

Impact of external and internal factors on successful grafting of *Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana* (Mirov) Harrison

Influencia de factores externos e internos en el prendimiento inicial de injertos de *Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana* (Mirov) Harrison

Rubén Barrera-Ramírez¹; J. Jesús Vargas-Hernández²; Ricardo López-Aguillón¹; Hipólito J. Muñoz-Flores³; Eduardo J. Treviño-Garza^{1*}; Oscar A. Aguirre-Calderón¹

¹Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Facultad de Ciencias Forestales. Carretera Nacional km 145. C. P. 67700. Linares, Nuevo León, México.

²Colegio de Postgraduados, Postgrado en Ciencias Forestales. Carretera México-Tezcoco km 36.5, Montecillo. C. P. 56230. Tezcoco, Estado de México, México.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), Campo Experimental Uruapan. Av. Latinoamericana, núm. 1101, col. Revolución. C. P. 60150. Uruapan, Michoacán, México.

*Corresponding author: ejtrevin@gmail.com; tel.: +52 821 214 0000 ext. 111.

Abstract

Introduction: Grafting allows full multiplication of phenotypic and genotypic characteristics of genetically improved trees.

Objective: To determine the influence of bud origin, rootstock fertilization, grafting period and grafting techniques on the success of grafting, growth, and survival of intraspecific grafts in *Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana* (Mirov) Harrison.

Materials and methods: The effect of four factors was evaluated ([a] two bud sources, [b] three rootstock fertilization doses, [c] three grafting seasons and [d] two grafting techniques) on the success of grafting, shoot growth (Sg) and survival. An analysis of variance was carried out to determine the effect of factors a, b, c, and d on successful grafting and Sg, and a Log-Rank test was carried out for survival analysis.

Results and discussion: Significant differences ($P \leq 0.05$) were obtained for factors a, c and d. Grafting during winter (December 2018 and February 2019) using the side-veneers grafts technique and buds coming from Santa Catarina Ixtepeji showed the highest values of successful grafting ($\geq 25.5\%$), Sg (≥ 14.5 cm) and survival ($\geq 20.5\%$). Final survival decreased from 100 to 27 % 90 days after grafting.

Conclusions: Grafting period, bud origin, and grafting technique, individually or interacting with, are determinant factors for the success of intraspecific grafting on *P. pseudostrabus* var. *oaxacana*.

Resumen

Introducción: Los injertos permiten multiplicar íntegramente las características fenotípicas y genotípicas de árboles genéticamente superiores.

Objetivo: Determinar la influencia del origen de la yema, la fertilización del portainjerto, la época de injertado y el método de injerto en el prendimiento, crecimiento y supervivencia de injertos intraespecíficos en *Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana* (Mirov) Harrison.

Materiales y métodos: Se evaluó el efecto de cuatro factores: ([a] dos procedencias de las yemas, [b] tres dosis de fertilización del portainjerto, [c] tres épocas de injertado y [d] dos métodos de injertado) sobre el prendimiento, crecimiento del brote (Cb) y supervivencia. Se realizó un análisis de varianza para determinar el efecto de los factores a, b, c y d en el prendimiento y Cb, y una prueba de Log-Rank para el análisis de la supervivencia.

Resultados y discusión: Se obtuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) para los factores a, c y d. Los injertos realizados durante el invierno (diciembre 2018 y febrero 2019) con el método de enchapado lateral y yemas procedentes de Santa Catarina Ixtepeji presentaron los valores más altos de prendimiento ($\geq 25.5\%$), Cb (≥ 14.5 cm) y supervivencia ($\geq 20.5\%$). La supervivencia final disminuyó de 100 a 27 % a 90 días del injerto.

Conclusiones: La época de injertado, el origen de las yemas y el método de injerto, por separado o en interacción, son factores determinantes para el éxito de los injertos intraespecíficos con *P. pseudostrabus* var. *oaxacana*.

Keywords: survival; shoot growth; grafting period; side-veneers grafting; bud origin.

Palabras clave: supervivencia; crecimiento del brote; época de injertado; enchapado lateral; procedencia de la yema.

Please cite this article as follows (APA 6): Barrera-Ramírez, R., Vargas-Hernández, J. J., López-Aguillón, R., Muñoz-Flores, H. J., Treviño-Garza, E. J., & Aguirre-Calderón, O. A. (2021). Impact of external and internal factors on successful grafting of *Pinus pseudostrabus* var. *oaxacana* (Mirov) Harrison. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 27(2), 243–256. doi: 10.5154/r.rchscfa.2020.05.037

Received: May 20, 2020 / Accepted: March 9, 2021.



<http://revistas.chapingo.mx/forestales>

Introduction

Natural forests have been intensively and extensively harvested for centuries with dysgenic methods reducing quality and genetic variability (Vargas-Hernández, Bermejo-Velázquez, & Ledig, 2004). In this sense, productive potential can be recovered through silvicultural techniques and genetic improvement tools (Flores et al., 2019). Commercial forest plantations (CFPs) allow the solution of low forest productivity problems because they increase timber production beyond what natural managed forests can generate (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 2019). Globally, *Pinus* species genus are the most widely used in the establishment of CFPs, due to high economic and commercial profitability (FAO, 2018).

Mexico has 49 of the 120 recognized species of *Pinus* genus (Farjon, 2008); the great climatic, topographic, and biological diversity of the country highlights the importance of the appropriate choice of species and variety for the establishment of CBPs (Gernandt & Pérez de la Rosa, 2014). Proper selection of genetic material increases plantation survival, production, and yield (Flores et al., 2019); however, so far, CBP programs in Mexico use seed sources in which genetic quality or origin of individuals is not considered (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2019). For CBPs to have the desired success, it is necessary to have enough supply of germplasm generating plants with higher growth compared to natural forests (Zobel & Talbert 1988).

In the country there is interest in the development of breeding programs for native species through the selection of individuals with the best phenotypic characteristics; the main purpose is the conservation of the best adapted individuals with the highest productive yield for reforestation, restoration, and commercial plantations (CONAFOR, 2019). Genetic improvement for forest species is carried out in special plantations called asexual seed orchards (ASO), sexual seed orchards (SSO) and clonal banks (CB). In ASOs and SSOs, genetically improved seed is produced through open or controlled pollination (Stewart, Will, Crane, & Nelson, 2016), and in CBs the production of identical clones is possible through vegetative propagation (Oliveira, Nogueira, & Higa, 2018; Sevik & Topacoglu, 2015). Grafting is the most widely used vegetative propagation method for the establishment of ASO and CB with species of the *Pinus* genus because it allows adult trees reproduction with improved characteristics (Pérez-Luna, Wehenkel, Prieto-Ruíz, López-Upton, & Hernández-Díaz, 2020; Stewart et al., 2016; Vargas-Hernández & Vargas-Abonce, 2016).

Introducción

Los bosques naturales han sido aprovechados intensiva y extensivamente durante siglos con métodos disgénicos que han reducido la calidad y variabilidad genética (Vargas-Hernández, Bermejo-Velázquez, & Ledig, 2004). En este sentido, el potencial productivo se puede recuperar a través de técnicas silvícolas y herramientas de mejora genética (Flores et al., 2019). Las plantaciones forestales comerciales (PFC) permiten la solución de problemas de baja productividad forestal, ya que incrementan la producción maderable más allá de lo que los bosques naturales manejados pueden generar (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO], 2019). A nivel mundial, las especies del género *Pinus* son las más utilizadas en el establecimiento de PFC, debido a su alta rentabilidad económica y comercial (FAO, 2018).

