

Relationship of rootstock xylem anatomy with the initial growth of ‘Tahiti’ lime (*Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez)

Relación de características anatómicas del xilema de portainjertos con el crecimiento inicial de lima persa ‘Tahiti’ (*Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez)

Martín Gaona-Ponce^{1*}; Gustavo Almaguer-Vargas²; Alejandro F. Barrientos-Priego²; Ma. Amparo Máxima Borja-de la Rosa³

¹Universidad Autónoma Chapingo, Unidad Regional Universitaria Sursureste. km 7 carretera Teapa-Vicente Guerrero. C. P. 86800. Teapa, Tabasco, México.

Universidad Autónoma Chapingo, ²Departamento de Fitotecnia, ³División de Ciencias Forestales. km 38.5 carretera México-Texcoco. C. P. 56230. Chapingo, Texcoco, Estado de México, México.

*Corresponding author: mgaonaponce@hotmail.com, tel.: +52 (595) 952 1500 ext. 3133.

Abstract

Introduction: Rootstock diversification arises as a consequence of the appearance of diseases and the need to improve the yields and productive efficiency of orchards.

Objective: To establish the relationship between the anatomical characteristics of the stem of four citrus rootstocks and the initial growth of ‘Tahiti’ lime (*Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez).

Materials and methods: The rootstocks ‘Volkamer’ lemon (*C. volkameriana* Tenn. & Pasq.), sour orange (*Citrus aurantium* L.), ‘Flying Dragon’ trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* [T. Ito] Swingle) and ‘Rubidoux’ trifoliolate orange (*P. trifoliata* [L.] Raf.) were evaluated. The degree of correlation between seven characteristics of the initial growth of the graft and eight characteristics of the secondary xylem of the stem of the rootstocks was established.

Results and discussion: Sour orange and ‘Volkamer’ lemon showed more vigorous growth; the variables evaluated were 23 to 70 % higher than with ‘Rubidoux’ and ‘Flying Dragon’. The sour and ‘Volkamer’ rootstocks had xylem vessels of greater area and lower density, as well as greater fiber length and xylem radiuses; these characteristics were correlated with higher shoot length and diameter values, growth rate, number of leaves and leaf area of the graft shoot. Smaller vessel size but higher density caused the opposite effect on graft growth.

Conclusion: Vessel density, diameter and length, and fiber length showed higher correlations with the growth variables, so they can be used as prediction characteristics for graft growth.

Keywords: Dwarfing rootstocks; graft growth; libriform fibers; vessel size; vessel density.

Resumen

Introducción: La diversificación de portainjertos surge como consecuencia de la aparición de enfermedades y la necesidad de mejorar los rendimientos y la eficiencia productiva de las huertas.

Objetivo: Establecer la relación que existe entre las características anatómicas del tallo de cuatro portainjertos de cítricos y el crecimiento inicial del injerto de lima persa ‘Tahiti’ (*Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez).

Materiales y métodos: Se evaluaron los portainjertos limón ‘Volkameriano’ (*C. volkameriana* Tenn. & Pasq.), naranjo agrio (*Citrus aurantium* L.), naranjo trifoliado ‘Flying Dragon’ (*Poncirus trifoliata* var. *monstrosa* [T. Ito] Swingle) y naranjo trifoliado ‘Rubidoux’ (*P. trifoliata* [L.] Raf.). Se estableció el grado de correlación entre siete características del crecimiento inicial del injerto y ocho características del xilema secundario del tallo de los portainjertos.

Resultados y discusión: El naranjo agrio y el limón ‘Volkameriano’ mostraron crecimiento más vigoroso; las variables evaluadas fueron 23 a 70 % mayores que con ‘Rubidoux’ y ‘Flying Dragon’. Los portainjertos agrio y ‘Volkameriano’ presentaron vasos del xilema de mayor área y en menor densidad, así como longitud de fibras y radios del xilema mayores; estas características se correlacionaron con valores mayores de longitud y diámetro de brote, velocidad de crecimiento, número de hojas y área foliar del brote del injerto. Un tamaño menor de los vasos, pero mayor densidad, ocasionaron el efecto contrario en el crecimiento del injerto.

Conclusión: La densidad, diámetro y longitud de los vasos, y la longitud de las fibras mostraron correlaciones más altas con las variables del crecimiento, por lo que pueden usarse como características de predicción en el crecimiento de injertos.

Palabras clave: Portainjertos enanizantes; crecimiento del injerto; fibras libriformes; tamaño de vaso; densidad de vasos.

Introduction

One of the current trends in Mexican citriculture is rootstock diversification, which arises as a result of the appearance of diseases such as the citrus tristeza virus and the need to improve the yield and productive efficiency of orchards. The diverse mechanisms of graft-rootstock interaction have been suggested in a general way and are currently being detailed, thereby increasing the knowledge for correct decision-making from the time of orchard planning.

In citrus, particularly in 'Tahiti' lime (*Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez), there are several studies related to the use of rootstocks, focused mainly on the development of vigor, yield, and fruit quality (Curti-Díaz, Hernández-Guerra, & Loredó-Salazar, 2012; Jiménez, Frometa, & García, 2009; Machado, Siqueira, Salomão, Cecon, & Da Silva, 2017; Mademba, Lemerre-Desprez, & Lebegin, 2012; Piña-Dumoulin et al., 2006). In these studies, it has been found that 'Volkamer' lemon (*Citrus volkameriana* Tenn. & Pasq.) is a rootstock that induces high vigor in the 'Tahiti' lime graft and that increases with age; the plant can reach heights of 1.04 m from the first year to more than 5 m in adulthood with crown volume greater than 100 m³. By contrast, when the trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) was evaluated as a rootstock, the heights developed by the 'Tahiti' lime were low during the first years (0.85 to 2.70 m) but increased to 3 and 4.5 m with variable crown volumes, from 9 to 98 m³. For this reason, trifoliolate orange is considered a rootstock with a dwarfing effect (Cantuarias-Avilés et al., 2012; Jiménez et al., 2009; Machado et al., 2017; Stenzel & Neves, 2004). On the other hand, Jiménez et al. (2009) and Espinoza-Núñez, Mourão, Sanches, Cantuarias-Avilés, and Dos Santos (2011) highlighted that sour orange (*C. aurantium* L.) induces high vigor with heights of 3.2 m and up to 111 m³ of crown in adulthood.

Although there are studies focused on graft vigor characteristics, few analyze their relationship with the anatomical characteristics of the rootstock stem's secondary xylem. In this regard, Tadeo, Moya, Iglesias, Talón, and Primo-Millo (2003) reported that the most vigorous rootstocks have greater physical capacity for water transport, since their stems have larger vessel elements. Citruses have secondary xylem of diffuse porosity, with vessel elements surrounded by parenchyma cells and fibers.

Saeed, Dodd, and Sohail (2010) studied the stem xylem of seven rootstocks in three-month-old citrus seedlings, among them the sour orange and 'Flying Dragon'. The researchers observed that more vigorous rootstocks, such as sour orange, have fewer vessel elements and comparatively narrower phloem in stems and roots than less vigorous ones. They also explained that the

Introducción

Una de las tendencias actuales de la citricultura mexicana es la diversificación de portainjertos, la cual surge como consecuencia de la aparición de enfermedades conocidas como el virus tristeza de los cítricos y de la necesidad de mejorar el rendimiento y la eficiencia productiva de las huertas. Los mecanismos diversos de interacción injerto-portainjerto han sido sugeridos de modo general, y se detallan en la actualidad aumentando el conocimiento para la toma de decisiones correctas desde la planeación de huertos.

