooperi* Blanco plants at the nursery. The starting argument is that water stress affects their morphological features during the preconditioning stage.

## MATERIALS AND METHODS

### The study area

The experiment was carried out at the nursery of the Forest Science School of the Juárez University of Durango State, located between 24° 00' 47.5" N and 104° 41' 02.5" W, at 1,860 masl in the city of Durango, Durango state, Mexico.

### Production conditions

The original germ plasm was collected from about 30 trees in a stand near the neighboring Vencedores town, in San Dimas municipality, at Durango state. Before sowing, the seed was rinsed in water for 24 h and disinfected for 5 minutes in a compound solution of 90% water and 10% of commercial chloride. A polyesthrene tray with 77 pots of 170 mL each was used as container. Substrate consisted on a mixture of peat moss (55%), vermiculite (24%) and agrolite (21%). During nine months the plant subject to experimentation was grown in a greenhouse covered with plastic and 60% shadow mesh in Sahuatoba forest nursery of the Ministry of Natural Resources and Environment of Durango state government.

To the saplings was added fertilizer in two forms: granulated and foliar; in the first case, Multicote™ was added which takes from 9 to 12 months to release. The N-P-K relation was 15-07-15 in 5 kg m<sup>-3</sup> doses; also, twice a week they were fertilized with water soluble *Peters Professional*™ (PP), with three N-P-K levels, that belong to each plant growing phase. During establishment, from the first month and during four months, 75 ppm of nitrogen of Initializer PP™ (7-40-17 N-P-K) were added in the fast growth phase; 200 ppm of nitrogen of Development PP™ (20-7-19 N-P-K) as well for the same period; in the 36 days of assessment of the preconditioning phase, 75 ppm of nitrogen of Finalizing PT™ (4:25:35 N-P-K) were added too. To prevent from Damping-off, Captán™ 50 at 2.5 g L<sup>-1</sup> doses were added to water, which

de nitrógeno de PP Iniciador™ (7-40-17 N-P-K); en la fase de crecimiento rápido, se adicionaron 200 ppm de nitrógeno de PP Desarrollo™ (20-7-19 N-P-K) por el mismo lapso; en los 36 días que duró la evaluación de la fase de precondicionamiento, se les aplicaron 75 ppm de nitrógeno PT Finalizador™ (4:25:35 N-P-K). Para prevenir *Damping off* se agregó Captán™ 50 en dosis de 2.5 g L<sup>-1</sup> de agua, mismo que se aplicó en los primeros meses del inicio cada semana.

### Tratamientos utilizados y diseño experimental

Se evaluaron tres niveles de estrés hídrico propiciados por el riego cada 48, 144 y 288 h (Cuadro 1). En todos los tratamientos, el inicio de los ciclos ocurrió a partir de una condición de saturación de humedad del sustrato. Una vez terminados estos ciclos, el lote experimental se irrigó de forma abundante con regadera manual hasta la capacidad de campo del sustrato.

Los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones. Las unidades experimentales estuvieron compuestas por charolas de 77 plantas; sin embargo, sólo las 45 centrales formaron parte de la muestra evaluada, mientras que las periféricas se dejaron ahí para aislar el efecto de orilla. Para hacer las evaluaciones se hizo una selección aleatoria de tres individuos por unidad experimental.

### Modelo experimental y análisis estadístico

El modelo estadístico para los datos fue:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Donde:

- $Y_{ij}$  = Variable respuesta
- $\mu$  = Promedio general que considera a las diferentes fuentes de variación
- $T_i$  = Efecto del  $i$ -ésimo tratamiento
- $\epsilon_{ij}$  = Error aleatorio  $ij$

Se asume que los errores ( $\epsilon_{ij}$ ) se distribuyen de manera normal e independiente, con media cero y varianza igual a uno. La hipótesis a probar es:

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 \text{ vs. } H_a = \text{Al menos un tratamiento es diferente a los demás}$$

Para resolver el análisis de varianza se utilizó el procedimiento GLM del SAS/STAT® (SAS, 2004) y cuando se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos ( $p < 0.05$ ), se hicieron pruebas de comparación de medias según Tukey.

were applied during the first months at the beginning of each week.

### Treatments and experimental design

Three levels of water stress were assessed provoked by watering every 48, 144 and 288 h (Table 1). In all the treatments cycle started when a substrate saturation was accomplished. When they finished, the experimental lot was watered abundantly with a manual watering can up to field capacity of the substrate.

Treatments were distributed in a completely randomized experimental design with three replications. The experimental units were made up by 77 plant trays; however, only 45 that were at the center were part of the assessed sample, while those surrounding were left there to isolate the edge effect. In order to make the evaluations, three individuals per experimental unit were selected at random.

