

Does fertilization hardening improve the morphometric and physiological characteristics of *Pinus rudis* Endl. seedlings?

¿El endurecimiento mediante fertilización mejora las características morfométricas y fisiológicas de plántulas de *Pinus rudis* Endl.?

María L. Ávila-Angulo¹; Armando Gómez-Guerrero^{1*}; Arnulfo Aldrete¹; J. Jesús Vargas-Hernández¹; Miguel Á. López-López¹; Javier Hernández-Ruiz²

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Postgrado en Ciencias Forestales. km 36.5 carretera México-Texcoco. C. P. 56230. Montecillo, Texcoco, Estado de México.

²Tecnológico Nacional de México, campus Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala. km 7.5 carretera San Martín-Tlaxcala. C. P. 90122. San Diego Xocoyucan, Ixtacuixtla, Tlaxcala, México.

*Corresponding author: agomezg@colpos.mx, tel.: +52 595 952 0200, ext. 1475.

Abstract

Introduction: One strategy to improve plant quality is fertilization hardening, which promotes the accumulation of nutrients.

Objective: To evaluate hardening in *Pinus rudis* Endl. plants with different levels of phosphorus (P), potassium (K) and soluble fertilizer (SF) in irrigation.

Materials and methods: A completely randomized design was used to test levels 0, 50 and 100 % higher than the basic dose of P, K and SF (Peters Professional® 4-25-35 of N, P and K, respectively); the effect was measured in plant morphometry and nutrient content. An analysis of variance and mean separation was performed with Tukey's test ($P < 0.05$). Changes in nutrient accumulation in plants were detected by graphical vector analysis.

Results and discussion: Ten months after the hardening process, the seedlings had a root collar diameter of 4.8 to 5.5 mm, aerial dry weight of 4.2 to 4.4 g and root dry weight of 1.1 to 1.2 g. The doses of P, K and FS did not affect the morphometry of the plant, but did affect the concentration of nutrients. Vector analysis detected luxury nutrient consumption in the order $P > N > K$. The highest nutrient contents were achieved with SF at a level of 100 % above the basic dose (4-25-35).

Conclusion. Hardening of *P. rudis* plants is possible through fertilization management. The process led to additional reserves in the foliage.

Keywords: vector analysis; plant quality; luxury consumption; forest nutrition; phosphorus.

Resumen

Introducción: Una estrategia para mejorar la calidad de la planta es el endurecimiento mediante fertilización, que consiste en propiciar la acumulación de nutrimentos.

Objetivo: Evaluar el endurecimiento en plantas de *Pinus rudis* Endl. con distintos niveles de fósforo (P), potasio (K) y fertilizante soluble (FS) en el riego.

Materiales y métodos: El diseño fue completamente al azar, probando niveles de 0, 50 y 100 % superiores a la dosis básica de P, K y FS (Peters Professional® 4-25-35 de N, P y K, respectivamente); el efecto se midió en la morfometría de la planta y contenido de nutrimentos. Se realizó un análisis de varianza y separación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Los cambios de acumulación de nutrientes en la planta se detectaron mediante un análisis gráfico de vectores.

Resultados y discusión: Diez meses después del proceso de endurecimiento, las plántulas tuvieron diámetro al cuello de raíz de 4.8 a 5.5 mm, peso seco aéreo de 4.2 a 4.4 g y peso seco de raíces de 1.1 a 1.2 g. Las dosis de P, K y FS no afectaron la morfometría de la planta, pero sí la concentración de nutrimentos. El análisis de vectores detectó consumo de lujo de nutrimentos en el orden $P > N > K$. Los contenidos nutrimentales más altos se lograron con FS a un nivel de 100 % por arriba de la dosis básica (4-25-35).

Conclusión. El endurecimiento de planta de *P. rudis* es posible mediante el manejo de la fertilización. El proceso condujo a reservas adicionales en el follaje.

Palabras clave: análisis de vectores; calidad de planta; consumo de lujo; nutrición forestal; fósforo.

Introduction

Hardening is a practice performed during nursery plant production in which mechanisms of resistance to a stress factor are stimulated (Escobar, 2012; Vilagrosa, Villar-Salvador, & Puértolas, 2006). Hardening can be achieved with variations in solar radiation, temperature, moisture level or fertilization, depending on project objectives. Through fertilization hardening, the morphometry, physiology or concentration of nutrients in the plant can be modified and, at the same time, a favorable response to stress conditions can be stimulated to increase field survival (García-Pérez, Aldrete, López-Upton, Vargas-Hernández, & Prieto-Ruíz, 2015; Li, Wang, Oliet, & Jacobs, 2016).

Hardening fertilization promotes a redistribution of photosynthates in the plant, encourages the expansion of lateral roots that aids root contact with the soil, and increases the chances for successful field establishment (Grossnickle & MacDonald, 2018). Fertilization in the hardening phase promotes luxury consumption of nutrients, which refers to an increase in nutrient concentration above what the plant can use for development under optimum conditions, without reaching a toxicity condition (Dumroese, 2003). In the initial phase, phosphorus stimulates root growth in nursery plants, influences plant morphometry and favors water and nutrient absorption, as well as survival in the field (López-Bucio et al., 2002). The increase in potassium reserves, during hardening in the nursery, increases the resistance of plants to frost, due to the influence on osmotic potential and the stomatal opening mechanism that leads to better water use efficiency (Ramírez-Cuevas & Rodríguez-Trejo, 2010); however, some authors believe that the benefit of more potassium in the field is not yet clear (Fernández, Marcos, Tapias, Ruiz, & López, 2007). In relation to frost resistance, the importance of the nutrient load in the plant is in the order $N > P > K$ (Guo, Han, Li, Xu, & Wang, 2019).

The response of seedlings to hardening depends on fertilization, stage of development and time of year (Trubat, Cortina, & Vilagrosa, 2008). However, the interrelationship between nutrition and hardening in conifers still requires research. In this sense, it is important to generate specific information on the species and conditions of fertilization hardening, in order to propose plant production strategies according to the field conditions where the plants will be established (Jackson, Dumroese, & Barnett, 2012; Puértolas, Gil, & Pardos, 2003, 2005). Therefore, the objective of this work was to evaluate the effect of different levels of fertilization, as a hardening strategy, on the morphometry and physiology of seedlings of *Pinus rudis* Endl., a species used for reforestation in degraded sites.

Introducción

El endurecimiento es una práctica realizada durante la producción de planta de vivero en la que se estimulan mecanismos de resistencia a un factor de estrés (Escobar, 2012; Vilagrosa, Villar-Salvador, & Puértolas, 2006). El endurecimiento se puede lograr con variaciones de la radiación solar, temperatura, nivel de humedad o fertilización, según los objetivos del proyecto. Mediante el endurecimiento con fertilización se puede modificar la morfometría, fisiología o concentración de nutrimentos en la planta y, a su vez, estimular una respuesta favorable a las condiciones de estrés para aumentar la supervivencia en campo (García-Pérez, Aldrete, López-Upton, Vargas-Hernández, & Prieto-Ruíz, 2015; Li, Wang, Oliet, & Jacobs, 2016).