En México existen 49 de las 120 especies reconocidas del género *Pinus* (Farjon, 2008); la gran diversidad climática, topográfica y biológica del país resalta la importancia de la elección apropiada de la especie y de la variedad para el establecimiento de las PFC (Gernandt & Pérez de la Rosa, 2014). La selección adecuada del material genético aumenta la supervivencia, producción y rendimiento de las plantaciones (Flores et al., 2019); sin embargo, hasta ahora, los programas de PFC en México utilizan fuentes de semilla en las que no se considera la calidad genética o el origen de los individuos (Comisión Nacional Forestal [CONAFOR], 2019). Para que las PFC tengan el éxito deseado es necesario contar con suministro suficiente de germoplasma que genere plantas de crecimiento superior al de los bosques naturales (Zobel & Talbert 1988).

En el país existe el interés por el desarrollo de programas de mejoramiento con especies nativas a través de la selección de individuos con las mejores características fenotípicas; la principal finalidad es la conservación de los individuos mejor adaptados y con el mayor rendimiento productivo para trabajos de reforestación, restauración y plantaciones comerciales (CONAFOR, 2019). El mejoramiento genético con especies forestales se realiza en plantaciones especiales llamadas huertos semilleros asexuales (HSA), huertos semilleros sexuales (HSS) y bancos clonales (BC). En los HSA y HSS, la semilla mejorada genéticamente se produce a través de polinización abierta o controlada (Stewart, Will, Crane, & Nelson, 2016), y en los BC es posible la producción de clones idénticos a través de la propagación vegetativa (Oliveira, Nogueira, & Higa, 2018; Sevik & Topacoglu, 2015). El injerto es el método de propagación vegetativa más utilizado para el establecimiento de HSA y BC con especies del género *Pinus*, ya que permite la multiplicación de árboles adultos con características superiores (Pérez-Luna,

A graft is the union of two plants: the rootstock and bud or shoot of different origin (Darikova, Vaganov, Kuznetsova, & Grachev, 2013; Wang, 2011). Grafting can be intraspecific (budwood and rootstock of the same species) or interspecific (budwood and rootstock of different species) (Opoku, Opuni-Frimpong, & Dompok, 2019), both used in conifers. This technique allows multiplying the genotype of adult trees with desirable characteristics such as growth speed, stem straightness, vigor, and resistance to pests and diseases (CONAFOR, 2017; Flores, López, & Valencia, 2017; Ranjith & Ilango, 2017; Vargas et al., 2004). Side-veneer and terminal tip/insertion techniques are the most commonly used in studies with species of the genus *Pinus* (Muñoz, Prieto, Flores, Pineda, & Morales, 2013; Pérez-Luna et al., 2019; Pérez-Luna, Wehenkel, Prieto-Ruíz, López-Upton, & Hernández-Díaz, 2020). Although in many cases grafting success has been high ($\geq 50\%$ survival), species such as *P. pseudostrobus* var. *oaxacana* has not been as successful ($\leq 20\%$) according to the conditions of the study and the characteristics of the material used (Barbosa, Alpizar, & Fiscal, 1984).

There are few studies available on rootstock production techniques in pine species; however, some have determined the importance of rootstock at the stage of success of grafting, survival, and vigor (Darikova et al., 2013; Frey, Frampton, Blazich, & Hinesley, 2010; Frey, Frampton, Blazich, Hundley, & Hinesley, 2011; Kita, Kon, Ishizuka, Agathokleous, & Kuromaru, 2018; Świerczyński, Kolasiński, Urbaniak, Stachowiak, & Nowaczyk, 2018). On the other hand, it has been mentioned that grafting in early winter show more successful in the process than grafting in spring (20 to 50 % survival) (Muñoz et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019) and that the grafting method influences the success and subsequent growth of grafts (Frey et al., 2010, 2011; Kita et al., 2018; Muñoz et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019). The quality of buds (healthy, vigorous, and leading buds) and, especially, the place of origin (select or higher trees), the age of the mother plant (< 50 years), physiological growth stage of the bud (initial, intermediate or final quiescence) and the storage period until grafting (≤ 24 hours) are factors that also determine the success and vigor of grafting (Frey et al., 2011; Muñoz et al., 2013; Viveros-Viveros & Vargas-Hernández, 2007). Climatic conditions after grafting are also a very important factor (Koepke & Dhingra, 2013; Reig, Zarrouk, Forcada, & Moreno, 2018; Świerczyński et al., 2018). Regarding the above, it was indicated that there are differences in growth, grafting and survival for intraspecific grafting on *P. pseudostrobus* var. *oaxacana*, depending on the external and internal factors involved. Therefore, the objective of the present study was to determine the influence of the origin of the vegetative material,

Wehenkel, Prieto-Ruíz, López-Upton, & Hernández-Díaz, 2020; Stewart et al., 2016; Vargas-Hernández & Vargas-Abonce, 2016).

Un injerto es la unión de dos plantas: el portainjerto (planta patrón) y la yema o brote de origen diferente (Darikova, Vaganov, Kuznetsova, & Grachev, 2013; Wang, 2011). Los injertos pueden ser intraespecíficos (yema y portainjerto de la misma especie) o interespecífico (yema y portainjerto de especies diferentes) (Opoku, Opuni-Frimpong, & Dompok, 2019), ambos utilizados en coníferas. Esta técnica permite multiplicar el genotipo de árboles adultos con características deseables como velocidad de crecimiento, rectitud del fuste, vigor y resistencia a plagas y enfermedades (CONAFOR, 2017; Flores, López, & Valencia, 2017; Ranjith & Ilango, 2017; Vargas et al., 2004). Las técnicas de injertado enchapado lateral y fisura terminal son las más utilizadas en trabajos con especies del género *Pinus* (Muñoz, Prieto, Flores, Pineda & Morales, 2013; Pérez-Luna et al., 2019; Pérez-Luna, Wehenkel, Prieto-Ruíz, López-Upton, & Hernández-Díaz, 2020). Aunque en muchos casos el éxito del injerto ha sido alto ($\geq 50\%$ supervivencia), en especies como *P. pseudostrobus* var. *oaxacana* no se ha obtenido el mismo grado de éxito ($\leq 20\%$) de acuerdo con las condiciones particulares del trabajo y las características del material utilizado (Barbosa, Alpizar, & Fiscal, 1984).