En los cítricos, particularmente en la lima persa (*Citrus x latifolia* Tanaka ex Q. Jiménez), hay diversos estudios relacionados con el uso de portainjertos, enfocados preferentemente en el desarrollo del vigor, rendimiento, y calidad de la fruta (Curti-Díaz, Hernández-Guerra, & Loredó-Salazar, 2012; Jiménez, Frometa, & García, 2009; Machado, Siqueira, Salomão, Cecon, & Da Silva, 2017; Mademba, Lemerre-Desprez, & Lebegin, 2012; Piña-Dumoulin et al., 2006). En estos estudios se ha encontrado que el limón 'Volkameriano' (*Citrus volkameriana* Tenn. & Pasq.) es un portainjerto que induce alto vigor en el injerto de lima persa y que incrementa con la edad; la planta puede alcanzar alturas de 1.04 m desde el primer año hasta más de 5 m en la edad adulta con volumen de copa mayor de 100 m³. En contraparte, cuando el naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata* L. Raf.) se evaluó como portainjerto, las alturas desarrolladas por la lima persa fueron bajas durante los primeros años (0.85 a 2.70 m), pero incrementaron hasta 3 y 4.5 m con volúmenes de copa variables, desde 9 hasta 98 m³. Por esta razón, el naranjo trifoliado se considera un portainjerto de efecto enanizante (Cantuarias-Avilés et al., 2012; Jiménez et al., 2009; Machado et al., 2017; Stenzel & Neves, 2004). Por otra parte, Jiménez et al. (2009) y Espinoza-Núñez, Mourão, Sanches, Cantuarias-Avilés, y Dos Santos (2011) resaltaron que el naranjo agrio (*C. aurantium* L.) induce alto vigor con alturas de 3.2 m y hasta 111 m³ de copa en la edad adulta.

A pesar de que hay estudios enfocados en las características de vigor del injerto, pocos analizan su relación con las características anatómicas del xilema secundario del tallo de los portainjertos. Al respecto, Tadeo, Moya, Iglesias, Talón, y Primo-Millo (2003) reportaron que los portainjertos más vigorosos poseen mayor capacidad física para el transporte de agua, ya que sus tallos presentan elementos de vaso más grandes. Los cítricos tienen xilema secundario de porosidad difusa, con elementos de vaso rodeados de células de parénquima y fibras.

Saeed, Dodd, y Sohail (2010) estudiaron el xilema del tallo de siete portainjertos en plántulas de cítricos de tres meses de edad, entre ellos el naranjo agrio y 'Flying Dragon'. Los investigadores observaron que los

difference in vessel number and size is due to the synthesis of auxins in the young leaves, where high levels induce the formation of numerous and small vessels, due to their rapid rate of differentiation. On the other hand, if the auxin concentration is low, the differentiation is slower and therefore there are fewer and larger vessels. With respect to 'Flying Dragon', the authors attributed the slow growth and reduced height of the rootstock to a high bark:xylem ratio, both in root and stem. The less vigorous growth in rootstocks with smaller vessel elements in the stem and root xylem suggests that low auxin/cytokinin levels favor phloem differentiation, and higher auxin/cytokinin levels favor xylogenesis (Saeed et al., 2010).

On the other hand, Martínez-Alcántara et al. (2013) studied the behavior of 'Valencia' orange grafted onto 'Flying Dragon' and 'Rubidoux' rootstocks and recorded that the latter induced 39.7 % more fresh weight and 27.3 % more leaf area than the former. They also observed that 'Flying Dragon' had the highest values in terms of hydraulic resistance, which limited the hydraulic conductance, which in turn decreased water potential, causing a reduction in stomatal conductance. These authors concluded that the main cause of dwarfism in the 'Flying Dragon' rootstock may be its low hydraulic conductivity. Berdeja-Arbeu et al. (2013) also evaluated six, six-year rootstocks, including 'Volkamer' lemon and sour orange. These authors found no significant difference in the height of 'Tahiti' lime trees but found negative correlations in the graft perimeter with the tangential diameter of the vessel and total vessel area, which indicates that the morphology and anatomy of the 'Tahiti' lime stem xylem was affected by the different rootstocks.

In this context, this research aimed to determine the relationship between the anatomical characteristics of the stem xylem of four rootstocks (two non-dwarfing and two dwarfing) and the initial growth characteristics of the 'Tahiti' lime graft in a nursery.

Materials and methods

The experiment was carried out in a glasshouse located at Chapingo Autonomous University's Experimental Agricultural Field, situated at 19° 29' NL and 98° 52' WL, at an elevation of 2 240 m. Four types of rootstock plants, all six months of age, were obtained from the certified Maricruz nursery in Arroyo de Piedra, Tlapacoyan, Veracruz, Mexico. The plants were moved to Chapingo, Mexico; they were transplanted in 16-L individual pots and placed in the greenhouse for another nine months for their adaptation and development. The substrate was a mixture of sandy-silt soil + 10 % compost; the plants were irrigated every 72 h. The average temperature in this period was 29 °C.

portainjertos más vigorosos, como el naranjo agrio, tienen menos elementos de vasos y, comparativamente, menos floema en tallos y raíces que los menos vigorosos. También explicaron que la diferencia en número y tamaño de los vasos se debe a la síntesis de auxinas en las hojas jóvenes, donde los niveles altos inducen la formación de vasos numerosos y pequeños, debido a su tasa rápida de diferenciación. En cambio, si la concentración de auxina es baja, la diferenciación es más lenta y, por lo tanto, hay menor número de vasos y de mayor tamaño. Con respecto a 'Flying Dragon', los autores atribuyeron el crecimiento lento y altura reducida del portainjerto a una proporción alta de la relación corteza:xilema, tanto en raíz como en tallo. El crecimiento menos vigoroso en portainjertos con elementos de vaso más pequeños en el xilema de tallo y raíz sugiere que los niveles bajos de auxina/citocinina favorecen la diferenciación del floema; y niveles mayores de auxina/citocinina favorecen la xilogénesis (Saeed et al., 2010).

Por su parte, Martínez-Alcántara et al. (2013) estudiaron el comportamiento de naranja 'Valencia' injertada sobre los portainjertos 'Flying Dragon' y 'Rubidoux' y registraron que este último indujo 39.7 % más peso fresco y 27.3 % más área foliar que 'Flying Dragon'. También observaron que 'Flying Dragon' tuvo los valores más altos en cuanto a resistencia hidráulica, la cual limitó la conductancia hidráulica, que a su vez disminuyó el potencial hídrico reduciendo la conductancia estomática. Dichos autores concluyeron que la causa principal del enanismo en el portainjerto 'Flying Dragon' puede ser su baja capacidad de conducción hidráulica. Berdeja-Arbeu et al. (2013) también evaluaron seis portainjertos de seis años, entre ellos limón 'Volkameriano' y naranjo agrio. Estos autores no encontraron diferencia significativa en la altura de árboles de lima persa, pero hallaron correlaciones negativas en el perímetro de injerto con el diámetro tangencial del vaso y área total de vaso, lo cual indica que la morfología y anatomía del xilema de tallo de lima persa fue afectada por los diferentes portainjertos.