El endurecimiento por fertilización promueve una redistribución de fotosintatos en la planta, incentiva la expansión de raíces laterales que ayudan al contacto de la raíz con el suelo, y aumenta la posibilidad de éxito en el establecimiento en campo (Grossnickle & MacDonald, 2018). La fertilización en la fase de endurecimiento promueve el consumo de lujo de nutrientes, el cual se refiere al incremento en la concentración de estos por arriba del óptimo para el desarrollo de una planta, sin llegar a una condición de toxicidad (Dumroese, 2003). En la fase inicial, el fósforo estimula el crecimiento de raíces en plantas de vivero, influye en la morfometría de la planta y favorece la absorción de agua y nutrientes, así como la supervivencia (López-Bucio et al., 2002). El aumento en las reservas de potasio, durante el endurecimiento en vivero, incrementa la resistencia de las plantas a las heladas, debido a la influencia en el potencial osmótico y al mecanismo de apertura estomática que conduce el uso eficiente de agua (Ramírez-Cuevas & Rodríguez-Trejo, 2010); sin embargo, algunos autores opinan que el beneficio de mayor cantidad de potasio en campo no es claro aún (Fernández, Marcos, Tapias, Ruiz, & López, 2007). En relación con la resistencia a heladas, la importancia de la carga de nutrientes en la planta es en el orden $N > P > K$ (Guo, Han, Li, Xu, & Wang, 2019).

La respuesta de las plántulas al endurecimiento depende de la fertilización, etapa de desarrollo y época del año (Trubat, Cortina, & Vilagrosa, 2008). No obstante, la interrelación entre nutrición y endurecimiento en coníferas aún requiere investigación. En este sentido, es importante generar información específica de las especies y condiciones del endurecimiento con fertilización, para proponer estrategias de producción de planta de acuerdo con las condiciones de campo donde se va a establecer (Jackson, Dumroese, & Barnett, 2012; Puértolas, Gil, & Pardos, 2003, 2005). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de distintos niveles de fertilización, como estrategia de endurecimiento, sobre la morfometría y fisiología

Materials and methods

Nursery stage

The nursery stage was carried out in the experimental greenhouses belonging to the Colegio de Postgraduados' Postgraduate Forest Sciences program in Montecillo, Texcoco, State of Mexico (9° 29' N - 98° 54' W and elevation of 2240 m). *Pinus rudis* was planted during the first two weeks of October 2012. The seed came from the "El Vergel" germplasm bank, operated by the National Forestry Commission network and located in San Pedro Cholula, Puebla. A mixture of pine bark, peat moss, perlite and vermiculite was used as substrate at a ratio of 70:10:10:10 by volume. In addition, Osmocote Plus® fertilizer (15-9-12) was added with a release time of nine months, in doses of 7 kg·m⁻³ of substrate, which is equivalent to 3750, 967.5 and 2490 ppm in mass of N, P and K, respectively, taking into account that the density of the substrate was 0.28 g·cm⁻³. Individual black containers (tubes) with lateral openings were used, measuring 11.9 cm long, 6 cm in upper diameter, and 4.9 cm in lower diameter, with a volume of 220 mL. The plants grew in a plastic-covered greenhouse for eight months before starting the hardening test. Nursery management of the plant included daily irrigations to field capacity during the first establishment stage (six weeks) and irrigations to saturation every other day during the fast growth stage. Only in the last month of this eight-month preparatory phase were supplementary applications of soluble fertilizer (Peters Professional®) made to the irrigation water once a week. This is a common practice in the conifer plant production process. Formulation 20-20-20 was used in doses of 0.5 g·L⁻¹, equivalent to 100, 43 and 83 ppm (m/v) of N, P and K, respectively.

Fertilization treatments in the hardening stage

Hardening started on May 31, 2013 and consisted of using traditional fertilization (control) and increasing combinations of P and K. The control hardening treatment corresponded to plants fertilized with Peters Professional® (4-25-35 N, P and K, respectively), according to the recommended levels for the hardening phase of conifers (Landis, 1989). Fertilization combinations were prepared according to each treatment shown in Table 1. Treatments 2 and 3 consisted of adding P at two levels: 50 % (P+) and 100 % (P++) with respect to the control. Similarly, for treatments 4 and 5, two levels identified as K+ and K++ were used, corresponding to a 50 and 100 % increase of K with respect to the control. Finally, in treatments 6 and 7, the dose of Peters Professional® was increased by 50 % (PT+) and 100 % (PT++).

In the treatments, P and K levels were modified with 85 % phosphoric acid (H₃PO₄) and potassium sulfate (K₂SO₄), respectively. Irrigation combined with

de plántulas de *Pinus rudis* Endl., una especie rústica destinada a reforestaciones en sitios degradados.

Materiales y métodos

Etapa de vivero

La etapa de vivero se realizó en los invernaderos experimentales del Postgrado en Ciencias Forestales del Colegio de Postgraduados en Montecillo, Texcoco, Estado de México (9° 29' N - 98° 54' O y altitud de 2240 m). La siembra de *P. rudis* se hizo durante la primera quincena del mes de octubre de 2012. La semilla provino del banco de germoplasma "El Vergel" ubicado en San Pedro Cholula, Puebla; un banco de la red de la Comisión Nacional Forestal. Como sustrato se utilizó una mezcla de corteza de pino, turba de musgo, perlita y vermiculita en proporción 70:10:10:10 en volumen. Se adicionó fertilizante Osmocote Plus® (15-9-12) con tiempo de liberación de nueve meses, en dosis de 7 kg·m⁻³ de sustrato, lo que equivale a 3750, 967.5 y 2490 ppm en masa de N, P y K, respectivamente, tomando en cuenta que la densidad del sustrato fue 0.28 g·cm⁻³. Se utilizaron envases individuales (tubetes) de color negro con aberturas laterales, cuyas medidas son 11.9 cm de largo, 6 cm de diámetro superior, 4.9 cm de diámetro inferior y volumen de 220 mL. Las plantas crecieron en un invernadero con cubierta de plástico durante ocho meses antes de iniciar la prueba de endurecimiento. El manejo de la planta en vivero incluyó riegos diarios a capacidad de campo durante la primera etapa de establecimiento (seis semanas) y riegos hasta saturación cada dos días durante la etapa de crecimiento rápido. Solo en el último mes de esta fase preparatoria de ocho meses se hicieron aplicaciones complementarias con fertilizante soluble (Peters Professional®) en el agua de riego, una vez por semana. Lo anterior es una práctica común en el proceso de producción de planta de coníferas. Se utilizó la formulación 20-20-20 en dosis de 0.5 g·L⁻¹ equivalente a 100, 43 y 83 ppm (m/v) de N, P y K, respectivamente.

Tratamientos de fertilización en la etapa de endurecimiento

El endurecimiento inició el 31 de mayo de 2013 y consistió en utilizar la fertilización tradicional (testigo) y combinaciones crecientes de P y K. El tratamiento testigo de endurecimiento correspondió a plantas fertilizadas con Peters Professional® (4-25-35 de N, P y K, respectivamente), de acuerdo con los niveles recomendados para la fase de endurecimiento de coníferas (Landis, 1989). Las combinaciones de fertilización se prepararon de acuerdo con cada tratamiento mostrado en el Cuadro 1. Los tratamientos 2 y 3 consistieron en adicionar P en dos niveles: 50 %

fertilization was done every 72 h for a period of eight weeks. The experiment was established in a completely randomized design. Each of the seven treatments (Table 1) was made up of 50 plants and replicated four times, resulting in a total of 1400 plants.

Evaluation of morphometric characteristics

After hardening, 48 plants randomly selected per treatment were evaluated; 12 plants were extracted from the central part of the plots from each replicate to eliminate the possible edge effect. Root collar diameter was measured in each plant and then the substrate was carefully removed with abundant water so as not to lose any plant material of interest. Subsequently, the aerial part was separated from the root with a cut at the height of the root collar; excess moisture was removed with absorbent paper and each part was deposited in a paper bag. The samples were dried in an oven with air circulation at 70 °C for 72 h and then the dry weight of each component was obtained. The aerial part/root ratio (APRR) was calculated from the data.