Existen pocos estudios disponibles sobre las técnicas de producción de portainjertos en especies de pino; sin embargo, algunos han determinado la importancia que el portainjerto tiene en el prendimiento, supervivencia y vigor de los injertos (Darikova et al., 2013; Frey, Frampton, Blazich, & Hinesley, 2010; Frey, Frampton, Blazich, Hundley, & Hinesley, 2011; Kita, Kon, Ishizuka, Agathokleous, & Kuromaru, 2018; Świerczyński, Kolasiński, Urbaniak, Stachowiak, & Nowaczyk, 2018). Por otra parte, se ha mencionado que los injertos realizados a principios del invierno presentan mayor prendimiento que los realizados en primavera (20 a 50 % supervivencia) (Muñoz et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019) y que el método de injertado influye en el éxito y crecimiento posterior de los injertos (Frey et al., 2010, 2011; Kita et al., 2018; Muñoz et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019). La calidad de las yemas (sanas, vigorosas y de brotes líderes) y, especialmente, el lugar de procedencia (árboles selectos o superiores), la edad de la planta madre (< 50 años), el estado de crecimiento fisiológico de la yema (quiescencia inicial, intermedia o final) y el periodo de almacenamiento hasta su injertado (≤ 24 horas) son factores que también determinan el éxito y vigor de los injertos (Frey et al., 2011; Muñoz et al., 2013; Viveros-Viveros & Vargas-Hernández, 2007). Las condiciones climáticas después del injerto también son un factor muy importante (Koepke & Dhingra, 2013; Reig, Zarrouk, Forcada, & Moreno, 2018; Świerczyński

fertilization of rootstock, grafting period, and grafting techniques on grafting, growth, and survival for intraspecific grafting on *P. pseudostrubus* var. *oaxacana*.

Materials and methods

The study was carried out at the forest nursery of the Agricultural and Forest Experimental Field, Uruapan, Michoacan of the Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), located between coordinates 19° 24' 25.35" N and 102° 3' 4.16" W at 1610 m in the state of Michoacán, Mexico. To reduce the temperature inside the nursery, half-shade netting with 50 % light retention was used.

Rootstock origin and fertilization

The seed to produce the rootstock was collected from natural stands of *P. pseudostrubus* var. *oaxacana* in two localities (Santa Catarina Ixtepeji and Santa María Jaltianguis) in Oaxaca, Mexico. No evidence of natural hybridization was observed at the sites, so rootstock plants were considered as representative trees of that variety. Rootstocks were grown for 10 months in 310 cm³ plastic containers in a substrate formed by a mixture of peat, vermiculite and perlite in a 2:1:1 ratio, respectively; subsequently, they were transplanted into black polyethylene bags with a capacity of 5.2 L (20 cm wide and 35 cm long) in a substrate of mountain soil (Andosol 80 %) and ground pine bark (20 %). Rootstocks received three doses of fertilization: 3, 5 and 8 kg of Multicote® 15-7-15 + 2MgO + micronutrients per cubic meter of substrate. At grafting, rootstocks (1.5 years) with 3 kg of fertilizer·m⁻³ of substrate had average height of 136.2 ± 4.7 cm and diameter at stem base (D) of 14.0 ± 1.5 mm (rootstock case); on the other hand, those with 5 kg fertilizer·m⁻³ had average height of 143.5 ± 3.8 cm and D = 15.4 ± 1.7 mm, and those produced with 8 kg fertilizer·m⁻³ reached an average height of 148.0 ± 4.1 cm and D = 16.9 ± 1.3 mm.

Budwood collection

Budwood for grafting were collected from trees selected using the neighbor comparison method proposed by Zobel and Talbert (1988), located in the same communities where seed was collected for rootstock production. An average of 120 buds per location were collected at each grafting season. The average age of donor trees was 43.5 ± 4.7 years with a diameter of 53.5 ± 2.2 cm and average height of 35.0 ± 3.7 m. Healthy wood buds with an average length of 18 to 20 cm and caliber of 10 to 15 mm were cut from the mid-upper part of the canopy of trees to facilitate union with the rootstock during each grafting season. Wood buds were placed in labeled cool boxes, covered with dehydrated

et al., 2018). Considerando lo anterior se planteó que existen diferencias de crecimiento, prendimiento y supervivencia en injertos intraespecíficos con *P. pseudostrubus* var. *oaxacana*, dependiendo de los factores externos e internos involucrados. Por tanto, el objetivo del presente trabajo fue determinar la influencia del origen del material vegetativo, la fertilización de la planta portainjerto, la época de injertado y el método de injerto sobre el prendimiento, crecimiento y supervivencia en injertos intraespecíficos con *P. pseudostrubus* var. *oaxacana*.

Materiales y métodos

El estudio se llevó a cabo en el vivero forestal del Campo Experimental Agrícola y Forestal Uruapan, del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP), ubicado entre las coordenadas 19° 24' 25.35" LN y 102° 3' 4.16" LO a 1610 m en el estado de Michoacán, México. Para reducir la temperatura dentro del vivero, se colocó malla media sombra con 50 % de retención de luz.

Origen y fertilización de los portainjertos

La semilla para producir el portainjerto se recolectó en rodales naturales de *P. pseudostrubus* var. *oaxacana* en dos localidades (Santa Catarina Ixtepeji y Santa María Jaltianguis) de Oaxaca, México. No se observaron evidencias de hibridación natural en los sitios, por lo que las plantas portainjertos se consideraron como árboles puros de dicha variedad. Los portainjertos crecieron durante 10 meses en contenedores de plástico de 310 cm³ en un sustrato formado por la mezcla de turba, vermiculita y perlita en proporción 2:1:1, respectivamente; posteriormente, se trasplantaron a bolsa de polietileno negro calibre 400 con capacidad de 5.2 L (20 cm de ancho y 35 cm de largo) en un sustrato de tierra de monte (Andosol 80 %) y corteza de pino molida (20 %). Los portainjertos recibieron tres dosis de fertilización; 3, 5 y 8 kg de fertilizante de liberación controlada Multicote® 15-7-15 + 2MgO + micronutrientes por metro cúbico de sustrato. Al momento del injerto, los portainjertos (1.5 años) con 3 kg de fertilizante·m⁻³ de sustrato tenían altura promedio de 136.2 ± 4.7 cm y diámetro en la base del tallo (D) de 14.0 ± 1.5 mm (caso de portainjertos); por su parte, los de 5 kg de fertilizante·m⁻³ tenían altura promedio de 143.5 ± 3.8 cm y D = 15.4 ± 1.7 mm, y los producidos con 8 kg de fertilizante·m⁻³ alcanzaron una altura promedio de 148.0 ± 4.1 cm y D = 16.9 ± 1.3 mm.

Recolección de yemas

Las yemas para injertar se recolectaron de árboles seleccionados con el método de comparación entre vecinos, propuesto por Zobel y Talbert (1988), ubicados

sawdust, wet pieces of fabric and ice, and transported to the nursery of the Uruapan experimental field where they were grafted 24 h after harvesting.

Grafting technique and grafting period

Grafting was in three periods: 1) early winter (December 2018), 2) late winter (February 2019), 3) early summer (July 2019). The methodology described by Muñoz et al. (2013) was used with two types of grafting: side-veneer and terminal tip/insertion; the average grafting height was 19.3 ± 1.7 cm and 74.5 ± 2.4 cm, respectively. In each grafting season, 108 intravarietal grafts were made (54 of each type). A total of 324 grafts were made in the three grafting seasons.

To evaluate the success of grafting, the criteria indicated by Muñoz et al. (2013) were used, which includes two categories: a) unsuccessful grafting (value of 0), where apparently there was no functional union of the cambium of both structures and b) successful grafting (value of 1) with response from 45 to 90 days after grafting (dag), which include the formation of new needles, bud break or bud burst and shoot growth (Sg). Successful grafting and survival (%) were recorded every third day, from 3 to 90 dag. Sg was measured with a Neiko® digital vernier and a graduated ruler (cm). Similarly, and in a complementary manner to determine its effect on grafting success, length (cm) and bud diameter (mm), total height (cm), diameter at the base of the rootstock stem (mm) and grafted height (cm) were measured.