En tal contexto, el objetivo del presente estudio fue determinar la relación que existe entre las características anatómicas del xilema del tallo de cuatro portainjertos (dos no enanizantes y dos enanizantes) y las características del crecimiento inicial del injerto de lima persa 'Tahiti' en vivero.

Materiales y métodos

El experimento se realizó en un invernadero con cubierta de cristal ubicado en el Campo Agrícola Experimental de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, situado en 19° 29' LN y 98° 52' LO, a una altitud de 2 240 m. Se obtuvieron plantas de cuatro portainjertos

The 'Tahiti' lime buds used for grafting were donated by the Maricruz nursery. The rootstocks used were 'Volkamer' lemon (*C. volkameriana*), sour orange (*C. aurantium*) (not certified), 'Flying Dragon' trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata* var. *monstrosa*) and 'Rubidoux' trifoliolate (*P. trifoliata*). Grafting was carried out from August to September 2015. A budding-type graft was used.

The initial growth variables of the primary shoot were as follows: a) length obtained weekly with a flexometer from the base of the graft to the apex, until the measurement was constant, b) growth rate represented by the number of days required to reach constant length, c) diameter measured at 4 cm from the base of the graft with a Truper® digital Vernier caliper (model CALDI-6MP, Mexico), d) number of leaves; e) length of internodes obtained by dividing the total length by the number of primary shoot internodes, f) leaf area calculated by the sum of the area of all the shoot's leaves, through the Image Tool v3 program (University of Texas Health Science Center San Antonio [UTHSCSA], 1995), and g) average leaf area obtained by dividing the total leaf area by the number of leaves.

The wood anatomical description work was carried out at Chapingo Autonomous University's Wood Anatomy and Technology Laboratory. The anatomical variables of the rootstock stem were measured in cross-section preparations and in cell individualization. The preparations for the microscopic observation of the stem cross-sections were made according to the procedure described by García, Guindeo, Peraza, and de Palacios (2003), with 24 h of safranin staining and coating with Entellán® resin. Individualization of the xylem elements was done by following the maceration technique described by Franklin (1945). The visible sediment was stained with safranin and a drop was placed on the slide; the excess water was removed with heat, it was covered with Entellan® resin and the coverslip was placed. Both groups of preparations were observed on a Leica Microsystems DM3000 image analyzer (Germany). In the stem cross-sections, the density of the vessel elements, average area of the vessels and the xylem radius were observed and measured. In the preparations with the maceration technique (individualized cells), the length and diameter of both vessels and fibers were measured; the sample size for the measurement of these variables was 27 observations. The percentage of area occupied by the vessels was calculated by multiplying the average vessel area by the density.

The data were analyzed in a completely randomized experimental design with six replicates per treatment. Analysis of variance and Tukey's range test ($P \leq 0.05$) were performed for each variable; subsequently,

de seis meses de edad del vivero certificado Maricruz, en Arroyo de Piedra, Tlapacoyan, Veracruz, México. Las plantas se trasladaron a Chapingo, México; se trasplantaron en macetas individuales de 16 L de capacidad y se colocaron en el invernadero por otros nueve meses para su adaptación y desarrollo. El sustrato fue una mezcla de suelo limo-arenoso + 10 % composta; las plantas se regaron cada 72 h. La temperatura media en este periodo fue de 29 °C.

Las yemas de lima persa usadas para injertar fueron donadas por el vivero Maricruz. Los portainjertos utilizados fueron limón 'Volkameriano' (*C. volkameriana*), naranjo agrio (*C. aurantium*) (no certificado), naranjo trifoliado 'Flying Dragon' (*Poncirus trifoliata* var. *monstrosa*) y trifoliado 'Rubidoux' (*P. trifoliata*). La injertación se llevó a cabo de agosto a septiembre de 2015. El injerto practicado fue de tipo escudete.

Las variables del crecimiento inicial del brote primario fueron las siguientes: a) longitud obtenida semanalmente con flexómetro desde la base del injerto al ápice, hasta que la medida fue constante, b) velocidad de crecimiento representada por el número de días requeridos para alcanzar longitud constante, c) diámetro medido a 4 cm de la base del injerto con un vernier digital Truper® (modelo CALDI-6MP, México), d) número de hojas; e) longitud de entrenudos obtenida de la división de la longitud total entre el número de entrenudos del brote primario, f) área foliar calculada mediante la suma del área de todas las hojas del brote, a través del programa Image Tool v3 (University of Texas Health Science Center San Antonio [UTHSCSA], 1995), y g) área promedio de hoja obtenida de la división del área foliar total entre el número de hojas.

El trabajo de la descripción anatómica de la madera se realizó en el Laboratorio de Anatomía y Tecnología de la Madera de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo. Las variables anatómicas del tallo de los portainjertos se midieron en preparaciones de cortes transversales y en individualización de células. Las preparaciones para la observación microscópica de los cortes transversales del tallo se hicieron de acuerdo con el procedimiento descrito por García, Guindeo, Peraza, y de Palacios (2003), con 24 h de tinción en safranina y recubrimiento con resina Entellán®. La individualización de los elementos del xilema se hizo siguiendo la técnica de maceración de Franklin (1945). El sedimento visible se tiñó con safranina y se colocó una gota en el portaobjeto; se eliminó el exceso de agua con calor, se recubrió con resina Entellan® y se colocó el cubreobjetos. Ambos grupos de preparaciones se observaron en un analizador de imágenes Leica Microsystems DM3000 (Alemania). En los cortes transversales del tallo se observaron y midieron la densidad de los elementos de

the degree of association between the anatomical and growth variables was determined by Pearson correlation in the SAS v9 program (Statistical Analysis System, 1992).

Results and discussion

The statistical analysis of variance indicated that the four rootstocks have an effect on all the initial growth variables of 'Tahiti' lime and that their anatomical characteristics are different from each other.

Table 1 shows the effect of the four rootstocks on the initial growth variables of 'Tahiti' lime. Comparative analysis of the statistical means showed that the sour orange and 'Volkamer' rootstocks had similar behavior in almost all the evaluated growth variables, with the exception of shoot length that was smaller in 'Volkamer' (21 % smaller). The 'Flying Dragon' and 'Rubidoux' dwarfing rootstocks coincided in all the measured growth variables, forming another statistical group. The effect of these rootstocks is reflected in the reduction of all the variables evaluated with respect to the non-dwarfing ones; for example, in the dwarfing rootstocks, the reduction in the shoot length, growth rate and shoot leaf area was 65 to 70 %, in the number of leaves 57 % and in the diameter of the primary shoot 42 %, while the area of each leaf and internode length decreased by 26 and 32 %, respectively.

vaso, área promedio de los vasos y radio de xilema. En las preparaciones con técnica de maceración (células individualizadas) se midieron la longitud y diámetro de vasos, y la longitud y diámetro de las fibras; el tamaño de muestra para la medición de estas variables fue de 27 observaciones. El porcentaje de área ocupada por los vasos se calculó con la multiplicación del área promedio de vaso por la densidad.