Evaluation of root growth potential

The root growth potential test consisted of placing a random sample of plants in a favorable environment to promote rapid root growth. These plants grew in a substrate with a 70:30 ratio of bark and perlite for 40 days in 10-L pots, protected under a greenhouse and with daily irrigation. At the time of transplant all white roots were cut to give rise to the formation of fine roots (<2 mm). White roots represent newly formed tissue, whose growth potential is influenced by the plant's ability to adapt to site conditions (Ostonen, Lõhmus, Helmisaari, Truu, & Meel, 2007). The experimental unit consisted of three plants per treatment with four replicates, giving a total of 12 plants per treatment. The arrangement of the pots was random. At 40

(P+) y 100 % (P++) con respecto al testigo. De manera similar, para los tratamientos 4 y 5, se manejaron dos niveles identificados como K+ y K++ que corresponden a 50 y 100 % de aumento de K con respecto al testigo. Finalmente, en los tratamientos 6 y 7, la dosis de Peters Professional® se incrementó en 50 % (PT+) y 100 % (PT++).

En los tratamientos, los niveles de P y K se modificaron con ácido fosfórico (H_3PO_4) al 85 % y sulfato de potasio (K_2SO_4), respectivamente. El riego combinado con fertilización se hizo cada 72 h por un periodo de ocho semanas. El experimento se estableció en un diseño completamente al azar. Cada uno de los siete tratamientos (Cuadro 1) se integró con 50 plantas y se repitió cuatro veces, lo que resultó en un total de 1400 plantas.

Evaluación de las características morfométricas

Después del endurecimiento se evaluaron 48 plantas por tratamiento seleccionadas al azar; de cada repetición se extrajeron 12 plantas de la parte central de las parcelas para eliminar el posible efecto de orilla. En cada planta se midió el diámetro del cuello de la raíz y luego se removió el sustrato con agua abundante de manera cuidadosa para no perder material vegetal de interés. Posteriormente, la parte aérea se separó de la radical con un corte a la altura del cuello de la raíz; el exceso de humedad se retiró con papel absorbente y cada parte se depositó en bolsas de papel. Las muestras se secaron en estufa con circulación de aire a 70 °C durante 72 h y después se obtuvo el peso seco de cada componente. Con los datos se calculó la relación parte aérea/raíz (RPAR).

Evaluación del potencial de crecimiento de raíz

La prueba de potencial de crecimiento de raíz consistió en colocar una muestra aleatoria de plantas en un ambiente favorable para promover el crecimiento rápido

Table 1. Fertilization dose for hardening treatments in *Pinus rudis*.

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

Number/ Número	Treatment/ Tratamiento	Amount per plant (mg)/ Cantidad por planta (mg)			Average amount per irrigation (mg)/ Cantidad media por riego (mg)					
		N	P	K	N	P	K			
1	Control	N_T	P_T	K_T	64.0	172.0	464.8	4.0	10.8	29.1
2	P+	N_T	$1.5P_T$	K_T	64.0	258.0	464.8	4.0	16.1	29.1
3	P++	N_T	$2P_T$	K_T	64.0	344.0	464.8	4.0	21.5	29.1
4	K+	N_T	P_T	$1.5K_T$	64.0	172.0	697.2	4.0	10.8	43.6
5	K++	N_T	P_T	$2K_T$	64.0	172.0	929.6	4.0	10.8	58.1
6	PT+	$1.5N_T$	$1.5P_T$	$1.5K_T$	96.0	258.0	697.2	6.0	16.1	43.6
7	PT++	$2N_T$	$2P_T$	$2K_T$	128.0	344.0	929.6	8.0	21.5	58.1

T = dose similar to the control. The substrate of all treatments also contained Osmocote Plus® (15-9-12).

T = dosis similar al testigo. El sustrato de todos los tratamientos contenía también Osmocote Plus® (15-9-12).

days, the plants were removed from the pots and the roots were carefully washed for measurement. The variables obtained were total number of initial roots (NIR), number of roots formed (NRF) and dry weight of new roots (DWNR). New roots were identified by their characteristic white color, as has been done in similar studies (Sánchez-Aguilar, Aldrete, Vargas-Hernández, & Ordaz-Chaparro, 2016).

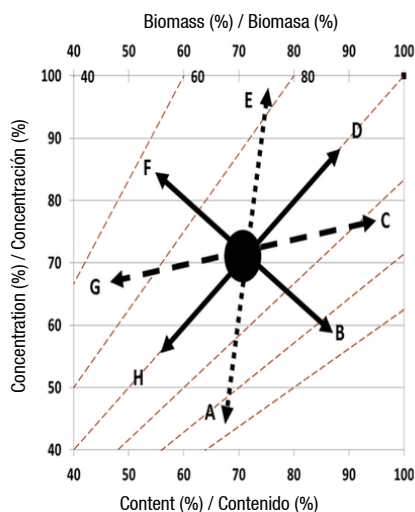
Nutritional analysis

After hardening, the NPK nutrient concentration was analyzed in the foliage and in the aerial part (four replicates per treatment). Foliar analyses were interpreted using the vector analysis technique proposed by Park, Park, and Bae (2015). This technique analyzes, together, the relative changes of the variables plant component mass and nutrient concentration and content (Isaac & Kimaro, 2011; López-López & Alvarado-López, 2010; Mead, Scott, & Chang, 2010; Park et al., 2015; Salifu & Timmer, 2003). Vectors were plotted with a program based on macros programmed in Excel (<http://bit.ly/2Eok8GF>). Figure 1 shows a summary of the graphical basis of the vector method used in this study and the explanation of the changes with respect to the control treatment. The main effects were determined according to the graphical interpretation, as has been done in other studies (Isaac & Kimaro, 2011; López-López & Alvarado-López, 2010; Mead et al., 2010; Park et al., 2015; Salifu & Timmer, 2003).

de las raíces. Estas plantas crecieron en un sustrato con proporción 70:30 de corteza y perlita durante 40 días en macetas con capacidad de 10 L, protegidas bajo invernadero y con riego diario. Al momento del trasplante se cortaron todas las raíces blancas para dar lugar a la formación de raíces finas (<2 mm). Las raíces blancas representan tejido formado recientemente, cuyo potencial de crecimiento es influenciado por la capacidad de la planta para adaptarse a las condiciones del sitio (Ostonen, Lõhmus, Helmisaari, Truu, & Meel, 2007). La unidad experimental fue de tres plantas por tratamiento con cuatro repeticiones, dando un total de 12 plantas por tratamiento. El arreglo de las macetas fue al azar. A los 40 días, las plantas se sacaron de las macetas y se lavaron las raíces con cuidado para hacer la medición. Las variables obtenidas fueron el número total de raíces iniciales (NRI), número de raíces formadas (NRF) y peso seco de las raíces nuevas (PSRN). Las raíces nuevas se identificaron por su color blanco característico, tal como se ha realizado en estudios similares (Sánchez-Aguilar, Aldrete, Vargas-Hernández, & Ordaz-Chaparro, 2016).

Análisis nutrimental

Después del endurecimiento, la concentración de nutrientes NPK se analizó en el follaje y en la parte aérea (cuatro repeticiones por tratamiento). Los análisis foliares se interpretaron mediante la técnica de análisis de vectores propuesta por Park, Park,



Vector	Change in: / Cambio en:			Effect / Efecto
	Biomass / Biomasa	Concent.	Cont.	
A	+	-	+/0	Greater growth. Possible dilution. / Mayor crecimiento. Posible dilución.
B	+	-/0	+	Greater growth. Greater nutrient availability. / Mayor crecimiento. Mayor disponibilidad de nutriente.
C	+	+	+	Greater growth. Positive effect on the three variables. / Mayor crecimiento. Efecto positivo en las tres variables.
D	0	+	+	No changes in growth. Luxury consumption. / Sin cambios en crecimiento. Consumo de lujo.
E	-	+	+/0	Growth reduction. Excess nutrient. / Reducción en crecimiento. Exceso de nutriente.
F	-	+/0	-	Nutrient absorption without growth gain. / Absorción de nutriente sin ganancia en crecimiento.
G	-	-	-	Antagonistic effect. Negative effect on the three variables. / Efecto antagónico. Efecto negativo en las tres variables.
H	0	-	-	No change in growth. Proportional decrease in concentration and content. / Sin cambios en crecimiento. Disminución proporcional en concentración y contenido.