Experimental Design and Statistical Analysis

A total of four factors with different levels were evaluated: (a) bud origin (Santa Catarina Ixtepeji and Santa María Jaltianguis); (b) rootstock fertilization (3, 5 and 8 kg of Multicote® 15-7-15 + 2MgO + micronutrients per m³ of substrate); (c) grafting season (early winter, late winter, early summer); and (d) grafting technique (side-veneer and terminal tip/insertion). A completely randomized experimental design with a 2 x 3 x 3 x 3 x 2 factorial arrangement was used with nine replicates per treatment; each graft represented one experimental unit.

An analysis of variance (ANOVA) was carried out to determine the effect of factors and their interactions on the values of success in grafting and Sg; the ANOVA for both variables was carried out with the data from the evaluation at 90 dag, with the following statistical model.

$$Yijklm = \mu + Ai + Bj + Ck + Dl + ABij + ADil + BCjk + BDjl + CDkl + ABCijk + ABDijl + ACDikl + BCDjkl + ABCDijkl + \epsilonijklm$$

en las mismas comunidades donde se recolectó la semilla para la producción de portainjertos. En cada época de injertado se recolectó un promedio de 120 yemas por localidad. La edad promedio de los árboles donadores fue 43.5 ± 4.7 años con un diámetro de 53.5 ± 2.2 cm y altura promedio de 35.0 ± 3.7 m. De la parte media-superior de la copa de los árboles, se cortaron yemas sanas con longitud promedio de 18 a 20 cm y calibre de 10 a 15 mm, para facilitar la unión con el portainjerto durante cada época de injertado. Las yemas se colocaron en hieleras etiquetadas, recubiertas con aserrín deshidratado, franelas húmedas y hielo, y se transportaron al vivero del Campo Experimental Uruapan donde se injertaron 24 h después de su recolección.

Método y época de injertado

Los injertos se realizaron en tres épocas: 1) a principios del invierno (diciembre de 2018), 2) a finales del invierno (febrero de 2019), 3) a principios del verano (julio de 2019). Se utilizó la metodología descrita por Muñoz et al. (2013) con dos tipos de injertado: el de enchapado lateral y el de fisura terminal; la altura promedio de injertado fue de 19.3 ± 1.7 cm y de 74.5 ± 2.4 cm, respectivamente. En cada época de injertado se realizaron 108 injertos intravarietales (54 de cada tipo). Se realizó un total de 324 injertos en las tres épocas de injertado.

Para evaluar el prendimiento del injerto se utilizaron los criterios señalados por Muñoz et al. (2013) que incluyen dos categorías: a) injertos sin prendimiento (valor de 0), donde aparentemente no se presentó unión funcional del cámbium de ambas estructuras y b) injertos prendidos (valor de 1) con respuesta desde 45 y hasta 90 días del injerto (ddi), que incluyen la formación de acículas nuevas, la brotación o rompimiento de la yema y el crecimiento del brote (Cb). El prendimiento y la supervivencia (%) se registraron cada tercer día, desde los 3 hasta los 90 ddi. El Cb se midió con un vernier digital Neiko® y una regla graduada (cm). De la misma forma, y de manera complementaria para determinar su efecto en el éxito del injerto, se midió la longitud (cm) y diámetro de la yema (mm), altura total (cm), diámetro en la base del tallo del portainjerto (mm) y altura de injertado (cm).

Diseño experimental y análisis estadístico

Se evaluaron cuatro factores con diferentes niveles: (a) procedencia de las yemas (Santa Catarina Ixtepeji y Santa María Jaltianguis); (b) fertilización del portainjerto (3, 5 y 8 kg de fertilizante de liberación controlada Multicote® 15-7-15 + 2MgO + micronutrientes por m³ de sustrato); (c) época de injertado (principios de invierno,

where,

y_{ijklm} = response variable value of repetition l of level i of A, level j of B, level k of C and level l of D

μ = Overall mean

A_i = effect of level i of factor A (origin of the bud)

B_j = effect of level j of factor B (rootstock fertilization)

C_k = effect of level k of factor C (grafting period)

D_l = effect of level l of factor D (grafting technique)

AB_{ij} = A*B interaction, corresponding to level i of A and level j of B

AC_{ik} = A*C interaction, corresponding to level i of A and level k of C

AD_{il} = A*D interaction, corresponding to level i of A and level l of D

CB_{jk} = B*C interaction, corresponding to level j of B and level k of C

BD_{jl} = B*D interaction, corresponding to level j of B and level l of D

CD_{kl} = C*D interaction, corresponding to level k of C and level l of D

ABC_{ijk} = A*B*C interaction, corresponding to level i of A, level j of B and level k of C

ABD_{ijl} = A*B*D interaction, corresponding to level i of A, level j of B and level l of D

ACD_{ikl} = A*C*D interaction, corresponding to level i of A, level k of C and level l of D

BCD_{jkl} = B*C*D interaction, corresponding to level j of B, level k of C and l of D

$ABCD_{ijkl}$ = A*B*C*D interaction, corresponding to level i of A, level j of B, level k of C and level l of D.

ϵ_{ijklm} = experimental error corresponding to the repetition m of level i of A, j of B, k of C and l of D.

Prior to ANOVA, data on the success of grafting were transformed with the arcsine function of the square root of the original value expressed as a decimal fraction [$T = \arcsine(\sqrt{Y})$]. After analysis, average values were transformed back to the original units. When significant differences were observed, a Tukey's mean comparison test ($P = 0.05$) was carried out. To assess survival, dead grafts were coded as zero and live grafts as one. Survival dynamics for the four factors were analyzed by the Log-Rank test, from survival curves constructed by the Kaplan-Meier method (Kaplan & Meier, 1958) in which the survival function is defined as:

$$S(t) = P(T > t)$$

where,

$S(t)$ = probability of a death occurring within a certain time T

P = probability of survival at the time intervals during evaluation

T = total survival time to the end of the assessment, which must be greater than t

t = period at any time from the beginning of evaluation. Statistical analyses were carried out using STATISTICA 13.0 (StatSoft Inc., 2018).

finales de invierno, principios de verano); y (d) método de injertado (enchapado lateral y fisura terminal). Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial $2 \times 3 \times 3 \times 2$ con nueve repeticiones por tratamiento; cada injerto representó una unidad experimental.