Los datos se analizaron en un diseño experimental completamente aleatorizado con seis repeticiones por tratamiento. Para cada variable se realizó análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$); posteriormente, el grado de asociación entre las variables anatómicas y del crecimiento se determinó mediante correlación de Pearson en el programa SAS v9 (Statistical Analysis System, 1992).

Resultados y discusión

El análisis estadístico de varianza indicó que los cuatro portainjertos tienen efecto en todas las variables del crecimiento inicial de la lima persa 'Tahiti' y que sus características anatómicas son diferentes entre sí.

El Cuadro 1 muestra el efecto de los cuatro portainjertos sobre las variables de crecimiento inicial de lima persa. El análisis comparativo de las medias estadísticas permitió observar que los portainjertos naranjo agrio

Table 1. Effect of four rootstocks on initial growth variables of 'Tahiti' lime (*Citrus x latifolia*) grafts.

Cuadro 1. Efecto de cuatro portainjertos sobre variables del crecimiento inicial de injertos de lima persa 'Tahiti' (*Citrus x latifolia*).

Rootstock/ Portainjerto	PSL (cm)/ LB (cm)	GR (cm·día ⁻¹)/ VEL (cm·día ⁻¹)	PSD (mm)/ DIA (mm)	NL/ HOJ	IL (cm)/ ENT (cm)	SLA (cm ²)/ AFB (cm ²)	ALA (cm ²)/ AFM (cm ²)
Sour orange/ Naranjo agrio	45.86 a	1.05 a	4.30 a	21.66 a	2.11 a	706.11 a	32.54 a
'Volkamer' lemon/ Limón 'Volkameriano'	36.23 b	1.08 a	4.50 a	19.50 a	1.85 ab	576.18 a	29.60 ab
'Flying Dragon' orange/ Naranjo 'Flying Dragon'	13.86 c	0.37 b	2.82 b	9.83 b	1.42 c	232.53 b	24.27 b
'Rubidoux' orange/ Naranjo 'Rubidoux'	13.80 c	0.43 b	2.65 b	9.33 b	1.51 bc	230.16 b	24.90 b
LSD/DMSH	8.33	0.16	0.603	3.292	0.348	139.3	7.45

PSL: primary shoot length, GR: growth rate, PSD: primary shoot diameter, NL: number of leaves, IL: internode length, SLA: shoot leaf area, ALA: average leaf area. Least significant difference. Means with a different letter in each column present significant differences according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

LB: longitud del brote primario, VEL: velocidad de crecimiento, DIA: diámetro del brote primario, HOJ: número de hojas, ENT: longitud de entrenudos, AFB: área foliar del brote, AFM: área foliar promedio de hoja. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Medias con letra distinta en cada columna presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

The 'Volkamer' lemon rootstock induces heights of up to 5 m and a crown volume greater than 100 m³ in adulthood, while the trifoliates of the genus *Poncirus* induce plant heights of less than 3 m (Curti-Díaz et al., 2012; Jiménez et al., 2009; Machado et al., 2017; Mademba et al., 2012; Piña-Dumoulin et al., 2006; Stenzel & Neves, 2004). On the other hand, Jiménez et al. (2009) and Espinoza-Nuñez et al. (2011) have highlighted the great vigor induced by sour orange (*C. aurantium*) in 'Tahiti' lime; however, none of them has related any anatomical characteristics of the stem of the rootstocks with their results.

Table 2 shows the anatomical variables of the stem of the four evaluated rootstocks. The 'Volkamer' rootstock, in general, expressed the highest values in each variable, with the exception of vessel density, as can be seen in Figure 1. In the case of fiber length and xylem radius, the 'Volkamer' and sour orange rootstocks were statistically similar ($P > 0.05$). By contrast, the 'Rubidoux' and 'Flying Dragon' trifoliates had the lowest values, except in vessel density; both rootstocks were only statistically different ($P \leq 0.05$) in vessel element length and fiber length.

y limón 'Volkameriano' tuvieron comportamiento similar en casi todas las variables del crecimiento evaluadas, con excepción de la longitud del brote que fue menor en 'Volkameriano' (21 % menor). Los portainjertos enanizantes 'Flying Dragon' y 'Rubidoux' coincidieron en todas las variables del crecimiento medidas, conformando otro grupo estadístico. El efecto de estos portainjertos se refleja en la reducción de todas las variables evaluadas con respecto a los no enanizantes; por ejemplo, en los portainjertos enanizantes, la reducción en la longitud del brote, velocidad de crecimiento y área foliar del brote fue 65 a 70 %, en el número de hojas fue 57 % y en el diámetro del brote primario fue 42 %, mientras que el área de cada hoja y la longitud de entrenudos disminuyeron 26 y 32 %, respectivamente.

El portainjerto limón 'Volkameriano' induce alturas de hasta 5 m y volumen de copa mayor de 100 m³ en la edad adulta, mientras que los trifoliados del género *Poncirus* inducen altura de plantas menor de 3 m (Curti-Díaz et al., 2012; Jiménez et al., 2009; Machado et al., 2017; Mademba et al., 2012; Piña-Dumoulin et al., 2006; Stenzel & Neves, 2004). Por otra parte, Jiménez et al.

Table 2. Anatomical characteristics of the stem of four rootstocks with 'Tahiti' lime (*Citrus x latifolia*).

Cuadro 2. Características anatómicas del tallo de cuatro portainjertos con lima persa 'Tahiti' (*Citrus x latifolia*).

Rootstock/ Portainjerto	VEL (μm)/ LV (μm)	XVD (μm)/ DV (μm)	DEN (vessels-mm ²)/ DEN (vasos-mm ²)	AXVA (μm^2)/ AV (μm^2)	FL (μm)/ LFI (μm)	FD (μm)/ DFI (μm)	XR (mm)/ RXI (mm)	PVA (%)/ PV (%)
Sour orange/ Naranja agrio	234.8 b	43.38 b	46.1 b	576.8 b	665.8 a	12.8 b	4.93 a	2.65 b
'Volkamer' lemon/ Limón 'Volkameriano'	254.3 a	54.56 a	45.1 b	1 020 a	628.6 a	14.3 a	5.28 a	4.57 a
'Flying Dragon' orange/ Naranja 'Flying Dragon'	184.0 d	31.67 c	77.4 a	305.6 c	479.4 c	13.5 ab	4.26 b	2.36 b
'Rubidoux' orange/ Naranja 'Rubidoux'	204.8 c	31.13 c	76.8 a	316.3 c	558.4 b	12.8 b	4.11 b	2.43 b
LSD/DMSH	16.02	3.18	9.32	96.56	46.25	1.03	0.514	0.36

VEL: vessel element length, XVD: xylem vessel diameter, DEN: xylem vessel density, AXVA: average xylem vessel area, FL: fiber length, FD: fiber diameter, XR: xylem radius, PVA: percentage of vessel area. LSD: Least significant difference. Means with a different letter in each column present significant differences according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

LV: longitud de elemento de vaso, DV: diámetro del vaso del xilema, DEN: densidad de vasos del xilema, AV: área promedio del vaso del xilema, LFI: longitud de fibras, DFI: diámetro de fibras, RXI: radio del xilema, PV: porcentaje del área de vasos. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta. Medias con letra distinta en cada columna presentan diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Figure 2 shows that 'Volkamer' lemon had longer and larger-diameter vessel elements than sour orange, this in turn greater than 'Rubidoux' and 'Flying Dragon', which did not present difference in diameter, but did in length (Table 2).