Concentration (% with respect to the control), Content (% with respect to the control), Biomass (% with respect to the control) / Concentración (% con respecto al testigo), Contenido (% con respecto al testigo), Biomasa (% con respecto al testigo)

Figure 1. Vector method in nutritional analysis. Graphical summary of the main changes in the variables (mass of the plant component and concentration and content of nutrients) and their most likely effect.

Figura 1. Método de vectores en el análisis nutrimental. Resumen gráfico de cambios principales de las variables (masa del componente vegetal y concentración y contenido de nutrimentos) y su efecto más probable.

Statistical analysis

An analysis of variance ($P \leq 0.05$) was performed to compare the means of the morphometric variables, root growth potential and nutrient concentrations among treatments, under a completely randomized model with the use of the SAS version 9.0 program (Statistical Analysis System Institute [SAS], 2002). Separation of means was done with the Tukey test ($P \leq 0.05$).

Results and discussion

Morphometric characteristics of *Pinus rudis*

According to Table 2, the morphometric characteristics of *P. rudis* showed no significant differences among treatments ($P > 0.05$). In 10 months, *P. rudis* seedlings reached a root collar diameter of 4.8 to 5.5 mm, aerial dry weight of 4.2 to 4.4 g, root dry weight of 1.1 to 1.2 g and the aerial part/root ratio (APRR) in all treatments was 4.

Morphometric parameters indicate that, despite undergoing different levels of fertilization, biomass proportions did not change. The results suggest that for *P. rudis*, biologically it is more important to maintain its morphometric balance than to take advantage of greater nutrient availability, as occurs in other forest species such as *Quercus ilex* ssp. *ballota* (Desf.) Samp. (Andivia, Fernández, & Vázquez-Piqué, 2011). The ideal APRR varies between 2 and 3 (Jackson et al., 2012; Villar, 2003), but in this study *P. rudis* showed a value of 4. It is possible that because it is a species that grows in sites with a dry spring season and a cold winter, the priority of energy investment in root biomass is lower compared to other species (Magaña, Torres, Rodríguez, Aguirre, & Fierros, 2008).

y Bae (2015). Esta técnica analiza, conjuntamente, los cambios relativos de las variables masa del componente vegetal y concentración y contenido de nutrientes (Isaac & Kimaro, 2011; López-López & Alvarado-López, 2010; Mead, Scott, & Chang, 2010; Park et al., 2015; Salifu & Timmer, 2003). Los vectores se graficaron con un programa basado en macros programadas en Excel (<http://bit.ly/2Eok8GF>). La Figura 1 muestra un resumen de la base gráfica del método de vectores empleado en este estudio y la explicación de los cambios con respecto al tratamiento testigo. Los efectos principales se determinaron de acuerdo con la interpretación gráfica, tal como se ha realizado en otros estudios (Isaac & Kimaro, 2011; López-López & Alvarado-López, 2010; Mead et al., 2010; Park et al., 2015; Salifu & Timmer, 2003).

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza ($P \leq 0.05$) para comparar las medias de las variables morfométricas, potencial de crecimiento de raíz y concentraciones de nutrientes entre tratamientos, bajo un modelo completamente al azar con el uso del programa SAS versión 9.0 (Statistical Analysis System Institute [SAS], 2002). La separación de medias se hizo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Resultados y discusión

Características morfométricas de *Pinus rudis*

De acuerdo con el Cuadro 2, las características morfométricas de *P. rudis* no mostraron diferencias significativas entre tratamientos ($P > 0.05$). En 10 meses, las plántulas de *P. rudis* alcanzaron un diámetro al cuello

Table 2. Morphometric characteristics of *Pinus rudis* plants subjected to hardening with seven levels of fertilization.

Cuadro 2. Características morfométricas de plantas de *Pinus rudis* sometidas a endurecimiento con siete niveles de fertilización.

Treatment/ Tratamiento	RND (mm)/ DCR (mm)	Aerial dry weight (g)/ Peso seco aéreo (g)	Root dry weight (g)/ Peso seco raíces (g)	Total dry weight (g)/ Peso seco total (g)	APRR/ RPAR
P+	5.4 ± 0.3 a	4.3 ± 0.3 a	1.1 ± 0.1 a	5.4 ± 0.3 a	3.9 ± 0.3 a
P++	5.4 ± 0.3 a	4.2 ± 0.3 a	1.1 ± 0.1 a	5.3 ± 0.3 a	3.8 ± 0.3 a
K+	4.8 ± 0.4 a	4.3 ± 0.3 a	1.2 ± 0.3 a	5.5 ± 0.5 a	3.6 ± 0.3 a
K++	5.9 ± 1.1 a	4.3 ± 0.3 a	1.1 ± 0.1 a	5.4 ± 0.4 a	3.9 ± 0.3 a
PT+	5.5 ± 0.3 a	4.3 ± 0.3 a	1.1 ± 0.1 a	5.4 ± 0.4 a	3.9 ± 0.2 a
PT2++	5.4 ± 0.3 a	4.4 ± 0.3 a	1.2 ± 0.3 a	5.6 ± 0.4 a	3.7 ± 0.3 a
Control/Testigo	5.3 ± 0.3 a	4.2 ± 0.2 a	1.1 ± 0.1 a	5.3 ± 0.3 a	3.8 ± 0.3 a

RND: root collar diameter; APRR: aerial part/root ratio. Treatments: Control = Peters Professional® (4-25-35); P+ and P++ = 50 and 100 % increase in P, respectively, in relation to the control; K+ and K++ = 50 and 100 % increase in K, respectively, in relation to the control; PT+ and PT++ = 50 and 100 % increase in Peters Professional®, respectively. Average values ± standard error. Means with a different letter are statistically different according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

DCR: diámetro al cuello de la raíz; RPAR: relación parte aérea/raíz. Tratamientos: Testigo = Peters Professional® (4-25-35); P+ y P++ = aumento de 50 y 100 % de P, respectivamente, con relación al testigo; K+ y K++ = aumento de 50 y 100 % de K, respectivamente, con relación al testigo; PT+ y PT++ = aumento de 50 y 100 % de Peters Professional®, respectivamente. Valores promedios ± error estándar. Medias con letra distinta son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

The increase in P, K and FS during the eight weeks of hardening had no significant effect on morphometry ($P > 0.05$). In this respect, in *Pinus engelmannii* Carr., fertilization hardening combined with exposure to the elements stimulated root growth and promoted a greater concentration of nutrients in the foliage (García-Pérez et al., 2015); however, the net advantages in the field have not yet been demonstrated due to the lack of research and knowledge about pine species in Mexico. Although *Pinus montezumae* Lamb. showed a favorable response to fertilization hardening in the field, this benefit was only observed in northern exposures with higher water availability and lower temperatures (Robles, Rodríguez, & Villanueva, 2017). In studies with *Pinus resinosa* Ait., it was observed that, although nutrient concentrations during the hardening phase did not differ between fertilized and unfertilized plants, the former responded faster in growth after a period of drought (Miller & Timmer, 1994). These papers highlight the importance of continuing with hardening studies and field evaluation.

Root growth potential

Most treatments showed the NIR and NRF to be similar to those of the control (Table 3). Only the K+ and PT++ treatments showed significant difference ($P \leq 0.05$) in NIR from each other, as did P+ and PT++ in the NRF ($P \leq 0.05$). Regarding the DWNRF, no significant differences were observed among treatments; however, when the P dose increased by 50 %, the seedlings increased their number of white roots by 25 % compared to the control.