### Experimental model and statistical analysis

The statistical model for the data were:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + \epsilon_{ij}$$

Where:

- $Y_{ij}$  = Response variable
- $\mu$  = General average that considers the different variation sources
- $T_i$  =  $i$ -esim treatment effect
- $\epsilon_{ij}$  =  $ij$  random error

There is an assumption that errors ( $\epsilon_{ij}$ ) are distributed in a normal and independent way, with mean equal to zero and variance equal to one. The hypothesis that must be probed is:

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 \text{ vs. } H_a: \text{at least one treatment is different from the rest}$$

To solve the analysis of variance the GLM del SAS/STAT® (SAS, 2004) procedure was followed, and when significant differences among treatments ( $p < 0.05$ ) were found, Tukey's mean comparison test was applied.

### Assessed variables

The essay was assessed from two viewpoints: on the one hand, water potential variation was considered in those individuals based upon the applied treatments and in the normal, mean and extreme stress; on the other hand, the influence that such stress has upon growth was determined. In order to have a reference of the condition of the plant per stage, at the beginning and at the end of the experiment a morphologic description was made; therefore, a random sample of 12

## Variables evaluadas

El ensayo se evaluó desde dos enfoques: por un lado, se consideró la variación del potencial hídrico en los individuos con base en los tratamientos aplicados y en el estrés normal, medio y extremo; por otro, se determinó la influencia de dicho estrés en el crecimiento. Para tener una referencia de la condición de la planta por etapa, al inicio y al final del experimento se le hizo una caracterización morfológica, para lo cual, previo a la fase experimental, se tomó una muestra aleatoria de 12 ejemplares por tratamiento, cuyo diámetro del cuello y altura fueron medidos.

**Potencial hídrico.** Se determinó en una cámara de presión Modelo 1000 PMS (Plant Moisture Stress Instruments Co.), bajo los métodos recomendados por Day y Walsh (1980) y Cleary *et al.* (2003). Las mediciones se efectuaron cada 72 h a las 4:00 AM. durante 36 días; esto requirió 12 evaluaciones en 108 plantas.

El potencial hídrico se midió en el xilema del diámetro del cuello de los brinzales, punto donde se cortó el tallo con pinzas de podar, y se insertó en la cámara presurizada con gas nitrógeno. El punto de lectura se llevó a cabo cuando el tallo sometido a presión emergió del agua; los valores obtenidos se registraron en Bares y se transformaron en Megapascuales (MPa). Para tener representatividad de la información adquirida, los ciclos se repitieron tres veces con base en el ciclo de riego más largo, cada 288 h.

**Variables morfológicas.** Después de tres ciclos de estrés hídrico, a los 36 días de comenzar el ensayo, por cada tratamiento se extrajeron al azar tres plantas por unidad experimental, a las cuales se les midió la altura de la parte aérea, diámetro del cuello de la raíz, producción de fitomasa seca de la parte aérea, del sistema radical y total, índice de robustez (relación altura de la parte aérea-diámetro del cuello) e índice de calidad de Dickson.

## RESULTADOS

### Potencial hídrico de las plantas

El potencial hídrico tuvo diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre tratamientos (con excepción de uno) a partir de las 72 h de cada ciclo, mismas que se advirtieron hasta las 144 h. Conforme las plantas duraron más tiempo sin regar, las desigualdades en el potencial hídrico se acentuaron, así como en el tratamiento extremo a los 12 días sin regar (Figura 1); en ese momento, algunos brinzales mostraron decaimiento en la yema apical y marchitez incipiente en el follaje, y que se recuperaron una vez que el sustrato se hidrató hasta su capacidad de campo.

Respecto a los individuos regados en períodos de 48 h (riego normal), el potencial hídrico se mantuvo estable con

Cuadro 1. Niveles de estrés hídrico aplicados a las plantas en la fase de preacondicionamiento.

Table 1. Water stress levels applied to plants in the preconditioning phase.

Tratamiento	Intervalos de riego
Normal	48 horas (2 días)
Medio	144 horas (6 días)
Extremo	288 horas (12 días)

individuals per treatment was taken to which neck diameter and height were measured.

**Water potential.** It was determinate in a pressure chamber 1000 PMS model (Plant Moisture Stress Instruments Co.) and the methods of the Day and Walsh (1980) and Cleary *et al.* (2003) were followed.

Measurements were made every 72 h at 4:00 am during 36 days; this demanded 12 assessments in 108 plants.

Water potential was measured at the xylem of the neck diameter of saplings, point where the stem was cut with pruning scissors, and was placed into a pressurized chamber with nitrogen gas. Reading was made when the stem subjected to pressure emerged from water; values were recorded in bars and transformed into Megapascuales (MPa). In order to have a representativeness of the obtained information, cycles were repeated thrice based upon the longest watering cycle, every 288 h.

**Morphologic variables.** After three cycles of water stress, after 36 days of having started the essay, for each treatment three plants were extracted at random per experimental unit, to which several elements were measured: height of the aerial part, diameter of the root neck, total dry phytomass production, as well as of the aerial part and of the root; robustness index (aerial part height-neck diameter relation) and Dickson quality index.