Figure 3 shows that the fibers of sour orange and 'Volkamer' lemon had similar length and were longer than those of 'Rubidoux' and 'Flying Dragon'; according to Brenes-Angulo, Reyes-Cordero, and Moya-Roque (2012), all fibers smaller than 1 mm in length are classified as short fibers. Fiber diameter was higher in 'Volkamer' and similar in the other three rootstocks (Table 2).

(2009) y Espinoza-Nuñez et al. (2011) han resaltado el gran vigor que induce el naranjo agrio (*C. aurantium*) en la lima persa; sin embargo, ninguno de ellos ha relacionado alguna característica anatómica del tallo de los portainjertos con sus resultados.

El Cuadro 2 presenta las variables anatómicas del tallo de los cuatro portainjertos evaluados. El portainjerto 'Volkameriano', en general, expresó los valores más altos en cada variable, con excepción de la densidad de vasos, tal como se observa en la Figura 1. En el caso de la longitud de fibra y radio del xilema, los portainjertos 'Volkameriano' y agrio fueron estadísticamente similares ($P > 0.05$). En contraste, los trifoliados

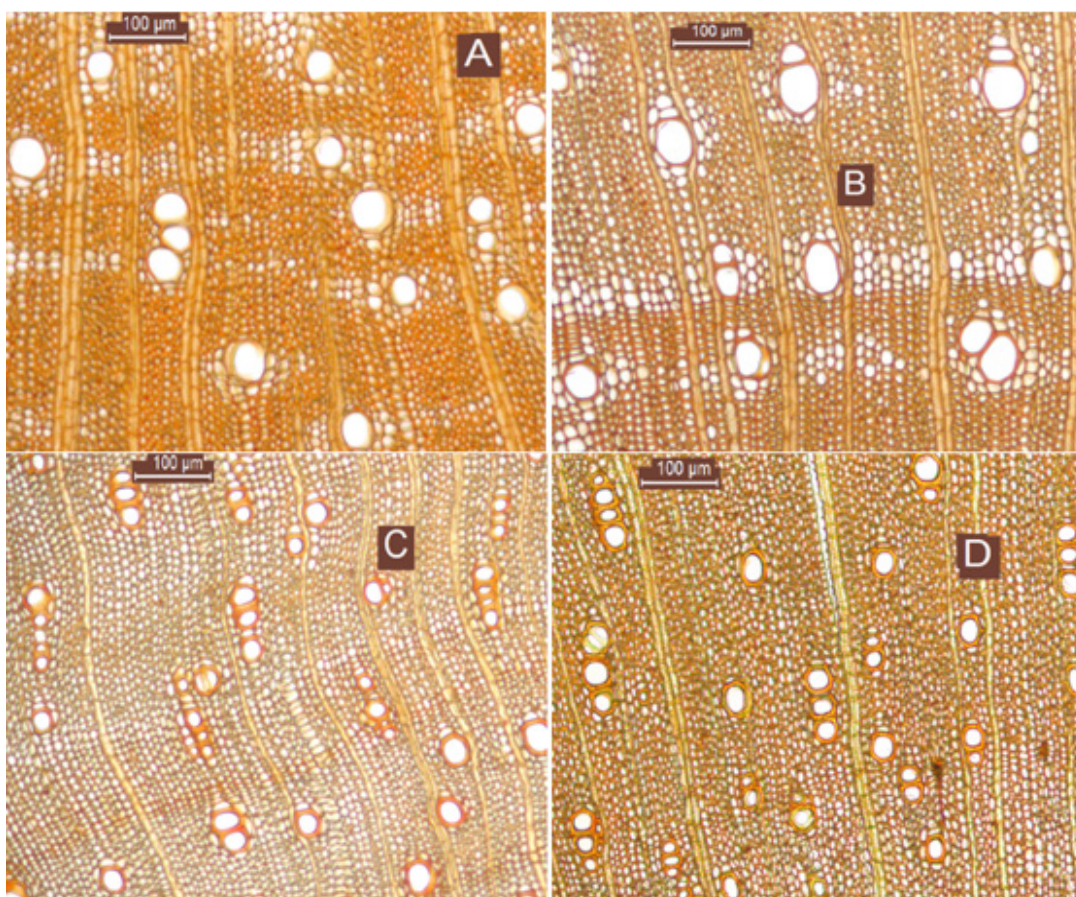


Figure 1. Size and density of secondary xylem vessels of the stem of two vigorous rootstocks (A: sour orange and B: 'Volkamer' lemon) and two dwarfing ones (C: 'Flying Dragon' trifoliolate and D: 'Rubidoux' trifoliolate) in 'Tahiti' lime grafts. Magnification 10x.

Figura 1. Tamaño y densidad de vasos del xilema secundario del tallo de dos portainjertos vigorosos (A: naranjo agrio y B: limón 'Volkameriano') y dos enanizantes (C: trifoliado 'Flying Dragon' y D: trifoliado 'Rubidoux') en injertos de lima persa. Aumento en 10x.

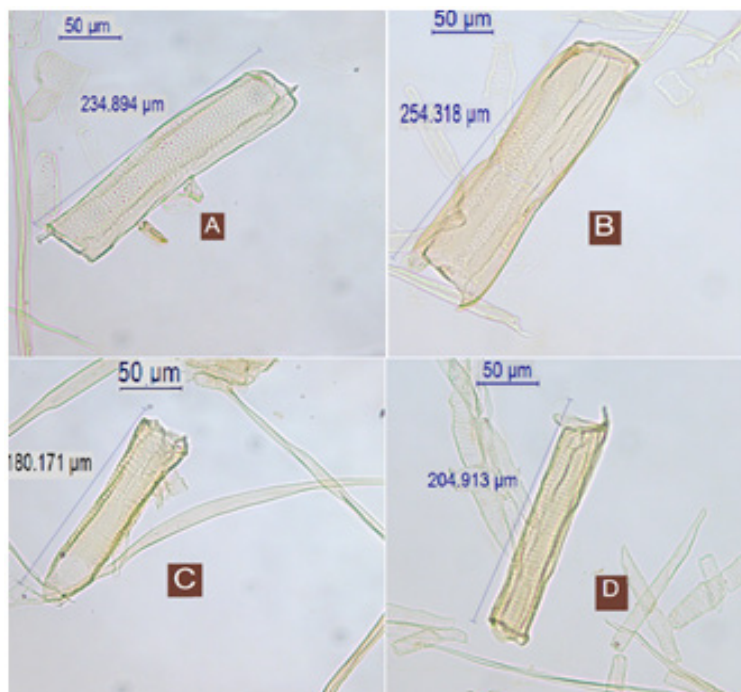


Figure 2. Average vessel elements of the stem xylem of two vigorous rootstocks (A: sour orange and B: 'Volkamer' lemon) and two dwarfing ones (C: 'Flying Dragon' trifoliolate and D: 'Rubidoux' trifoliolate) in 'Tahiti' lime grafts. Magnification 10x.