A notable result was the highest NIR obtained due to the 50 % increase in the dose of K (K+). The treatment with 50 % more phosphorus (P+) generated higher NRF with an average of 201; in contrast, a 100 % increase in soluble fertilizer (PT++) resulted in the lowest NRF. This is because the roots acquire P mainly by diffusion and the plants tend to form more fine roots to ensure their supply (Schlesinger & Bernhardt, 2013); therefore, if the substrate provides enough P, fewer fine roots are generated. The results show a bell trend with an optimum of 259 mg P per plant that is satisfied with the P+ treatment.

Root growth potential is a reliable index of successful plant establishment in the field (Grossnickle, 2005) because it provides data on the production and growth of new roots during the rooting of seedlings in an optimal environment (Hasse, 2007).

Nutritional analysis

Concentrations of N, P and K in the foliage, after the hardening process, showed positive and negative changes with respect to the control, but remained within the expected values for conifers (Landis, 1989).

de la raíz de 4.8 a 5.5 mm, peso seco aéreo de 4.2 a 4.4 g, peso seco de raíces de 1.1 a 1.2 g y la relación parte aérea /raíz (RPAR) en todos los tratamientos resultó de 4.

Los parámetros morfométricos indican que, a pesar de someterse a diferentes niveles de fertilización, las proporciones de biomasa no cambiaron. Los resultados sugieren que para *P. rudis*, biológicamente es más importante mantener su balance morfométrico que aprovechar mayor disponibilidad de nutrientes, como ocurre en otras especies forestales como *Quercus ilex* ssp. *ballota* (Desf.) Samp. (Andivia, Fernández, & Vázquez-Piqué, 2011). La RPAR ideal varía entre 2 y 3 (Jackson et al., 2012; Villar, 2003), pero en este estudio *P. rudis* mostró un valor de 4. Es posible que por ser una especie que crece en sitios con estación de primavera seca e invierno frío, la prioridad de inversión de energía en biomasa de raíces sea menor comparada con otras especies (Magaña, Torres, Rodríguez, Aguirre, & Fierros, 2008).

El aumento de P, K y FS durante las ocho semanas de endurecimiento no tuvo efecto significativo en la morfometría ($P > 0.05$). Al respecto, en *Pinus engelmannii* Carr., el endurecimiento de fertilización combinado con la exposición a la intemperie estimuló el crecimiento de la raíz y promovió mayor concentración de nutrientes en el follaje (García-Pérez et al., 2015); sin embargo, las ventajas netas en campo no se han podido demostrar, debido a la falta de investigación y conocimiento sobre las especies de pino en México. Aunque *Pinus montezumae* Lamb. mostró respuesta favorable al endurecimiento con fertilización en campo, este beneficio solo se observó en exposiciones norte con mayor disponibilidad de agua y temperaturas más bajas (Robles, Rodríguez, & Villanueva, 2017). En estudios con *Pinus resinosa* Ait. se observó que, aunque las concentraciones de nutrientes durante la fase de endurecimiento no difirieron entre plantas fertilizadas y no fertilizadas, las primeras respondieron más rápido en crecimiento después de un periodo de sequía (Miller & Timmer, 1994). Estos trabajos resaltan la importancia de continuar con estudios de endurecimiento y su evaluación en campo.

Potencial de crecimiento de raíz

La mayoría de los tratamientos mostraron NRI y NRF similares a los del testigo (Cuadro 3). Solo los tratamientos K+ y PT++ mostraron diferencia significativa ($P \leq 0.05$) de NRI entre sí, al igual que P+ y PT++ en el NRF ($P \leq 0.05$). Con relación al PSRN no se observaron diferencias significativas entre tratamientos; sin embargo, cuando la dosis de P aumentó 50 %, las plántulas aumentaron 25 % el número de raíces blancas con respecto al testigo.

Un resultado destacable fue el mayor NRI obtenido ante el incremento de 50 % en la dosis de K (K+). El tratamiento con 50 % más de fósforo (P+) generó mayor

Table 3. Initial roots (NIR), final roots (NRF) and dry weight of new roots (DWNR) generated in the *Pinus rudis* root growth potential test with seven doses of fertilization.**Cuadro 3. Raíces iniciales (NRI), finales (NRF) y peso seco de raíces nuevas (PSRN) generadas en la prueba potencial de crecimiento de raíz de *Pinus rudis* con siete dosis de fertilización.**

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

Treatments: Control = Peters Professional® (4-25-35); P+ and P++ = 50 and 100 % increase in P, respectively, in relation to the control; K+ and K++ = 50 and 100 % increase in K, respectively, in relation to the control; PT+ and PT++ = 50 and 100 % increase in Peters Professional®, respectively. Average values ± standard error. Means with different letters are statistically different according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Tratamientos: Testigo = Peters Professional® (4-25-35); P+ y P++ = aumento de 50 y 100 % de P, respectivamente, con relación al testigo; K+ y K++ = aumento de 50 y 100 % de K, respectivamente, con relación al testigo; PT+ y PT++ = aumento de 50 y 100 % de Peters Professional®, respectivamente. Valores promedios ± error estándar. Medias con letra distinta son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

With the PT++ treatment, the highest concentration of N was obtained with a proportion of 17.78 mg·g⁻¹, while the lowest concentration of N was recorded in the P++ treatment with a value of 13.69 mg·g⁻¹. The highest concentration of P was obtained with the P++ and PT++ treatments with values of 2.96 and 2.74 mg·g⁻¹, respectively. In the case of K, the highest concentration was obtained with the PT++ treatment with a value of 5.57 mg·g⁻¹. The variation in K concentrations (4.71 to 5.57 mg·g⁻¹) is within the values recorded for other pine species such as *Pinus devoniana* Lindl. (Rueda et al., 2010). N and P concentrations are those expected for conifers under fertilization experiments and higher than those expected without fertilization; that is, values higher than 10 mg·g⁻¹ N and 1.2 mg·g⁻¹ P (Nambiar & Fife, 1991). The concentration of nutrients in the foliage and in the aerial part showed the same trend (data not shown).

Vector analysis

Since the results showed a similar graphical dispersion of nutrient concentration for the aerial and foliage biomass variables, it was decided to use a single variable for the analysis. The results shown correspond to aerial biomass, a variable that represents an important store of reserves in seedlings (Grossnickle & MacDonald, 2018). Graphical analysis of the treatments showed two predominant directions in the vectors in relation to aerial biomass. The first direction indicates an increase in nutrient concentration and content, but no change in the biomass category (diagonal lines) (Park et al., 2015). This orientation is defined by vector D in Figure 1. The second direction is related to the decrease in nutrient concentration and content without change in the biomass category. In this case, the orientation is defined by the vector H in Figure 1, which indicates an antagonistic effect (Isaac & Kimaro, 2011).

NRF con una media de 201; en contraste, un aumento de 100 % del fertilizante soluble (PT++) resultó en el menor NRF. Esto se explica debido a que las raíces adquieren P principalmente por difusión y las plantas tienden a formar más raíces finas para asegurar su abastecimiento (Schlesinger & Bernhardt, 2013); por lo tanto, si el sustrato provee suficiente P, se generan menos raíces finas. Los resultados muestran una tendencia de campana con un óptimo de 259 mg de P por planta que se satisface con el tratamiento P+.

El potencial de crecimiento de raíz es un índice confiable del establecimiento exitoso de las plantas en campo (Grossnickle, 2005), porque proporciona datos de la producción y crecimiento de raíces nuevas durante el arraigo de las plántulas en un ambiente óptimo (Hasse, 2007).