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de los factores y sus interacciones sobre los valores de prendimiento y Cb; el ANOVA para ambas variables se realizó con los datos de la evaluación a los 90 ddi, con el siguiente modelo estadístico.

$$Yijklm = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + AB_{ij} + AD_{il} + BC_{jk} + BD_{jl} + CD_{kl} + ABC_{ijk} + ABD_{ijl} + ACD_{ikl} + BCD_{jkl} + ABCD_{ijkl} + \epsilon_{ijklm}$$

donde,

y_{ijklm} = valor variable respuesta de la repetición l del nivel i de A, nivel j de B, nivel k de C y nivel l de D

μ = media general

A_i = efecto del nivel i del factor A (procedencia de la yema)

B_j = efecto del nivel j del factor B (fertilización del portainjerto)

C_k = efecto del nivel k del factor C (época de injertado)

D_l = efecto del nivel l del factor D (método de injerto)

AB_{ij} = interacción A*B, correspondiente al nivel i de A y nivel j de B

AC_{ik} = interacción A*C, correspondiente al nivel i de A y nivel k de C

AD_{il} = interacción A*D, correspondiente al nivel i de A y nivel l de D

BC_{jk} = interacción B*C, correspondiente al nivel j de B y nivel k de C

BD_{jl} = interacción B*D, correspondiente al nivel j de B y nivel l de D

CD_{kl} = interacción C*D, correspondiente al nivel k de C y nivel l de D

ABC_{ijk} = interacción A*B*C, correspondiente al nivel i de A, nivel j de B y nivel k de C

ABD_{ijl} = interacción A*B*D, correspondiente al nivel i de A, nivel j de B y nivel l de D

ACD_{ikl} = interacción A*C*D, correspondiente al nivel i de A, nivel k de C y nivel l de D

BCD_{jkl} = interacción B*C*D, correspondiente al nivel j de B, nivel k de C y l de D

$ABCD_{ijkl}$ = interacción A*B*C*D, correspondiente al nivel i de A, nivel j de B, nivel k de C y nivel l de D.

ϵ_{ijklm} = error experimental correspondiente a la repetición m del nivel i de A, j de B, k de C y l de D.

Previo al ANOVA, los datos de prendimiento se transformaron con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original expresado en fracción decimal [$T = \arcseno(\sqrt{Y})$]. Después del análisis, los valores promedio se transformaron nuevamente a las unidades originales. Cuando se presentaron diferencias significativas, se hizo una prueba de comparación de

Results and discussion

Grafting success

The formation of needles, floral structures and bud sprouting was manifested from 45 days after grafting (dag), which was indicative of the activity and success of grafting. Table 1 shows that significant differences ($P < 0.05$) were obtained at grafting success stage and Sg by the effect of bud origin, period, grafting technique and some of their interactions.

According to Table 2, grafts using the side-veneer technique showed on average 36 ± 0.1 % of success and terminal tip/insertion 13 ± 0.1 %. With respect to time, grafting success increased to 41 ± 0.1 % when grafting was in February 2019; differences were up to 27 % with respect to grafting in December 2018 (period 1: 13 ± 0.1 %) and July 2019 (period 2: 20 ± 0.1 %). During the three periods, budwood coming from Santa Catarina Ixtepeji was more successful (26 ± 0.1 %) than that from Santa María Jaltianguis (23 ± 0.2 %) in both grafting techniques, especially for side grafting (Table 2). The effect of the grafting period is due to differences in the phenological and physiological state of the bud; at the time of harvesting, during period 2 (February 2019), the bud showed initial quiescence favoring greater growth in diameter (8 to 14 ± 1.2 mm) and

medias de Tukey ($P = 0.05$). Para evaluar la supervivencia, los injertos muertos se codificaron como cero y los vivos como uno. La dinámica de la supervivencia para los cuatro factores se analizó mediante la prueba Log-Rank, a partir de curvas de supervivencia construidas por el método Kaplan-Meier (Kaplan & Meier, 1958) en el que se define la función de supervivencia como:

$$S(t) = P(T > t)$$

donde,

$S(t)$ = probabilidad de que una muerte ocurra en un tiempo T

P = probabilidad de supervivencia en los intervalos de tiempo durante la evaluación

T = tiempo total de supervivencia hasta el final de la evaluación, que debe ser mayor que t

t = tiempo en cualquier momento desde el comienzo de la evaluación.

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa STATISTICA versión 13.0 (StatSoft Inc., 2018).

Resultados y discusión

Prendimiento del injerto

La formación de acículas, estructuras florales y brotación de yemas se manifestó desde los 45 días después de

Table 1. Analysis of variance of the effect of four factors and their interactions on grafting (PI) and shoot growth (Sg) of grafts in *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana*.

Cuadro 1. Análisis de varianza del efecto de cuatro factores y sus interacciones en el prendimiento (PI) y crecimiento del brote (Cb) de los injertos en *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana*.

Source of variation / Fuente de variación	Degrees of freedom / Grados de libertad	Probability value (P) / Valor de probabilidad (P)	
		PI	Sg / Cb
Origin of the bud / Procedencia de la yema	1	0.0174	0.9085
Rootstock fertilization / Fertilización del portainjerto	2	0.6697	0.9667
Grafting period / Época de injertado	2	<0.0001	<0.0001
Grafting technique / Método de injerto	1	<0.0001	<0.0001
Origin*rootstock / Procedencia*portainjerto	2	0.5547	0.6673
Origin*period / Procedencia*época	2	0.0413	0.2198
Origin*technique / Procedencia*método	1	0.0402	0.0837
Rootstock*period / Portainjerto*época	4	0.1373	0.4719
Rootstock*technique / Portainjerto*método	2	0.6966	0.2509
Period*technique / Época*método	2	0.9266	0.8817
Origin*rootstock*period / Procedencia*portainjerto*época	4	0.7741	0.6538
Origin*rootstock*technique / Procedencia*portainjerto*método	2	0.4950	0.6995
Origin*period*technique / Procedencia*época*método	2	0.9266	0.8123
Rootstock*period*technique / Portainjerto*época*método	4	0.2094	0.0580
Origin*rootstock*period*technique / Procedencia*portainjerto*época*método	4	0.3684	0.2147

Table 2. Tukey's mean comparison ($P = 0.05$) of grafting success and shoot growth for grafting on *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana*.**Cuadro 2. Comparación de medias de Tukey ($P = 0.05$) del prendimiento y crecimiento del brote para injertos realizados en *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana*.**

Factor	Grafting success at 90 dag (%) / Prendimiento del injerto a 90 ddi (%)	Shoot growth at 90 dag (cm) / Crecimiento del brote a 90 ddi (cm)
Origin (n = 162) / Procedencia (n = 162)		
Santa Catarina Ixtepeji	26 ± 0.1 a	-
Santa María Jaltianguis	23 ± 0.2 b	-
Period (n = 108) / Época (n = 108)		
Period 2 (February 2019) / Época 2 (febrero 2019)	41 ± 0.1 a	14.5 ± 0.1 a
Period 3 (July 2019) / Época 3 (julio 2019)	20 ± 0.1 b	11.7 ± 0.1 b
Period 1 (December 2018) / Época 1 (diciembre 2018)	13 ± 0.1 c	11.2 ± 0.1 b
Type of grafting (n = 162) / Tipo de injerto (n = 162)		
Side-veneer grafting / Enchapado lateral	36 ± 0.1 a	13.6 ± 0.1 a
Terminal tip/insertion / Fisura terminal	13 ± 0.1 b	11.4 ± 0.1 b

length (12 to 16 ± 3.3 cm). Furthermore, the diameter of the rootstock (14 to 18 ± 1.4 mm) and bud (8 to 14 ± 0.8 mm) affected the union of both structures; grafting success involves morphological, anatomical, physiological and biochemical aspects of a plant (Yin et al., 2012). Therefore, the faster the union (welding) of the tissues of both structures, the greater the success of grafting because this efficiency decreases the time in which the graft is at risk of dehydration (Gaspar, Wendling, Stuepp, & Angelo, 2017).