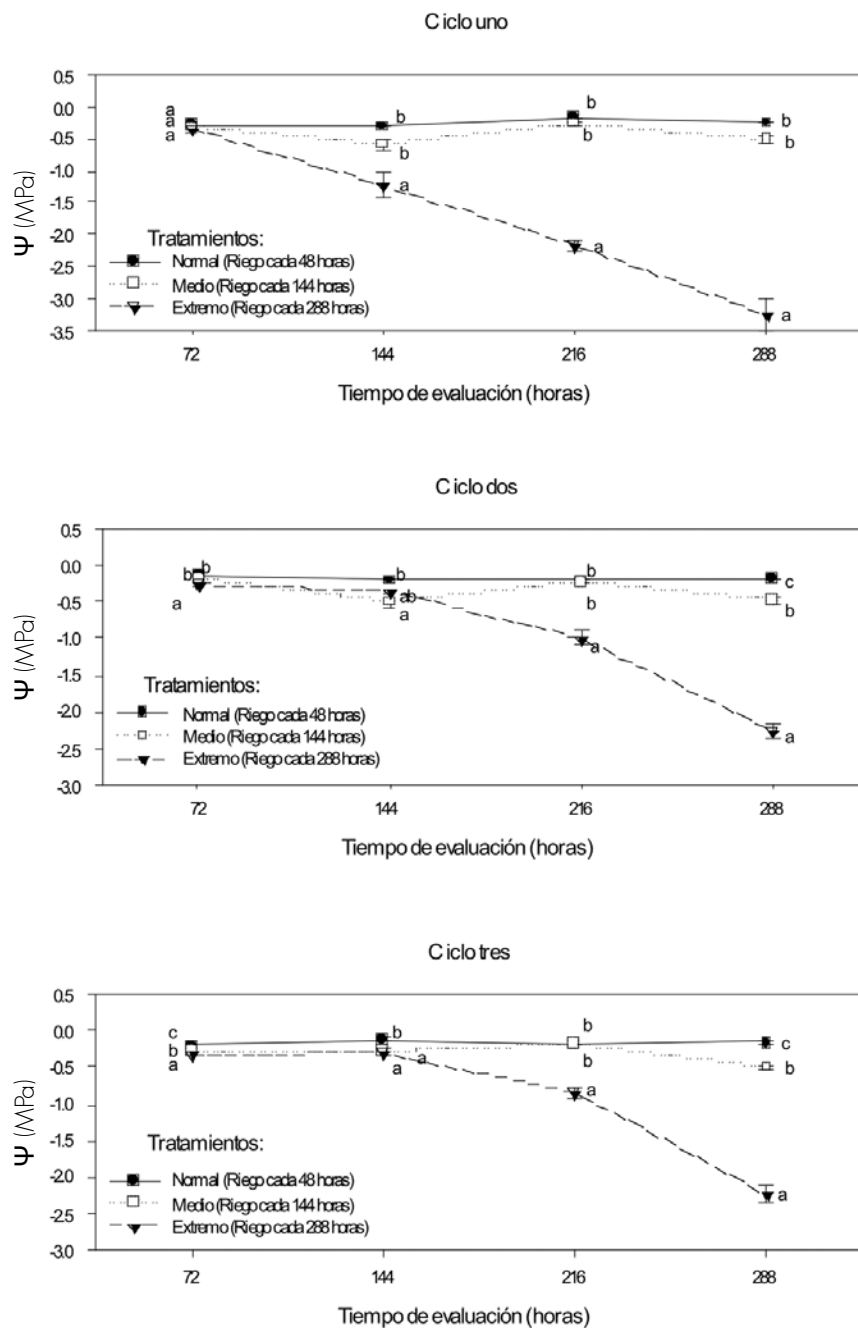
## RESULTS

### Plant water potential

Water potential had significant differences ( $p < 0.05$ ) among treatments (except for one), starting from 72 h of each cycle, which were detected after, 144 h. As plants lasted longer without watering, differences in water potential became more accentuated as well as the extreme treatment after 12 days in such condition (Figure 1); in that moment, some saplings showed decay in the apical bud and incipient foliage wilting, which recovered once the substrate was hydrated until it achieved its field capacity.

variaciones de -0.17 a -0.29 MPa. En cambio, cuando se regó cada 144 h (riego medio), los datos de estrés hídrico oscilaron entre -0.17 y -0.59 MPa. Por último, la planta regada cada 288 h (riego extremo), alcanzó el potencial hídrico negativo más intenso con valores entre -0.26 y -3.24 MPa (Figura 1).