Análisis nutrimental

Las concentraciones de N, P y K en el follaje, después del proceso de endurecimiento, mostraron cambios positivos y negativos con respecto al testigo, pero se mantuvieron dentro de los valores esperados para coníferas (Landis, 1989). Con el tratamiento de PT++ se obtuvo la mayor concentración de N con una proporción de 17.78 mg·g⁻¹, mientras que la menor concentración de N se registró en el tratamiento P++ con un valor de 13.69 mg·g⁻¹. La mayor concentración de P se obtuvo con los tratamientos P++ y PT++ con valores de 2.96 y 2.74 mg·g⁻¹, respectivamente. En el caso del K, la mayor concentración se obtuvo con el tratamiento PT++ con un valor de 5.57 mg·g⁻¹. La variación en concentraciones de K (4.71 a 5.57 mg·g⁻¹) se encuentra dentro de los valores registrados para otra especie de pino como *Pinus devoniana* Lindl. (Rueda et al., 2010). Las concentraciones de N y P son las esperadas

Table 4. Concentration of N, P and K in the foliage of *Pinus rudis* after fertilization hardening treatments.**Cuadro 4. Concentración de N, P y K en el follaje de *Pinus rudis* después de los tratamientos de endurecimiento mediante fertilización.**

Treatment/Tratamiento	Nitrogen (mg·g ⁻¹)/ Nitrógeno (mg·g ⁻¹)	Phosphorus (mg·g ⁻¹)/ Fósforo (mg·g ⁻¹)	Potassium (mg·g ⁻¹)/ Potasio (mg·g ⁻¹)
P+	14.60 ± 1.53 bc	2.42 ± 0.07 b	4.71 ± 0.44 b
P++	13.69 ± 0.84 c	2.96 ± 0.17 a	5.43 ± 1.34 b
K+	14.70 ± 0.60 bc	2.24 ± 0.08 b	5.30 ± 0.60 b
K++	16.81 ± 1.96 ab	2.19 ± 0.09 b	5.32 ± 0.25 b
PT+	16.90 ± 1.38 ab	2.39 ± 0.14 b	4.85 ± 0.52 b
PT++	17.78 ± 1.10 a	2.76 ± 0.25 a	5.57 ± 1.02 a
Control/Testigo	15.95 ± 1.43 abc	2.34 ± 0.14 b	5.20 ± 1.40 b

Treatments: Control = Peters Professional® (4-25-35); P+ and P++ = 50 and 100 % increase in P, respectively, in relation to the control; K+ and K++ = 50 and 100 % increase in K, respectively, in relation to the control; PT+ and PT++ = 50 and 100 % increase in Peters Professional®, respectively. Average values ± standard error. Means with different letters are statistically different according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Tratamientos: Testigo = Peters Professional® (4-25-35); P+ y P++ = aumento de 50 y 100 % de P, respectivamente, con relación al testigo; K+ y K++ = aumento de 50 y 100 % de K, respectivamente, con relación al testigo; PT+ y PT++ = aumento de 50 y 100 % de Peters Professional®, respectivamente. Valores promedios ± error estándar. Medias con letra distinta son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Figure 2 shows the vector trend for relative aerial biomass (change in aerial biomass with respect to the control) of this study. The PT++ treatment promoted higher luxury consumption for all three nutrients. The vectors are identified as N-PT++ and K-PT++, and luxury consumption is denoted by the greater displacement of each vector towards the upper right corner in each graph in Figure 2; *i.e.*, an increase in concentration and net mass, but without proportional change in relative biomass (compare with vector D in Figure 1).

The P++ treatment (100 % higher dose than the traditional one) stimulated luxury consumption of P, since it was effective in increasing the content by almost 30 % (Figure 2); however, it reduced the N concentration (Table 4; Figure 2). The direction of the K concentration vectors in relation to the treatments is similar to those of N and P, but of shorter length, which is due to a lower response.

The objective of fertilization hardening is to increase the nutrient content in the plant mass. In this regard, the gains in nutrient concentration of this study are considered low, since conifers achieve increases of 50 % compared to the control (Dumroese, 2003), however, what is remarkable is that the relative increases were detectable by the graphical method.

The results of this work show two strategies for hardening *P. rudis*. The first is the additional load of P in the double application of soluble fertilizer in the irrigation (PT++), which is also associated with higher concentrations of foliar N and K. This hardening strategy can be considered when the *P. rudis* plant is to be established in low fertility soils, such as Cambisols or Leptosols. The second scenario is an additional load of P with the double application of phosphorus-based

para coníferas bajo experimentos de fertilización y superiores a las esperadas sin fertilización; es decir, valores superiores a 10 mg·g⁻¹ de N y 1.2 mg·g⁻¹ de P (Nambiar & Fife, 1991). La concentración de nutrientes en el follaje y en la parte aérea mostraron la misma tendencia (datos no mostrados).

Análisis de vectores

Dado que los resultados mostraron una dispersión gráfica similar de concentración de nutrientes para las variables biomasa aérea y de follaje, se decidió emplear una sola variable para el análisis. Los resultados que se muestran corresponden a la biomasa aérea, una variable que representa un almacén importante de reservas en las plántulas (Grossnickle & MacDonald, 2018). El análisis gráfico de los tratamientos mostró dos direcciones predominantes en los vectores con relación a la biomasa aérea. La primera dirección señala incremento en la concentración y contenido de nutrientes, pero sin cambio en la categoría de biomasa (líneas diagonales) (Park et al., 2015). Dicha orientación se define por el vector D de la Figura 1. La segunda dirección se relaciona con la disminución de la concentración y contenido de nutrientes sin cambio de categoría de biomasa. En este caso, la orientación se define por el vector H de la Figura 1, que indica un efecto antagónico (Isaac & Kimaro, 2011).

La Figura 2 muestra la tendencia de vectores para biomasa aérea relativa (cambio en biomasa aérea con respecto al testigo) de este estudio. El tratamiento PT++ promovió mayor consumo de lujo para los tres nutrientes. Los vectores se identifican como N-PT++ y K-PT++, y el consumo de lujo se denota por el desplazamiento mayor de cada vector hacia la esquina superior derecha en cada gráfica de la Figura 2; es