Figura 2. Elementos de vaso promedio del xilema del tallo de dos portainjertos vigorosos (A: naranjo agrio y B: limón 'Volkameriano') y dos enanizantes (C: trifoliado 'Flying Dragon' y D: trifoliado 'Rubidoux') en injertos de lima persa. Aumento en 20x.

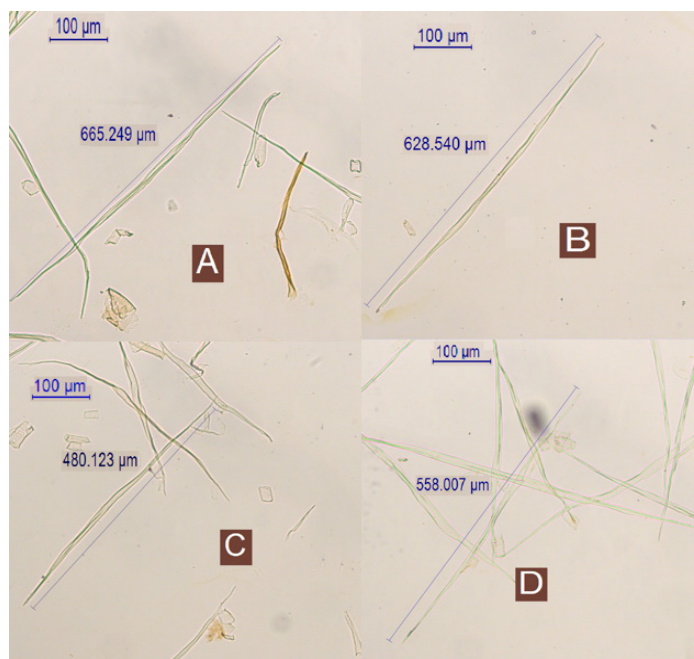


Figure 3. Average fiber length of the stem xylem of two vigorous rootstocks (A: sour orange and B: 'Volkamer' lemon) and two dwarfing ones (C: 'Flying Dragon' trifoliolate and D: 'Rubidoux' trifoliolate) in 'Tahiti' lime grafts. Magnification 10x.

Figura 3. Longitud de fibra promedio del xilema del tallo de dos portainjertos vigorosos (A: naranjo agrio y B: limón 'Volkameriano') y dos enanizantes (C: trifoliado 'Flying Dragon' y D: trifoliado 'Rubidoux') en injertos de lima persa. Aumento en 10x.

In this way, 'Volkamer' lemon and sour orange, which showed a lower density of vessels and vessel elements with larger dimensions, also produced higher values in the initial growth of the 'Tahiti' lime shoot. Conversely, 'Flying Dragon' and 'Rubidoux' had the smallest and most dense vessel elements, but the initial growth of the 'Tahiti' lime shoot was reduced. Some studies carried out with various fruit species such as avocado, peach, apple and citrus indicate that there is greater shoot growth when the stem or root vessels of the rootstock are larger, and less growth when there are small vessels, but in greater quantity (Bauerle, Centinari, & Bauerle, 2011; Berdeja et al., 2013; Fassio, Heath, Arpaia, & Castro, 2009; Martínez-Alcántara et al., 2013; Rodríguez, 2012; Tombesi, Johnson, Day, & DeJong, 2010). In the same studies, the authors related the large xylem vessels with greater hydraulic conductance -whether measured or theoretical- and greater shoot growth; on the other hand, when the vessels were small, both the hydraulic conductance and growth were low.

In the present study, the diameter of the vessels and their density allowed us to distinguish, anatomically, the rootstocks that induce either high vigor or dwarfism. Rodríguez (2012) considers that the number of vessels and their size are factors that determine hydraulic conductance in plants, and this in turn influences the water relations, which are reflected in the vegetative growth. This suggests that rootstocks with larger vessel sizes would be inducing the formation of more vigorous 'Tahiti' lime plants, due to the availability of water, minerals and hormones in the solution, contrary to dwarfing rootstocks, which would have lower availability.

Table 3 shows the degree of correlation of the 'Tahiti' lime growth variables with the anatomical variables of the rootstock xylem. The correlation revealed a strong association of vessel size and density, fiber length and xylem radius with each of the initial growth variables of 'Tahiti' lime. The high negative correlation between vessel density and all the initial growth variables stands out, indicating that at a lower number of vessels per unit area there is a variable with a positive behavior and vice versa. Zach et al. (2010) found negative correlations of mean density of trunk vessels and twigs of forest trees with tree height, and a positive correlation between stem vessel diameter and tree height.

In this study, the correlation between the number of leaves and density is high and negative (-0.883), which is similar to the findings reported by Saeed et al. (2010), who mention that vessel density is related to the number of leaves, induces and controls the formation of vascular tissue and, consequently, stimulates the high auxin levels near the leaves, which favors the formation

'Rubidoux' y 'Flying Dragon' tuvieron los valores más bajos, excepto en la densidad de vasos; ambos portainjertos solo fueron estadísticamente diferentes ($P \leq 0.05$) en la longitud de los elementos de vaso y la longitud de las fibras.

En la Figura 2 se observa que el limón 'Volkameriano' tuvo elementos de vaso más largos y de mayor diámetro que el naranjo agrio, este a su vez mayores que 'Rubidoux' y 'Flying Dragon', los cuales no presentaron diferencia en diámetro, pero sí en longitud (Cuadro 2).

En la Figura 3 se aprecia que las fibras de naranjo agrio y limón 'Volkameriano' tuvieron longitud similar y fueron más largas que las de 'Rubidoux' y 'Flying Dragon'; de acuerdo con Brenes-Angulo, Reyes-Cordero, y Moya-Roque (2012), todas las fibras menores de 1 mm de longitud se clasifican como fibras cortas. El diámetro de fibras fue mayor en 'Volkameriano' y similar en los otros tres portainjertos (Cuadro 2).

De esta manera, el limón 'Volkameriano' y naranjo agrio, que presentaron menor densidad de vasos y elementos de vaso con mayores dimensiones, también produjeron valores más altos en el crecimiento inicial del brote de lima persa. De manera contraria, 'Flying Dragon' y 'Rubidoux' tuvieron los elementos de vaso más pequeños y con mayor densidad, pero el crecimiento inicial del brote de lima persa fue reducido. Algunos estudios realizados con diversas especies frutales como aguacate, durazno, manzano y cítricos indican que hay mayor crecimiento del brote cuando los vasos del tallo o raíz del portainjerto son más grandes, y menor crecimiento cuando hay vasos pequeños, pero en mayor cantidad (Bauerle, Centinari, & Bauerle, 2011; Berdeja et al., 2013; Fassio, Heath, Arpaia, & Castro, 2009; Martínez-Alcántara et al., 2013; Rodríguez, 2012; Tombesi, Johnson, Day, & DeJong, 2010). En los mismos estudios, los autores relacionaron los vasos grandes del xilema con una mayor conductancia hidráulica -ya sea medida o teórica- y mayor crecimiento del brote; en cambio, cuando los vasos fueron pequeños, la conductancia hidráulica fue baja al igual que el crecimiento.