About individuals watered in 48 h periods (normal watering), water potential was kept stable with -0.17 a -0.29 MPa variations. On the other hand, when watering was made every 144 h (middle watering), water stress data varied between



Letras diferentes para un mismo periodo de riego indican diferencias significativas (Tukey =  $\alpha=0.05$ ). Different letters for one same watering period mean significant differences (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

Figura 1. Potencial hídrico ( $\Psi$ ) en *Pinus cooperi* Blanco a los diez meses de edad, por tres ciclos, en tres condiciones de estrés hídrico durante 36 días.

Figure 1. Water potential ( $\Psi$ ) of *Pinus cooperi* Blanco at ten months old during three cycles, under three water stress conditions for 36 days.

De acuerdo a Landis *et al.* (1989), Lopushinsky (1990), Cleary *et al.* (2003) y Ritchie *et al.* (2010), se considera que no existe estrés cuando los valores de este criterio son inferiores a -0.5 MPa; en contraste, entre -0.5 y -1.0 MPa, e incluso hasta de -1.5 se ubican como moderados, generan reducción del crecimiento, inducen el letargo y propician la lignificación de las plantas. En cantidades superiores a -1.5 MPa, el estrés es severo y puede ocasionar la reducción de la fotosíntesis y provocar daños. En los resultados de este ensayo, las cifras obtenidas en individuos regados durante periodos de 48 h corresponden al intervalo de sin estrés, mientras que el riego cada 144 h favoreció estrés escasamente moderado y el de cada 288 h, estrés severo, que se manifestó con un decaimiento y marchitez incipiente de algunas yemas.

### Características morfológicas de las plantas

Después de 36 días de evaluación, sólo existieron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en las variables altura e índice de robustez. En la primera, el grupo superior estuvo integrado por los tratamientos en los que la planta se regó cada 288 y 144 h con 12.4 y 11.9 cm, respectivamente (Cuadro 2). En el tratamiento de riego cada 48 h se registraron cifras de 10.5 cm. La altura inicial de los individuos antes del ensayo fue de 10.1 cm en promedio, con intervalos de 8.3 a 12.0 cm; esto indica que durante el periodo de prueba el crecimiento vertical fue inferior a 3 cm en todos los casos.

Cuadro 2. Valores de las variables morfológicas (media  $\pm$  error estándar) evaluadas en *Pinus cooperi* Blanco, a los diez meses de edad, en tres niveles de estrés hídrico y durante 36 días.

Table 2. Values of the morphological variables (mean  $\pm$  standard error) assessed in *Pinus cooperi* Blanco at ten months old during three cycles, under three water stress conditions for 36 days.

Variable	Normal (Riego cada 48 horas)	Medio (Riego cada 144 horas)	Extremo (Riego cada 288 horas)	Valor /f/	Valor /p/
Altura (cm)	10.54 $\pm$ 0.48 b	11.93 $\pm$ 0.45 ab	12.42 $\pm$ 0.66 a	3.26	0.05
Diámetro (mm)	4.85 $\pm$ 0.20 a	5.14 $\pm$ 0.10 a	4.77 $\pm$ 0.20 a	1.28	0.29
Fitomasa seca parte aérea (g)	2.27 $\pm$ 0.24 a	2.20 $\pm$ 0.16 a	1.90 $\pm$ 0.14 a	1.03	0.37
Fitomasa seca raíz (g)	1.40 $\pm$ 0.11 a	1.42 $\pm$ 0.08 a	1.51 $\pm$ 0.11 a	0.30	0.74
Fitomasa seca total (g)	3.67 $\pm$ 0.19 a	3.62 $\pm$ 0.19 a	3.42 $\pm$ 0.19 a	0.48	0.62
Relación fitomasa aérea / fitomasa raíz	1.62 $\pm$ 0.34 a	1.55 $\pm$ 0.14 a	1.26 $\pm$ 0.14 a	1.29	0.29
Índice de robustez	2.17 $\pm$ 0.11 b	2.32 $\pm$ 0.08 ab	2.60 $\pm$ 0.11 a	4.05	0.03
Índice de calidad de Dickson	0.94 $\pm$ 0.07 a	0.94 $\pm$ 0.06 a	0.87 $\pm$ 0.06 a	0.34	0.71

Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (Tukey  $\alpha = 0.05$ )  
Different letters in the same row mean significant differences (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

La altura obtenida en vivero permite pronosticar su comportamiento futuro en campo, situación que no es extensiva a la supervivencia (Thompson, 1985). Por mucho tiempo esta variable ha sido manejada como indicador de calidad; no obstante, es insuficiente y para que refleje su utilidad real

-0.17 y -0.59 MPa. Finally, plants that were watered every 288 h (extreme watering), reached the most intense negative water potential, with values between -0.26 and -3.24 MPa (Figure 1).