The significant effect of interaction of the factors bud origin-grafting season (Table 1; Figure 1a) reinforced the results obtained; buds from Santa Catarina Ixtepeji grafted during period two had 48 ± 0.04 % of success. On the other hand, the bud origin-grafting technique interaction (Table 1) showed higher (40 ± 0.03 %) success when grafting using side-veneer grafting technique with buds from Santa Catarina Ixtepeji (Figure 1b).

It is common that grafting success and reduced growth rate are the result of poor bud-rootstock union quality often related to poor callus formation caused by poor contact or intra- or interspecific incompatibility (Castro-Garibay, Villegas-Monter, & López-Upton, 2017; Yin et al., 2012). A factor that favored grafting was the genetic affinity between scion and rootstock, since intraspecific grafts are more successful for having greater anatomical, morphological and physiological similarity between graft components (Goldschmidt,

injertado (ddi), lo cual fue indicativo de la actividad y prendimiento de los injertos. El Cuadro 1 muestra que se obtuvieron diferencias significativas ($P < 0.05$) en el prendimiento y Cb por efecto de la procedencia de la yema, la época, el método de injertado y algunas de sus interacciones.

Acorde con el Cuadro 2, los injertos mediante la técnica de enchapado lateral presentaron en promedio 36 ± 0.1 % de prendimiento y los de fisura terminal 13 ± 0.1 %. Con respecto a la época, el prendimiento aumentó a 41 ± 0.1 % cuando el injerto se realizó en febrero del 2019; las diferencias fueron de hasta 27 % respecto a los injertos realizados en diciembre del 2018 (época 1: 13 ± 0.1 %) y julio del 2019 (época 2: 20 ± 0.1 %). Durante las tres épocas, la yema que provenía de Santa Catarina Ixtepeji tuvo mayor éxito (26 ± 0.1 %) que la de Santa María Jaltianguis (23 ± 0.2 %) en ambas técnicas de injertado, especialmente para injertos laterales (Cuadro 2). El efecto de la época de injertado se debe a las diferencias en el estado fenológico y fisiológico de la yema; al momento de recolectarse, durante la época 2 (febrero 2019), la yema presentó quiescencia inicial propiciando mayor crecimiento en diámetro (8 a 14 ± 1.2 mm) y longitud (12 a 16 ± 3.3 cm). Asimismo, el diámetro del portainjerto (14 a 18 ± 1.4 mm) y de la yema (8 a 14 ± 0.8 mm) influyó en la unión de ambas estructuras; el éxito del injerto involucra aspectos morfológicos, anatómicos, fisiológicos y bioquímicos de una planta (Yin et al., 2012). Por tanto, cuanto más

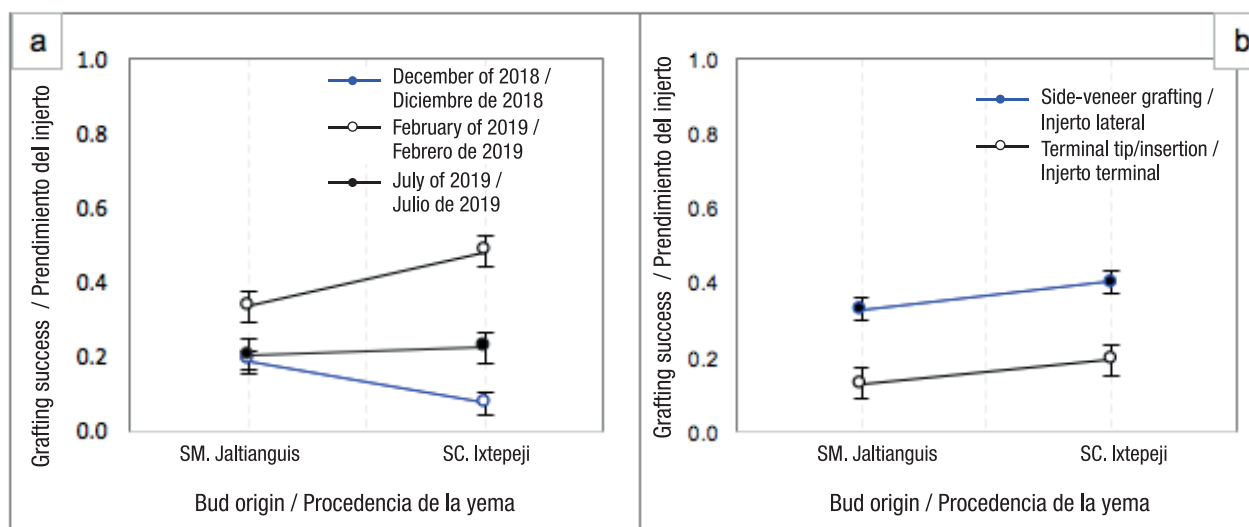


Figure 1. Effect of interactions: bud origin-grafting period (a) and bud origin-grafting technique (b) on grafting success in *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana* (bars indicate standard error of the mean).

Figura 1. Efecto de las interacciones: procedencia de la yema-época de injertado (a) y procedencia de la yema-método de injerto (b) en el prendimiento de los injertos en *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana* (barras indican error estándar de la media).

2014). These results agree with those reported by Muñoz et al. (2013) for intraspecific side-veneer grafting on *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus*, since they obtained 40 % of grafting success at 90 dag; with those described by Pérez-Luna et al. (2019) for grafts of the same type, but with *P. engelmannii* Carr. who recorded 25 % of success at 180 dag.

Shoot growth

Table 1 indicates that Sg had significant differences ($P \leq 0.05$) only for individual factors period and grafting technique. According to Table 2, grafting made during period 2 (February 2019) had 3.3 cm (14.5 ± 0.1 cm) more than the other periods. Sg was higher for side-veneer grafting on 13.6 ± 0.1 cm, compared to terminal tip/insertion with 11.4 ± 0.1 cm. Differences in Sg are because, terminal tip/insertion, the leader bud was replaced and grafted at a higher height (74.5 ± 2.4 cm); consequently, the rootstock could reduce the flow of water and nutrients required for growth (Świerczyński, Kolasiński, Urbaniak, Stachowiak, & Nowaczyk, 2018). In contrast, for side-veneer grafting, the aerial part of the rootstock was removed at three stages as mentioned by Muñoz et al. (2013); in addition, the height of the graft was lower (19.3 ± 1.7 cm) and, therefore, the needles of the graft developed at 45 dag carried out all photosynthesis and transpiration activities. These conditions impacted and established differences in Sg.

It has been mentioned that Sg differences are due to the growth habit of the sources; however, no significant

rápida sea la unión (soldadura) de los tejidos de ambas estructuras, mayor será el éxito y prendimiento, ya que esta eficiencia disminuye el tiempo en que el injerto está en riesgo de deshidratación (Gaspar, Wendling, Stuepp, & Angelo, 2017).

El efecto significativo de la interacción de los factores procedencia de la yema-época de injerto (Cuadro 1; Figura 1a) reforzó los resultados obtenidos; las yemas provenientes de Santa Catarina Ixtepeji injertadas durante la época dos presentaron 48 ± 0.04 % de éxito. Por otra parte, la interacción procedencia de la yema-método de injerto (Cuadro 1) demostró que el prendimiento es mayor (40 ± 0.03 %) cuando se injerta mediante la técnica de enchapado lateral con yemas procedentes de Santa Catarina Ixtepeji (Figura 1b).