En el presente estudio, el diámetro de los vasos y su densidad permitieron distinguir, anatómicamente, los portainjertos que inducen ya sea alto vigor o enanismo. Rodríguez (2012) considera que el número de los vasos y su tamaño son factores que determinan la conducción hidráulica en las plantas, y esta a su vez influye en las relaciones hídricas, las cuales se ven reflejadas en el crecimiento vegetativo. Lo anterior sugiere que los portainjertos con dimensiones de vasos mayores estarían induciendo la formación de plantas más vigorosas de lima persa, debido a la disponibilidad de agua, minerales y hormonas en la solución, contrario a

of numerous small vessels due to their rapid rate of differentiation.

The xylem radius showed high positive correlations with all the initial growth variables. Saeed et al. (2010) suggest that rootstocks characterized by having little vigorous growth have smaller vessel elements caused by lower auxin levels that, in conjunction with the effect of cytokinins, favor differentiation of phloem, while higher auxin/cytokinin levels favor xylogenesis. In this study, vigorous rootstocks had a greater xylem radius than dwarfing rootstocks (Table 2).

Fiber length also showed a high correlation with the growth variables, but the diameter showed very low correlation. It is probable that these characteristics are not related to growth, since the main function of these cells is support (García et al., 2003) and their length is only a consequence of cell differentiation; however, it is necessary to continue studying them.

Knowledge of the degrees of association of the anatomical characteristics of the rootstock stem and the growth variables is important, due to their probable use as indicators or indices to predict the behavior of a grafted variety.

los portainjertos enanizantes, que tendrían una menor disposición.

El Cuadro 3 presenta el grado de correlación de las variables del crecimiento de lima persa con las variables anatómicas del xilema del portainjerto. La correlación reveló una fuerte asociación del tamaño y densidad de vasos, y de la longitud de fibras y radio del xilema con cada una de las variables del crecimiento inicial de la lima persa. Sobresale la correlación alta negativa que presenta la densidad de vasos con todas las variables del crecimiento inicial, lo cual indica que a un número menor de vasos por unidad de superficie existe una variable con un comportamiento positivo y viceversa. Zach et al. (2010) encontraron correlaciones negativas de la densidad media de los vasos del tronco y de las ramas de árboles forestales con la altura del árbol, y correlación positiva del diámetro de los vasos del tallo con la altura del árbol.

En este estudio, la correlación de número de hojas con la densidad es alta y negativa (-0.883), la cual es similar a lo reportado por Saeed et al. (2010), quienes mencionan que la densidad de vasos se relaciona con el número de hojas, induce y controla la formación de tejido vascular y, en consecuencia, estimula los altos

Table 3. Pearson correlation coefficient (r) of the initial growth variables of 'Tahiti' lime (*Citrus x latifolia*) with anatomical variables of the stem of the sour orange, 'Volkamer' lemon, 'Flying Dragon' trifoliolate and 'Rubidoux' trifoliolate rootstocks.

Cuadro 3. Coeficiente de correlación Pearson (r) de variables del crecimiento inicial de lima persa 'Tahiti' (*Citrus x latifolia*) con variables anatómicas del tallo de los portainjertos naranjo agrio, limón 'Volkameriano', trifoliado 'Flying Dragon' y trifoliado 'Rubidoux'.

Anatomical Variables/ Variables anatómicas	Growth variables/Variables del crecimiento						
	PSL/LB	GR/VEL	PSD/DIA	NL/HOJ	IL/ENT	SLA/AFB	ALA/AFM
VEL/LV	0.712	0.870	0.785	0.746	0.612	0.750	0.563
XVD/DV	0.731	0.868	0.850	0.799	0.552	0.737	0.444
DEN	-0.853	-0.931	-0.861	-0.883	-0.675	-0.844	-0.534
AXVA/AV	0.621	0.807	0.804	0.696	0.467	0.628	0.367
FL/LFI	0.793	0.822	0.708	0.800	0.681	0.822	0.582
FD/DFI	0.020	0.174	0.214	0.133	-0.270	0.101	0.0790
XR/RXI	0.679	0.754	0.791	0.763	0.459	0.720	0.459
PVA/PV	0.418	0.619	0.654	0.517	0.276	0.448	0.241

PSL: primary shoot length, GR: growth rate, PSD: primary shoot diameter, NL: number of leaves, IL: internode length, SLA: shoot leaf area, ALA: average leaf area, VEL: vessel element length, XVD: xylem vessel diameter, DEN: xylem vessel density, AXVA: average xylem vessel area, FI: fiber length, FD: fiber diameter, XR: xylem radius, PVA: percentage of vessel area.

LB: longitud del brote primario, VEL: velocidad de crecimiento, DIA: diámetro del brote primario, HOJ: número de hojas, ENT: longitud de entrenudos, AFB: área foliar del brote, AFM: área foliar promedio de hoja, LV: longitud de elemento de vaso, DV: diámetro del vaso del xilema, DEN: densidad de vasos del xilema, AV: área promedio del vaso del xilema, LFI: longitud de fibras, DFI: diámetro de fibras, RXI: radio del xilema, PV: porcentaje del área de vasos.

Conclusions

The sour orange and 'Volkamer' lemon rootstocks showed vigorous growth of the 'Tahiti' lime primary shoot contrary to the 'Rubidoux' and 'Flying Dragon' trifoliolate rootstocks that showed dwarfing effect. These effects on initial growth are strongly correlated with the characteristics of the vessel elements of the stem xylem of the rootstocks, indicating that the functions of this tissue influence the growth of the 'Tahiti' lime graft in the nursery. Therefore, the length, density and diameter of the stem xylem vessels of the rootstock can be considered predictive variables of the growth of the graft shoot. The obtained information represents an advance in the generation of knowledge to reinforce decision-making in the establishment of 'Tahiti' lime plantations.