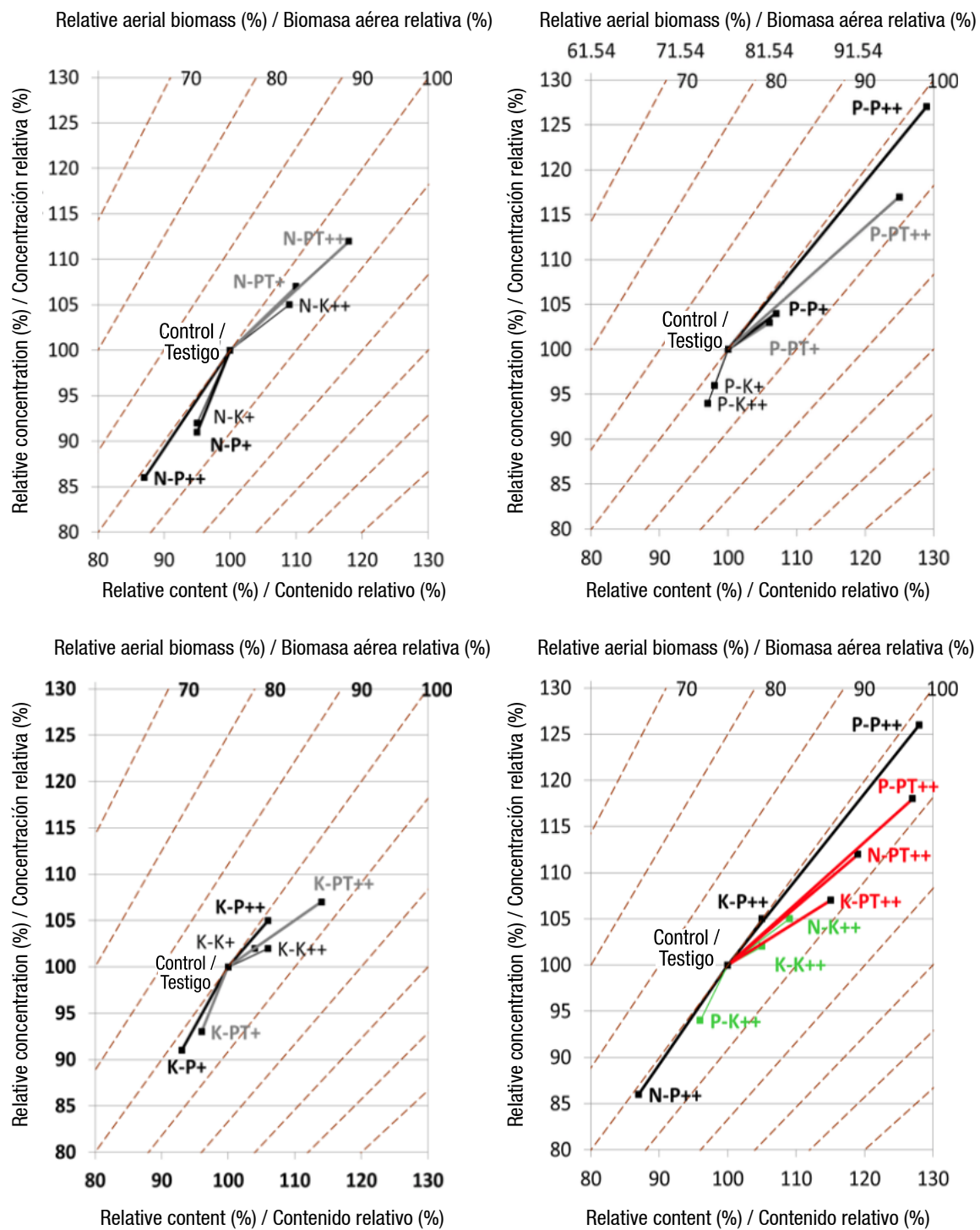


Figure 2. Vector diagram for nutritional analysis in *Pinus rudis* aerial biomass. Graphs a, b and c show changes in the relative concentration and content of N, P and K. In graph d, the black, red and green line vectors correspond to the P++, PT++ and K++ treatments, respectively. In the names of the vectors, the first letter indicates the nutrient analyzed and the second (after the hyphen) corresponds to the treatment (control = Peters Professional® [4-25-35]; P+ and P++ = 50 and 100 % increase in P, respectively, in relation to the control; K+ and K++ = 50 and 100 % increase in K, respectively, in relation to the control; PT+ and PT++ = 50 and 100 % increase in Peters Professional®, respectively).

Figura 2. Diagrama de vectores para el análisis nutrimental en la biomasa aérea de *Pinus rudis*. Los gráficos a, b y c muestran los cambios en la concentración y contenido relativo de N, P y K. En el gráfico d, los vectores en línea negra, roja y verde corresponden a los tratamientos P++, PT++ y K++, respectivamente. En los nombres de los vectores, la primera literal indica el nutriente analizado y la segunda (después del guion) corresponde al tratamiento (testigo = Peters Professional® [4-25-35]; P+ y P++ = aumento de 50 y 100 % de P, respectivamente, con relación al testigo; K+ y K++ = aumento de 50 y 100 % de K, respectivamente, con relación al testigo; PT+ y PT++ = aumento de 50 y 100 % de Peters Professional®, respectivamente).

fertilizer (P⁺⁺); however, this practice would be more advisable when the plant is destined to sites where P is critical, as is the case of Andosols.

Conclusions

Hardening of *Pinus rudis* plants is possible through fertilization management. Although the hardening did not statistically modify the morphometric parameters of the plants, it did produce physiological changes reflected in the acquisition of nutrients, which are relevant to consider according to the fertility of the planting soil. Statistical analysis combined with graphical methods, such as vector analysis, was useful for evaluating hardening practices.

Acknowledgments

The authors thank the National Council of Science and Technology for the scholarship granted to the first author of this paper.

End of English version

References / Referencias

- Andivia, E., Fernández, M., & Vázquez-Piqué, J. (2011). Autumn fertilization of *Quercus ilex* ssp. *ballota* (Desf.) Samp. nursery seedlings: effects on morpho-physiology and field performance. *Annals of Forest Science*, 68(3), 543–553. doi:10.1007/s13595-011-0048-4
- Dumroese, R. K. (2003). Hardening fertilization and nutrient loading of conifer seedlings. In L. E. Riley, R. K. Dumroese, & T. D. Landis (Eds.), *National Proceedings: Forest and Conservation Associations–2002* (pp. 31–36). Ogden, UT, USA: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Retrieved from https://www.srs.fs.usda.gov/pubs/ja/ja_dumroese003.pdf
- Escobar, R. R. (2012). Fases de cultivo: Endurecimiento. En L. T. Contardi, H. E. Gonda, G. Tolone, & J. Salimbeni (Eds.), *Producción de plantas en viveros forestales* (pp. 145–162). Buenos Aires, Argentina: Consejo Federal de Inversiones-Centro de Investigación y Extensión Forestal Andino Patagónico (CIEFAP)-Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco (UNPSJB).
- Fernández, M., Marcos, C., Tapias, R., Ruiz, F., & López, G. (2007). Nursery fertilization affects the frost-tolerance and plant quality of *Eucalyptus globulus* Labill. cuttings. *Annals of Forest Science*, 64(8), 865–873. doi: 10.1051/forest:2007071
- García-Pérez, J. L., Aldrete, A., López-Upton, J., Vargas-Hernández, J. J., & Prieto-Ruiz, J. A. (2015). Efecto de la condición ambiental y la fertilización en el precondicionamiento de *Pinus engelmannii* Carr. en vivero. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(3), 297–304. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0187-73802015000300008&script=sci_arttext&tlng=en

decir, un aumento de concentración y masa neta, pero sin cambio proporcional en biomasa relativa (comparar con vector D de Figura 1).

El tratamiento P⁺⁺ (dosis 100 % mayor que la tradicional) estimuló el consumo de lujo de P, ya que fue efectivo para incrementar el contenido en casi 30 % (Figura 2); sin embargo, redujo la concentración de N (Cuadro 4; Figura 2). La dirección de los vectores de las concentraciones de K con relación a los tratamientos es similar a los de N y P, pero de menor longitud, lo que se debe a una menor respuesta.

El objetivo del endurecimiento mediante fertilización es incrementar el contenido de nutrientes en la masa vegetal. Al respecto, las ganancias en concentración de nutrientes de este estudio se consideran bajas, ya que en coníferas se logran aumentos del 50 % en comparación con el testigo (Dumroese, 2003); sin embargo, lo destacable es que los incrementos relativos fueron detectables por el método gráfico.

Los resultados de este trabajo muestran dos estrategias para el endurecimiento de *P. rudis*. La primera es la carga adicional de P en la aplicación doble del fertilizante soluble en el riego (PT⁺⁺) que se asocia también con mayores concentraciones de N y K foliares. Esta estrategia de endurecimiento se puede considerar cuando la planta de *P. rudis* se va a establecer en suelos de baja fertilidad, como Cambisoles o Leptosoles. El segundo escenario es una carga adicional de P con la aplicación doble de fertilizante a base de fósforo (P⁺⁺); sin embargo, esta práctica sería más recomendable cuando la planta esté destinada a sitios donde el P es crítico, como es el caso de los Andosoles.

Conclusiones

El endurecimiento de planta de *Pinus rudis* es posible mediante el manejo de la fertilización. Aunque el endurecimiento no modificó estadísticamente los parámetros morfométricos de las plantas, sí produjo cambios fisiológicos reflejados en la adquisición de nutrientes, los cuales son relevantes para considerar de acuerdo con la fertilidad del suelo de la plantación. El análisis estadístico combinado con métodos gráficos, como el análisis de vectores, fue útil para la evaluación de prácticas de endurecimiento.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada a la primera autora de este trabajo.