Es común que el prendimiento y la tasa de crecimiento reducida sean causa de la mala calidad de unión yema-portainjerto que a menudo se relaciona con poca formación de callo causada por un contacto deficiente o por incompatibilidad intra o interespecífica (Castro-Garibay, Villegas-Monter, & López-Upton, 2017; Yin et al., 2012). Un factor que favoreció el prendimiento fue la afinidad genética entre púa y patrones, ya que los injertos intraespecíficos son más exitosos por tener mayor similitud anatómica, morfológica y fisiológica entre los componentes del injerto (Goldschmidt, 2014). Estos resultados concuerdan con los reportados por Muñoz et al. (2013) para injertos intraespecíficos de enchapado lateral con *P. pseudostrobus* var. *pseudostrobus*, ya que obtuvieron 40 % de prendimiento a 90 ddi; con los descritos por Pérez-Luna et al. (2019) para injertos

differences were observed in this case; rather, Sg was determined by the time of grafting (Koepke & Dhingra, 2013; Martínez-Ballesta, Alcaraz-López, Muries, Mota-Cadenas, & Carvajal, 2010; Świerczyński et al., 2018). According to Martínez-Ballesta et al. (2010), improper bud-rootstock callus formation can reduce Sg. The use of buds in initial quiescence or recess stage (period 2) increased the growth of the grafted scion, as Sg was initiating its active phase (Viveros-Viveros & Vargas-Hernández, 2007). On the other hand, the use of scions in post-dormant quiescence (period 3) interrupted Sg at the grafting phase (first 45 days), while the connections at the graft union point were being established.

Grafting survival

Grafting survival was determined according to the procedure used by other authors, as dead grafts without PI and live grafts with response and Sg were evaluated (Cuevas et al., 2015; Muñoz et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019). For the entire experiment (including all treatments), survival decreased from 100 % to 50 ± 5 % at 40 dag and 27.9 ± 4.6 % at 90 dag (Table 3).

The Log-Rank test showed statistical differences ($P < 0.001$) only for the grafting technique regarding the time of grafting. The average survival of side-veneer grafting at 90 dag was 20.5 % and for terminal tip/insertion 30.3 %. The highest percentage of mortality was recorded during the first 40 days, because more than 50 % had problems at grafting (Table 3; Figure 2).

The survival function estimated with the Kaplan-Meier model allowed identifying significant differences at 90 dag; side-veneer grafting had 24.1 %, 19.2 % and 18.4 % of survival for period 1, 2 and 3, respectively, and for the terminal tip/insertion, the estimated survival was 33.3 %, 34.3 % and 23.3 % for period 1, 2 and 3, respectively (Figure 2).

del mismo tipo, pero con *P. engelmannii* Carr., quienes registraron 25 % de prendimiento a los 180 ddi.

Crecimiento del brote

El Cuadro 1 indica que el Cb tuvo diferencias significativas ($P \leq 0.05$) únicamente para los factores individuales época y método de injertado. De acuerdo con el Cuadro 2, los injertos realizados durante la época 2 (febrero 2019) presentaron 3.3 cm (14.5 ± 0.1 cm) más que las otras épocas. El Cb fue mayor en los injertos de enchapado lateral con 13.6 ± 0.1 cm, respecto a lo observado en injertos de fisura terminal con 11.4 ± 0.1 cm. Las diferencias de Cb se deben a que, en los injertos terminales, la yema líder se sustituyó e injertó a mayor altura (74.5 ± 2.4 cm); en consecuencia, el portainjerto podría reducir el flujo de agua y nutrientes que requiere para su crecimiento (Świerczyński, Kolasinski, Urbaniak, Stachowiak, & Nowaczyk, 2018). En cambio, en los injertos laterales, la parte aérea del portainjerto se retiró en tres etapas según lo mencionado por Muñoz et al. (2013); además, la altura del injerto fue menor (19.3 ± 1.7 cm) y, por lo tanto, las acículas que el injerto desarrolló a los 45 ddi realizaron todas las actividades de fotosíntesis y transpiración. Estas condiciones repercutieron y establecieron diferencias en el Cb.

Se ha mencionado que, generalmente, las diferencias de Cb se deben al hábito de crecimiento de las las procedencias; sin embargo, no fueron significativas en este caso, sino que el Cb fue afectado por la época en la que se realizó el injerto (Koepke & Dhingra, 2013; Martínez-Ballesta, Alcaraz-López, Muries, Mota-Cadenas, & Carvajal, 2010; Świerczyński et al., 2018). De acuerdo con Martínez-Ballesta et al. (2010), la formación incorrecta del callo entre yema-portainjerto puede reducir el Cb. El uso de yemas en etapa de quiescencia inicial o receso (época 2) aumentó el crecimiento de la púa injertada, ya que el Cb iniciaba

Table 3. Survival dynamics of different types of grafting on *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana* at different times of the year.

Cuadro 3. Dinámica de la supervivencia de los tipos de injerto en *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana* realizados en distintas épocas del año.

Period/Época	Side-veneer grafting/Enchapado lateral			Terminal tip/insertion/Fisura terminal		
	Days with survival/ Días transcurridos con supervivencia			Days with survival/ Días transcurridos con supervivencia		
	<75 %	<50 %	<25 %	<75 %	<50 %	<25 %
1 (December 2018)/ 1 (diciembre 2018)	25	38	60	25	35	70
2 (February 2019)/ 2 (febrero 2019)	15	40	90	15	35	90
3 (July 2019)/ 3 (julio 2019)	16	26	50	17	27	90

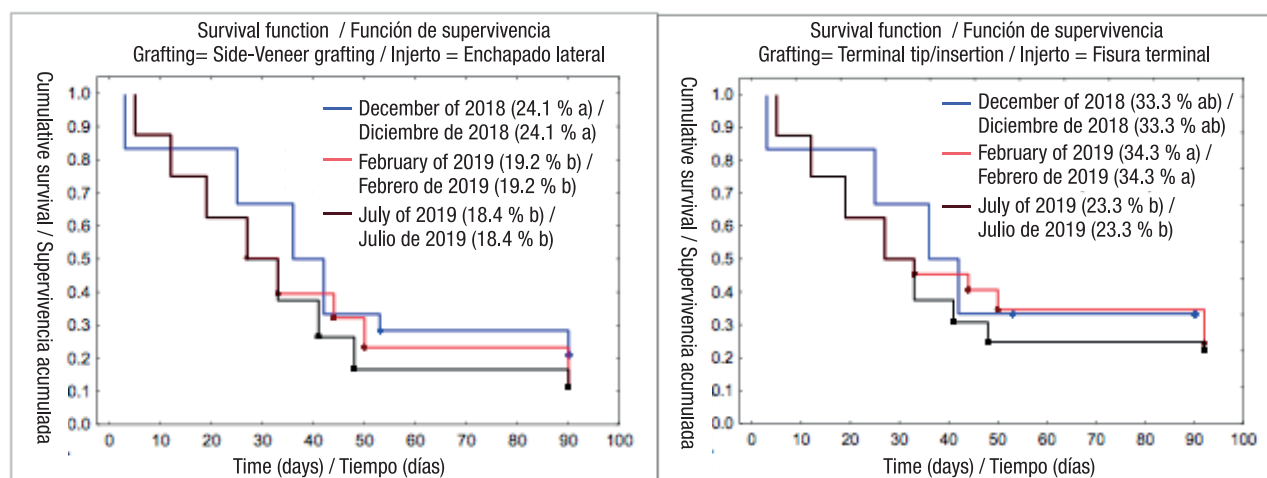


Figure 2. Survival estimated with the Kaplan-Meier model for side-veener grafting and terminal tip/insertion in *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana*. Values with different letters indicate statistical differences according to Tukey's test ($P \leq 0.05$).