According to Landis *et al.* (1989), Lopushinsky (1990), Cleary *et al.* (2003) and Ritchie *et al.* (2010), it is considered that there is no stress when values of this criterion are under -0.5 MPa; in contrast, between -0.5 and -1.0 MPa, and even up to -1.5 are positioned as mild, generate growth reduction, induce dormancy and favor plant lignification. When numbers are over -1.5 MPa, stress is severe and can cause photosynthesis reduction and produce damages. In the results from this essay, the numbers obtained in individuals watered during 48 h periods that belong to the interval without stress, while watering every 144 h favored stress slightly mild, and that applied every 288 h, severe stress, showed decay and incipient wilting in some buds.

### Morphological characteristics of the plants

After 36 days of assessment, there were only significant differences ( $p < 0.05$ ) in height and robustness index. In the first one, the higher groups was made up by the treatments in which the plant was watered every 288 and 144 h with 12.4 and 11.9 cm, respectively (Table 2). The treatment with watering every 48 h reported 10.5 cm. The initial height of the samples before the essay was 10.1 cm, average, with ranges from 8.3 to 12.0 cm; this means that during the test period growth in height was under 3 cm in all cases.

Height attained at the nursery makes it possible to foresee their future behaviour in the field, a situation that is not extensive to survival (Thompson, 1985). This variable has been used for a very long time as an indicator of quality; nevertheless, it is insufficient and it is necessary to relate it with other morphological features to show its real utility (Mexal and Landis, 1990). The right height

es necesario relacionarla con otras características morfológicas (Mexal y Landis, 1990). La altura adecuada que deben tener las plántulas de coníferas al salir del vivero debe ser de 15 a 20 cm, excepto las de crecimiento con hábito cespitoso que normalmente alcanzan valores menores a 10 cm.

El diámetro del cuello previo al inicio del ensayo fue de 4.29 mm en promedio y, una vez finalizado el experimento, varió de 4.77 a 5.14 mm (Cuadro 2). Este componente está fuertemente asociado con el vigor de las plantas, ya que tiene relación directa con el tamaño del sistema radical (Mexal y Landis, 1990). Individuos con diámetro superior a 5 mm tienden a producir yemas grandes con gran número de acículas primarias preformadas que se elongan al iniciar el primer flujo de crecimiento (Carlson, 1986). Con base en Mexal y Landis (1990), sólo los brinzales regados cada 144 h tuvieron el diámetro apropiado al salir del vivero, el cual sugieren sea de 5 a 6 mm.

La fitomasa de la parte aérea, raíz y total, quedó ubicada en el mismo grupo estadístico, lo que indica que el factor estrés hídrico no influyó en esta variable, pese a la existencia de planta regada solo cada 12 días durante el lapso de 36.

La fitomasa total tuvo valores de 3.42 a 3.67 g, mientras que la relativa a la parte aérea, varió entre 1.90 y 2.27 g. En el componente de la raíz, los datos fluctuaron de 1.40 a 1.51 g (Cuadro 2). La cantidad de biomasa producida es determinante para asegurar el arraigo adecuado de los brinzales en condiciones de sitio adversas (Rosenfeld *et al.*, 2006).

Respecto a la relación fitomasa seca parte aérea / fitomasa seca raíz, solo existió un grupo estadístico con fluctuaciones de 1.26 a 1.62 g (Cuadro 2). De acuerdo con Romero *et al.* (1986) y Murias (1998), los ejemplares analizados cumplen con los parámetros de planta de calidad (1.5 a 2.2 g), con excepción de aquellos regados cada 288 h, cuyo valor fue de 1.26. En el índice de robustez, el grupo superior correspondió a individuos regados cada 288 y 48 h con 2.60 y 2.32, respectivamente. La condición de riego cada 48 h tuvo un valor de 2.17 (Cuadro 2); sin embargo, todos los valores están en el intervalo recomendado por Thompson (1985) y Mexal y Landis (1990).

La interrelación de la variable altura y diámetro está asociada con el índice de robustez: valores bajos muestran que la planta es robusta y con tallo vigoroso; en cambio, índices altos señalan una desproporción que se refleja en tallos elongados. De acuerdo a Thompson (1985), cifras menores a seis están asociadas a una mejor calidad de los individuos, al ser robustos y tener tallos vigorosos. Planelles *et al.* (2004) aplicaron estrés hídrico en la parte final del desarrollo de *Quercus ilex* L. en vivero, lo cual afectó su potencial de crecimiento radical; sin embargo, una vez establecidos los individuos en campo, este factor no tuvo efecto. El índice de calidad de Dickson quedó distribuido en un solo grupo estadístico con fluctuaciones de 0.87 a 0.94 (Cuadro 2).

that coniferous seedlings must have when they leave the nursery must be from 15 to 20 cm, except for those of grassy growth that normally reach numbers under 10 cm.

The diameter of the neck before starting the essay was 4.29 mm, average, and once it was finished, it varied from 4.77 to 5.14 mm (Table 2). This component is strongly linked to the vigor of plants, since it is directly related with the size of the root system (Mexal and Landis, 1990). Individuals with a diameter over 5 mm tend to produce big buds with a great number of pre-formed primary needles that become longer at the beginning of the first growth flow (Carlson, 1986). Only saplings watered every 144 h had the right diameter to leave the nursery, which according to Mexal and Landis (1990) must be 5 to 6 mm.