Fin de la versión en español

- Grossnickle, S. C. (2005). Importance of root growth in overcoming planting stress. *New Forests*, 30(2-3), 273–294. doi: 10.1007/s11056-004-8303-2
- Grossnickle, S. C., & MacDonald, J. E. (2018). Why seedlings grow: influence of plant attributes. *New Forests*, 49(1), 1–34. doi: 10.1007/s11056-017-9606-4
- Guo, Z., Han, J., Li, J., Xu, Y., & Wang, X. (2019). Effects of long-term fertilization on soil organic carbon mineralization and microbial community structure. *PLoS ONE*, 14(1), e0211163. doi: 10.1371/journal.pone.0211163
- Isaac, M. E., & Kimaro, A. A. (2011). Diagnosis of nutrient imbalances with vector analysis in agroforestry systems. *Journal of Environmental Quality*, 40(3), 860–886. doi: 10.2134/jeq2010.0144
- Jackson, D. P., Dumroese, R. K., & Barnett, J. P. (2012). Nursery response of container *Pinus palustris* seedlings to nitrogen supply and subsequent effects on out planting performance. *Forest Ecology and Management*, 265, 1–12. doi: 10.1016/j.foreco.2011.10.018
- Landis, T. D. (1989). Mineral nutrients and fertilization. In T. D. Landis, R. W. Tinus, S. S. McDonald, & J. P. Barnett (Eds.), *The container tree nursery manual* (vol. 4, pp. 1–67). Washington, DC, USA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service.
- Li, G., Wang, J., Olliet, J. A., & Jacobs, D. F. (2016). Combined pre-hardening and fall fertilization facilitates N storage and field performance of *Pinus tabulaeformis* seedlings. *iForest-Biogosciences and Forestry*, 9(3), 483–489. doi: 10.3832/ifer1708-008
- López-Bucio, J., Hernández-Abreu, E., Sánchez-Calderón, L., Nieto-Jacobo, M. F., Simpson, J., & Herrera-Estrella, L. (2002). Phosphate availability alters architecture and causes changes in hormone sensitivity in the Arabidopsis root system. *Plant Physiology*, 129(1), 244–256. doi: 10.1104/pp.010934
- López-López, M. Á., & Alvarado-López, J. (2010). Interpretación de nomogramas de análisis de vectores para diagnóstico nutrimental de especies forestales. *Madera y Bosques*, 16(1), 99–108. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712010000100007
- Magaña, T. O. S., Torres, R. J. M., Rodríguez, F. C., Aguirre, D. H., & Fierros, G. A. M. (2008). Predicción de la producción y rendimiento de *Pinus rudis* Endl. en Aloapan, Oaxaca. *Madera y Bosques*, 14(1), 5–13. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/mb/v14n1/v14n1a2.pdf>
- Mead, D. J., Scott, J. T., & Chang, S. X. (2010). Using vector analysis to understand temporal changes in understory-tree competition in agroforestry systems. *Forest Ecology and Management*, 259(6), 1200–1211. doi: 10.1016/j.foreco.2010.01.010
- Miller, B. D., & Timmer, V. (1994). Steady-state nutrition of *Pinus resinosa* seedlings: response to nutrient loading, irrigation and hardening regimes. *Tree Physiology*, 14(12), 1327–1338. doi: 10.1093/treephys/14.12.1327
- Nambiar, E. S., & Fife, D. N. (1991). Nutrient retranslocation in temperate conifers. *Tree Physiology*, 9(1-2), 185–207. doi: 10.1093/treephys/9.1-2.185
- Ostonen, I., Löhmus, K., Helmisaari, H. S., Truu, J., & Meel, S. (2007). Fine root morphological adaptations in Scots pine, Norway spruce and silver birch along a latitudinal gradient in boreal forests. *Tree Physiology*, 27(11), 1627–1634. doi: 10.1093/treephys/27.11.1627
- Park, B. B., Park, G. E., & Bae, K. (2015). Diagnosis of plant nutrient and growth responses on fertilization with vector analysis and morphological index. *Forest Science and Technology*, 11(1), 1–10. doi: 10.1080/21580103.2014.931257
- Puértolas, J., Gil, L., & Pardos, J. A. (2003). Effects of nutritional status and seedling size on field performance of *Pinus halepensis* planted on former arable land in the Mediterranean basin. *Forestry*, 76(2), 159–168. doi: 10.1093/forestry/76.2.159
- Puértolas, J., Gil, L., & Pardos, J. A. (2005). Effects of nitrogen fertilization and temperature on frost hardiness of Aleppo pine (*Pinus halepensis* Mill.) seedlings assessed by chlorophyll fluorescence. *Forestry*, 78(5), 501–511. doi: 10.1093/forestry/cpi055
- Ramírez-Cuevas, Y., & Rodríguez, T. D. A. (2010). Resistencia a bajas temperaturas en *Pinus hartwegii* sometido a diferentes tratamientos con potasio. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 16(1), 79–85. doi: 10.5154/rchscfa.2009.09.032
- Robles, V. F., Rodríguez, T. D. A., & Villanueva, M. A. (2017). Calidad de planta y supervivencia en reforestación de *Pinus montezumae* Lamb. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 8(42), 55–76. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v8n42/2007-1132-remcf-8-42-00055.pdf>
- Rueda-Sánchez, A., Benavides-Solorio, J. de D., Sáenz-Reyes, J. T., Prieto-Ruiz, J. A., Muñoz, F. H. J., & Orozco, G. G. (2010). Calidad de planta producida en los viveros forestales de Jalisco y Nayarit. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 5(22), 58–73. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/remcf/v5n22/v5n22a5.pdf>
- Salifu, K., & Timmer, V. (2003). Optimizing nitrogen loading of *Picea mariana* seedlings during nursery culture. *Canadian Journal of Forest Research*, 33(7), 1287–1294. doi: 10.1139/x03-057.
- Sánchez-Aguilar, H., Aldrete, A., Vargas-Hernández, J., & Ordaz-Chaparro, V. (2016). Influencia del tipo y color de envase en el desarrollo de plantas de pino en vivero. *Agrociencia*, 50(4), 481–492. Retrieved from http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000400481
- Schlesinger, W. H., & Bernhardt, E. S. (2013). *Biogeochemistry: An analysis of global change* (3rd ed.). San Diego, California, USA: Academic Press.
- Statistical Analysis Systems Institute (2002). The SAS system for windows, release 9.0. Cary, NC, USA: Author.
- Trubat, R., Cortina, J., & Vilagrosa, A. (2008). Short-term nitrogen deprivation increases field performance in

nursery seedlings of Mediterranean woody species. *Journal of Arid Environments*, 72(6), 879–890. doi: 10.1016/j.jaridenv.2007.11.005

- Vilagrosa, A., Villar-Salvador, P., & Puértolas, J. (2006). El endurecimiento en vivero de especies forestales mediterráneas. En J. Cortina, J. L. Peñuelas, J. Puértolas, R. Savé, & A. Vilagrosa (Eds.), *Calidad de planta forestal para la restauración en ambientes mediterráneos: estado actual de conocimientos* (pp. 119–140). España: Ministerio de Medio Ambiente. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/256669382_El_endurecimiento_en_vivero_de_especies_forestales_mediterraneas
- Villar, P. (2003). Importancia de la calidad de planta en los proyectos de revegetación. En J. M. Nicolau-Ibarra, J. M. Rey-Benayas, & T. Espigares (Eds.), *Restauración de ecosistemas mediterráneos* (pp. 65–86). España: Universidad de Alcalá. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=769094>