End of English version

References / Referencias

- Bauerle, T. L., Centinari, M., & Bauerle W. L. (2011). Shifts in xylem vessel diameter and embolisms in grafted apple trees of differing rootstock growth potential in response to drought. *Planta*, 234,1045–1054. doi: 10.1007/s00425-011-1460-6
- Berdeja-Arbeu, R., Villegas-Monter, A., Borja, R. A., Sahagún-Castellanos, J., Barrios, D. B., & Reyes, A. J. C. (2013). Interacción lima 'Persa'-portainjertos: Características de xilema en tallo de portainjerto y vigor de árboles. *Ciencias Agrícolas Informa*, 22(1), 15–22. Retrieved from <http://web.uaemex.mx/fcienciasagricolas/revistas/pdf/Revista%2022-1.pdf>
- Brenes-Angulo, O., Reyes-Cordero, D., & Moya-Roque, R. (2012). Estudio de la anatomía del xilema secundario de seis especies del género *Citrus* cultivadas en Costa Rica. *Revista Forestal Mesoamericana Kurú*, 9(23), 35–44. doi: 10.18845/rfmk.v9i23.489
- Cantuarias-Avilés, T., Filho, F. A. A. M., Stuchi, E. S., Silva, S. R., Espinoza-Núñez, E., & Neto, H. B. (2012) Rootstocks for high fruit yield and quality of 'Tahiti' lime under rain-fed conditions. *Scientia Horticulturae*, 142, 105–111. doi: 10.1016/j.scienta.2012.05.008
- Curti-Díaz, S. A., Hernández-Guerra, C., & Loredó-Salazar, R. X. (2012) Productividad del limón 'Persa' injertado en cuatro portainjertos en una huerta comercial de Veracruz, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18(3), 291–305. doi: 10.5154/r.rchsh.2010.11.109
- Espinoza-Núñez, E., Mourão, F. A. A., Sanches, S. E., Cantuarias-Avilés, T., & Dos Santos, D. C. T. (2011). Performance of 'Tahiti' lime on twelve rootstocks under irrigated and non-irrigated conditions. *Scientia Horticulturae*, 129, 227–231. doi: 10.1016/j.scienta.2011.03.032
- Fassio, C., Heath, R., Arpaia, M. L., & Castro, M. (2009). Sap flow in 'Hass' avocado trees on two clonal rootstocks niveles de auxinas cerca de las hojas, lo cual favorece la formación de numerosos vasos pequeños debido a su tasa rápida de diferenciación.
- El radio del xilema mostró altas correlaciones positivas con todas las variables del crecimiento inicial. Saeed et al. (2010) sugieren que los portainjertos caracterizados por tener crecimiento poco vigoroso poseen elementos de vaso más pequeños provocados por niveles más bajos de auxinas que, en conjunto con el efecto de citoquininas, favorecen la diferenciación de floema, mientras que niveles mayores de auxina/citoquinina favorecen la xilogénesis. En este estudio, los portainjertos vigorosos tuvieron mayor radio del xilema que los portainjertos enanizantes (Cuadro 2).
- La longitud de las fibras también presentó una correlación alta con las variables del crecimiento, pero el diámetro mostró muy baja correlación. Es probable que estas características no estén relacionadas con el crecimiento, ya que la función principal de estas células es de sostén (García et al., 2003), y que su longitud solo sea consecuencia de la diferenciación celular; sin embargo, es necesario continuar con su estudio.
- El conocimiento de los grados de asociación de las características anatómicas del tallo del portainjerto y las variables de crecimiento es importante, debido a la probable utilización como indicadores o índices para predecir el comportamiento de una variedad injertada.

Conclusiones

Los portainjertos naranjo agrio y limón 'Volkameriano' mostraron crecimiento vigoroso del brote primario de lima persa 'Tahiti' contrario a los portainjertos trifoliados 'Rubidoux' y 'Flying Dragon' que mostraron efecto enanizante. Tales efectos en el crecimiento inicial se encuentran fuertemente correlacionados con las características de los elementos de vaso del xilema del tallo de los portainjertos, indicando que las funciones de este tejido influyen en el crecimiento del injerto de lima persa en vivero. Por tanto, la longitud, densidad y diámetro de los vasos del xilema de tallo del portainjerto se pueden considerar variables predictivas del crecimiento del brote del injerto. La información obtenida representa un avance en la generación de conocimiento para reforzar las decisiones en el establecimiento de plantaciones de lima persa 'Tahiti'.

Fin de la versión en español

- in relation to xylem anatomy. *Scientia Horticulturae*, 120, 8–13. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.012
- Franklin, G. L. (1945). Preparation of thin sections of synthetic resins and wood-resin composites, and a new macerating method for wood. *Nature*, 155, 51. doi: 10.1038/155051a0
- García, E. L., Guindeo, C. A., Peraza, O. C., & de Palacios, D. P. (2003). *La madera y su anatomía* (1.^a ed.). España: Mundi-Prensa.
- Jiménez, R., Frómeta, E., & García, E. (2009). Estudio de siete patrones para el cultivar limero Persa SRA58 (*Citrus latifolia* (L.) Tan.) en condiciones de Cuba. *CitriFrut*, 26(2), 47–52.
- Machado, D. L. M., Siqueira, D. L., Salomão, L. C. C., Cecon, P. R., & Da Silva, D. P. P. (2017). Evaluation of rootstocks for 'Tahiti' acid lime in northern state of Minas Gerais. *Revista Brasileira Fruticultura*, 39(1), 1–12. doi: 10.1590/0100-29452017790
- Mademba-Sy, F., Lemerre-Desprez, Z., & Lebegin, S. (2012). Use of Flying Dragon trifoliolate orange as dwarfing rootstock for *Citrus* under tropical climatic conditions. *HortScience*, 47(1), 11–17. Retrieved from <http://hortsci.ashspublications.org/content/47/1/11.full>
- Martínez-Alcántara, B., Rodríguez-Gamir, J., Martínez-Cuenca, M. R., Iglesias, D.J., Primo-Millo, E., & Forner-Giner, M. A. (2013). Relationship between hydraulic conductance and citrus dwarfing by the Flying Dragon rootstock (*Poncirus trifoliata* L. Raft var. monstruosa). *Trees*, 27(3), 629–638. doi: 10.1007/s00468-012-0817-1
- Piña-Dumoulin, G. J., Laborem, E. G., Monteverde, E. E., Magaña-Lemus, S., Espinoza, M., & Rangel, L. A. (2006). Crecimiento, producción y calidad de frutos en limeros 'Persa' sobre 11 portainjertos. *Agronomía Tropical*, 56(3), 433–448. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/262703575_Crecimiento_produccion_y_calidad_de_frutos_en_limeros_Persa_sobre_11_portainjertos
- Rodríguez, G. J. (2012). *Conductancia hidráulica en patrones de cítricos*. Tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España.
- Saeed, M., Dodd, P. B., & Sohail, L. (2010). Anatomical studies of stems, roots and leaves of selected citrus rootstock varieties in relation to their vigour. *Journal of Horticulture and Forestry*, 2(4), 87–94. Retrieved from http://www.academicjournals.org/article/article1379759333_Saeed%20et%20al.pdf
- Statistical Analysis System (SAS). (1992). *SAT/STAT User's Guide Release 6.03 ed.* Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- Stenzel, N. M. C., & Neves, C. S. V. J. (2004). Rootstocks for 'Tahiti' lime. *Scientia Agricola*, 61(2), 151–155. doi: 10.1590/S0103-90162004000200005
- Tadeo, F. R., Moya, J. L., Iglesias, D. J., Talón, M., & Primo-Millo, E. (2003). *Histología y citología de cítricos*. Valencia, España: Generalitat Valenciana-Conselleria de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- Tombesi, S., Johnson, R. S., Day, K. R., & DeJong, T. M. (2010). Relationships between xylem vessel characteristics, calculated axial hydraulic conductance and size-controlling capacity of peach rootstocks. *Annals of Botany*, 105(2), 327–331. doi: 10.1093/aob/mcp281
- University of Texas Health Science Center San Antonio (UTHSCSA). (1995). *Image Tool for Window version 3.0*. USA: Author.
- Zach, A., Schuldt, B., Brix, S., Horna, V., Culmsee, H., & Leuschner, Ch. (2010). Vessel diameter and xylem hydraulic conductivity increase with tree height in tropical rainforest trees in Sulawesi, Indonesia. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(8), 506–512. doi: 10.1016/j.flora.2009.12.008