Aerial part, root and total phytomass stayed in the same statistical group, which means that the water stress factor did not affect this variable, in spite of the existence of water plant every 12 out of 36 days.

Total phytomass was from 3.42 to 3.67 g, while that of the aerial part varied from 1.90 and 2.27 g. In the root component, data varied from 1.40 to 1.51 g (Table 2). The amount of biomass produced is crucial to guarantee the right root development of saplings under difficult site conditions (Rosenfeld *et al.*, 2006).

In regard to the dry phytomass of the aerial part/dry phytomass of the root, there was only one statistical group with fluctuations from 1.26 to 1.62 g (Table 2). According to Romero *et al.* (1986) and Murias (1998), the samples that were analyzed accomplish high quality standards (1.5 to 2.2 g), except for those watered every 288 h, whose value was 1.26. The highest group of the robustness index belonged to individuals watered every 288 to 49 h with 2.60 and 2.32, respectively. The watering condition of every 48 h was 2.17 (Table 2); however, every value is in the interval recommended by Thompson (1985) and by Mexal and Landis (1990).

The height and diameter interlink is associated to the robustness index; low values show that the plant is strong and has a vigorous stem; otherwise, high indexes show a lack of proportion that is evident in long stems. According to Thompson (1985), numbers beneath six are related to a better quality of the individuals, as they are strong and have vigorous stems. Planelles *et al.* (2004) applied water stress to the final part of the development of *Quercus ilex* L. at the nursery, which acted over the root growth potential; however, once seedlings were established in the field, it had no effect. Dickson's quality index was gathered into one single statistical group with fluctuations from 0.87 to 0.94 (Table 2).



## DISCUSIÓN

La periodicidad en la aplicación de los riegos influyó en el potencial hídrico y crecimiento de las plantas, aunque en las variables morfológicas las diferencias entre tratamientos fueron mínimas, quizá debido a que la evaluación sólo duró 36 días. Los resultados del estudio coinciden, en lo general, con los obtenidos por Prieto *et al.* (2004) en *Pinus engelmannii*, el cual fue sometido a estrés hídrico durante 10 días con un potencial que alcanzó valores de hasta  $-2.29$  MPa; el crecimiento de los individuos se detuvo en comparación con los que no recibieron dicho tratamiento. Lo mismo ocurrió en brinzales de *Pinus piniceana* mantenidos durante 160 días en invernadero con un potencial hídrico mayor a  $-1.5$  MPa, con una reducción de altura (80%), diámetro (49%) y producción de biomasa (15 a 30%) (Martíñón-Martínez *et al.*, 2010). En contraste, Maldonado-Benítez *et al.* (2011) aplicaron  $4 \text{ g L}^{-1}$  de hidrogel al sustrato para favorecer la disminución del estrés hídrico en individuos de *Pinus greggii*, lo que se reflejó en un mayor crecimiento en altura y diámetro.


Ritchie y Landis (2010) consideran que el estrés hídrico constituye una herramienta para producir planta con mayor resistencia a condiciones de estrés por sequía. Ritchie *et al.* (2010) establecen que el potencial hídrico incide en los procesos fisiológicos y, en condiciones de estrés, detiene el crecimiento, aun cuando la supervivencia no sea afectada. Estos efectos dañinos pueden persistir varios años después de la plantación.

## CONCLUSIONES

En plantas de *Pinus cooperi* de nueve meses de edad producidas en contenedores de 170 mL, la condición de riego cada 48 h hizo que el potencial hídrico se mantuviera entre  $-0.17$  y  $-0.29$  MPa.

El riego cada 144 h propició que existiera estrés hídrico moderado, al variar el potencial hídrico sólo de  $-0.17$  a  $-0.59$  MPa.

El riego cada 288 h tuvo variaciones de  $-0.26$  a  $-3.24$  MPa y provocó estrés hídrico alto; este tratamiento ocasionó marchitamiento inicial de algunas plantas sin provocar daños físicos, ya que después de aplicar el riego a capacidad de campo, se recuperaron.

Pese a las diferencias estadísticas significativas en las variables altura e índice de robustez, no existe una tendencia que permita identificar de manera clara un tratamiento superior en el comportamiento morfológico de la planta. 

## AGRADECIMIENTOS

A la Fundación Produce Durango, A.C., por el apoyo económico para la ejecución de este trabajo a través del proyecto "Desarrollo de un módulo para la transferencia de un paquete tecnológico de reforestación y producción de plántulas bajo condiciones de vivero". A los revisores técnicos y editoriales anónimos por su invaluable aporte al manuscrito.

## DISCUSSION

Periodicity in the application of watering influenced water potential and growth of plants, even though in these morphologic variables, differences among treatments were minimal, probably due to the fact that the assessment only lasted 36 days. The results of the study are coincidental, in general terms, with those of Prieto *et al.* (2004) about *Pinus engelmannii*, which was subjected to water stress during 10 days with a potential that reaches values up to  $-2.29$  MPa; individual growth stopped in comparison with those without treatment. The same occurred with *Pinus piniceana* saplings kept into a greenhouse for 160 days with water potential over  $-1.5$  MPa, with a height reduction of 80%, of diameter (49%) and biomass production of 15 to 30% (Martíñón-Martínez *et al.*, 2010). In contrast, Maldonado-Benítez *et al.* (2011) applied  $4 \text{ g L}^{-1}$  of hydrogel to the substrate in order to favor a reduction of water stress in *Pinus greggii*, individuals, which reflected a greater height and diameter growth.


Ritchie and Landis (2010) consider that water stress is a tool to produce plants with greater resistance to drought stress. Ritchie *et al.* (2010) stated that water potential affects physiological processes, and under stress conditions, stops growth, even when survival is not influenced. These harmful effects may last for several years after plantation.

It is suggested to continue studying at the nursery, the effect of water stress over growth and preconditioning of plants of different ages in more than one environmental condition: exposed to the open air, under shadow net and for longer periods. Also, it is necessary to make essays in the plantation sites, in such a way that the results that the obtained results help to generate precise knowledge in regard to the importance of this management practice on tree survival and growth, which will act as a basis for decision taking by nursery workers and planters.

## CONCLUSIONS

In nine-months old *Pinus cooperi* plants that were produced in 170 mL containers, watering every 48 h favored that water potential kept between  $-0.17$  and  $-0.29$  MPa. Watering every 144 h propitiated that mild water stress occurred, when water potential varied only from  $-0.17$  to  $-0.59$  MPa.

Watering every 288 h had variations of  $-0.26$  to  $-3.24$  MPa and provoked high water stress; this treatment produced initial wilting of some plants without any physical harm, since after watering to field capacity, they recovered.

In spite of the statistical differences in height and robustness index, there is no tendency that lets identify clearly a better treatment in the morphological behaviour of the plant. 

## REFERENCIAS

- Burdett, A. N. 1990. Physiological processes in plantation establishment and the development of specifications for forest planting stock. *Can. J. For. Res.* 20(4):415-427.
- Carlson, W. C. 1986. Root system considerations in the quality of loblolly pine seedlings. *J. Appl. For.* 10(2):87-92.
- Cetina A., V. M., M. L. Ortega D., V. A. González H., J. J. Vargas H., M. T. Colinas L. y A. Villegas M. 2001. Fotosíntesis y contenido de carbohidratos de *Pinus greggii* Engelm. en respuesta a la poda y al régimen de riego en vivero. *Agrociencia*. 35(6):599-607.
- Cetina A., V. M., V. A. González H., M. L. Ortega D., J. J. Vargas H. y A. Villegas M. 2002. Supervivencia y crecimiento en campo de *Pinus greggii* Engelm. previamente sometidos a podas o sequía en vivero. *Agrociencia* 36(2):233-241.
- Cleary, B., J. Zaerr and J. Hamel. 2003. Guidelines for measuring plant moisture stress with a pressure chamber. <http://www.pmsinstrument.com>. (agosto de 2008).
- Cornejo O., E. and W. Emmingham. 2003. Effects of water stress on seedling growth, water potential and stomatal conductance of four *Pinus* species. *Crop. Res.* 25 (1):159-190.
- Day, R. J. and S. J. Walsh. 1980. A manual for using the pressure chamber in nurseries and plantations. *Silv. Rept.* 1908-2. Lakehead University. School of Forestry. Thunder Bay, Ontario, Canada. 49 p.
- Landis, T. D. 1989. Mineral nutrients and fertilization. In: Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett. *The Container Tree Nursery Manual*, Volume 4. Agriculture Handbook. 674. USDA, Forest Service. Washington, DC. USA. pp.1-67.
- Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett. 1989. Seedling nutrition and irrigation. In: Landis, T. D., R. W. Tinus, S. E. McDonald and J. P. Barnett (Comps.). *The container tree nursery manual*, Vol. 4. Agriculture Handbook 674. USDA, Forest Service. Washington, DC. USA. 119 p.
- Lopushinsky, W. 1990. Seedling moisture status. In: Rose, R., S. J. Campbell and T. D. Landis (Eds.). *Proceedings of the Target Seedling Symposium. Combined Meeting of the Western Forest Nursery Associations*. Gen. Tech. Rep. RM-200. USDA, Forest Service. Fort Collins, OR, USA. pp.123-138.
- Maldonado-Benítez, K. R., A. Aldrete, J. López-Upton, H. Vaquera-Huerta y V. M. Cetina-Alcalá. 2011. Producción de *Pinus greggii* Engelm. en mezclas de sustrato con hidrogel y riego en vivero. *Agrociencia* 45(3):389-398.
- Martínez T., T., J. J. Vargas H., A. Muñoz O. y J. López U. 2002. Respuesta al déficit hídrico en *Pinus leiophylla*: Consumo de agua y crecimiento en plántulas de diferentes poblaciones. *Agrociencia* 36 (3):365-376.
- Martiñón-Martínez, R. J., J. J. Vargas-Hernández, J. López-Upton, A. Gómez-Guerrero y H. Vaquera-Huerta. 2010. Respuesta de *Pinus pinaster* Gordon a estrés por sequía y altas temperaturas. *Revista Fitotecnia Mexicana* 33 (3):239-249.
- Mexal, J. G. and T. D. Landis. 1990. Target seedling concepts: height and diameter. In: Rose, R., S. J. Campbell and T. D. Landis (Eds.). *Target Seedling Symposium*. USDA, Forest Service. Roseburg, OR. USA. pp. 17-35.
- Murias, G. 1998. Estudio de plantas de diferentes especies mediterráneas forestales en vivero. Arquitectura radical, potencial de regeneración de raíces y análisis de nutrientes. Proyecto de Fin de Carrera, Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Forestal de Madrid. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 40 p.

## ACKNOWLEDGEMENTS

To Fundación Produce Durango, A.C., for the economic support provided to carry out this work through the project "Desarrollo de un módulo para la transferencia de un paquete tecnológico de reforestación y producción de plántulas bajo condiciones de vivero". To the technical and editorial reviewers of this manuscript for their invaluable contribution.

*End of the English version*

- Navarro, R. M., A. D. del Campo y J. Cortina. 2006. Factores que afectan al éxito de una repoblación y su relación con la calidad de la planta. In: Cortina, J., J. L. Peñuelas, J. Puértolas, A. Vilagrosa y R. Savé. (Coords.). *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes Mediterráneos. Estado actual de conocimientos*. Organismo Autónomo Parques Nacionales. Ministerio de Medio Ambiente. Madrid, España. pp. 1-23.
- Planelles G. R., P. Villar-Salvador, J. Olliet P. y M. López A. 2004. Efecto de tres niveles de estrés hídrico y dos períodos de aplicación sobre algunos parámetros de calidad funcional de plántulas de *Quercus ilex* L. y su desarrollo postrasplante. *Cuad. Soc. Esp. Cienc. For.* 17:81-85.
- Prieto R., J. A., E. H. Cornejo O., P. A. Domínguez C., J. de J. Nívar Ch., J. G. Marmolejo M. y J. Jiménez P. 2004. Estrés hídrico en *Pinus engelmannii* Carrière producido en vivero. *Invest. Agrar. Sist. Rec. For.* 13 (3):443-451.
- Ritchie, G. A. and T. D. Landis. 2010. Assessing plant quality. *Seedling Processing, Storage and Outplanting*. In: *The Container Tree Nursery Manual*. pp. 17-80. <http://www.rngr.net/publicacions/ctnm/volume-7>. (febrero 2012).
- Ritchie, G. A., T. D. Landis, R. K. Dumroese and D. L. Haase. 2010. Handling and Shipping. *Seedling Processing, Storage and Outplanting*. In: *The container tree nursery manual*. pp. 131-146. <http://www.rngr.net/publicacions/ctnm/volume-7>. (marzo 2012).
- Romero, A. E., J. Ryder, J. T. Fisher and J. G. Mexal. 1986. Root system modification of container stock for arid land plantation. *Forest Ecology and Management* 16: 281-290.
- Rosenfeld, J. M., R. M. Navarro C. and J. R. Guzmán. 2006. Regeneration of *Nothofagus pumilio* (Poepp. et Endl.) Krasser forest after five years of seed tree cutting. *Journal of Environmental Management*. 78(1):44-51.
- Statistical Analysis System. Institute Inc. 2004. SAS/STAT® 9.1.2. User's Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC. USA. 111 p.
- Thompson, B. E. 1985. Seedling morphology: what you can tell by looking. In: Duryea M. L. (Ed.). *Evaluating seedling quality: principles, procedures and predictive abilities of major tests*. Corvallis, OR. USA. pp. 59-71.
- Van Den Driessche, R. 1992. Changes in drought resistance and root growth capacity of container seedlings in response to nursery drought, nitrogen, and potassium treatments. *Can. J. For. Res.* 22(5):740-749.
- Villar-Salvador, P., L. Ocaña, J. Peñuelas and I. Carrasco. 2000. Effect of water stress conditioning on the water relations, root growth capacity, and the nitrogen and non-structural carbohydrate concentration of *Pinus halepensis* Mill. (Aleppo pine) seedlings. *Ann. For. Sci.* 56(6):459-465.