Figura 2. Supervivencia estimada con el modelo de Kaplan-Meier para injertos de enchapado lateral y fisura terminal en *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana*. Valores con letras distintas indican diferencias estadísticas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Grafting season has been shown to influence the percentage of grafting success and survival; most studies recommend grafting conifers in winter season (Almqvist, 2013; Cuevas et al., 2015; Gaspar et al., 2017; Świerczyński et al., 2018). In a similar study with side-veener grafting on *P. engelmannii* at the end of winter, had a survival rate of 22.5 % six months after grafting (Pérez-Luna et al., 2019). In the case of broadleaf species, terminal intraspecific grafting on *Khaya grandifoliola* C. DC., increased survival significantly (81.67 %), and height growth during winter (Opoku et al., 2019). Based on the results obtained, it can be said that the best time for grafting on *P. pseudostrobus* var. *oaxacana* is at the end of winter, during period 2 (February). Gaspar et al. (2017) mention that successful grafting of woody species from any part of the world is possible at any time of the year under controlled climatic conditions, as long as the maximum temperature is not higher than 24 °C and the minimum temperature is not lower than 3 °C.

The grafting technique plays a determining role in survival, since, if the rootstock and bud have no union in the cambium, there will be no grafting success; in this study, side-veener grafting had higher Sg and grafting success. Although average percentages of grafting and survival were low (36 ± 0.1 %) and in most of the factors there was no significant interactive effect, there was an additive effect that increased these values (up to 66 %). The above was reflected in the case of side-veener grafting made on rootstocks produced with 8 kg fertilizer·m⁻³ with buds from Santa Catarina Ixtepeji during period 2 (February 2019).

su fase activa (Viveros-Viveros & Vargas-Hernández, 2007). Por otro lado, el uso de púas en estado de quiescencia posdormancia (época 3) interrumpió el Cb en el periodo de prendimiento (primeros 45 días), mientras se establecían las conexiones en el punto de unión del injerto.

Supervivencia de los injertos

La supervivencia de los injertos se determinó de acuerdo con lo mencionado por varios autores, ya que se evaluaron los injertos muertos sin PI e injertos vivos con respuesta y Cb (Cuevas et al., 2015; Muñoz et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019). De manera general para todo el experimento (incluidos todos los tratamientos), la supervivencia disminuyó de 100 % hasta 50 ± 5 % a los 40 ddi y 27.9 ± 4.6 % a los 90 ddi (Cuadro 3).

En la prueba Log-Rank se presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.001$) únicamente para el método de injerto respecto a la época de injertado. La supervivencia promedio de los injertos laterales a 90 ddi fue de 20.5 % y para injertos terminales de 30.3 %. El mayor porcentaje de mortalidad se registró durante los primeros 40 días, ya que más del 50 % presentó problemas de prendimiento (Cuadro 3; Figura 2).

La función de supervivencia estimada con el modelo de Kaplan-Meier permitió distinguir diferencias significativas a los 90 ddi; el injerto de enchapado lateral presentó 24.1 %, 19.2 % y 18.4 % de supervivencia para la época 1, 2 y 3, respectivamente, y para los injertos de fisura terminal, la supervivencia estimada

In this regard, the results represent an advance in knowledge of the subject taking into account some of the determining factors for the success of intraspecific grafting on *P. pseudostrobus* var. *oaxacana*. It was found that grafting and survival depend mainly on external factors such as the correct execution of the grafting technique and the time of grafting. Some authors indicate that internal factors such as bud/rootstock compatibility and the anatomical characteristics of both structures (factor not studied) are also important (Almqvist, 2013; Castro-Garibay et al., 2017; Darikova et al., 2013; Martínez-Ballesta et al., 2010; Ranjith & Ilango, 2017; Reig et al., 2018).

Conclusions

Bud origin, grafting technique and time of grafting are determining factors, because they significantly influenced success, growth, and survival of intraspecific grafting on *P. pseudostrobus* var. *oaxacana*. Although grafting and survival were low and, in most factors, there was no significant interactive effect, but there was an additive effect that increased grafting (>50 %) in the case of side-veneer grafting on rootstocks produced with 8 kg·m⁻³ of controlled-release fertilizer, with buds from Santa Catarina Ixtepeji, at the end of winter (period 2). Survival decreased as time passed but was not significantly related to geographic origin of the bud nor to rootstock fertilization. This indicates that survival in intraspecific grafting on *P. pseudostrobus* is a function of other factors not studied, probably related to physiological and anatomical compatibility of bud and rootstock.

Acknowledgements

The authors thank the Doctoral Program in Sciences with Orientation in Natural Resources Management at the Faculty of Forestry Sciences of the Universidad Autónoma de Nuevo León. The authors also thank to the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for the postgraduate scholarship support granted to the first author. To the project "Establecimiento de huertos semilleros asexuales regionales y ensayos de progenie de *Pinus pseudostrobus* para la evaluación genética de los progenitores" of the CONACyT-CONAFOR Sectorial Fund, for the funding provided to the first author. To DiCoVi of the state of Michoacán and to Dr. Víctor Manuel Coria Ávalos, head of the Uruapan INIFAP Experimental Field, as well as to the researchers Dr. Martín Gómez Cárdenas and Ing. J. Trinidad Sáenz Reyes for all the facilities and support provided.

fue 33.3 %, 34.3 % y 23.3 % para las épocas 1, 2 y 3, respectivamente (Figura 2).

Se ha demostrado que la época de injerto influye en el porcentaje de éxito y supervivencia de los injertos; la mayoría de los trabajos recomiendan injertar coníferas en temporada invernal (Almqvist, 2013; Cuevas et al., 2015; Gaspar et al., 2017; Świerczyński et al., 2018). En un estudio similar con injertos laterales en *P. engelmannii*, realizados al final del invierno, se obtuvo una tasa de supervivencia de 22.5 % a seis meses después del injertado (Pérez-Luna et al., 2019). En especies latifoliadas, al realizar injertos terminales intraespecíficos en *Khaya grandifoliola* C. DC., la supervivencia incrementó significativamente (81.67 %), así como su crecimiento en altura durante el invierno (Opoku et al., 2019). Con base en los resultados obtenidos se puede decir que la mejor época para realizar injertos en *P. pseudostrobus* var. *oaxacana* es al final del invierno, durante la época 2 (febrero). Gaspar et al. (2017) mencionan que es posible el éxito de los injertos de especies leñosas de cualquier parte del mundo en cualquier época del año bajo condiciones climáticas controladas, siempre que la temperatura máxima no sea superior de 24 °C ni la mínima sea inferior de 3 °C.

El método de injertado juega un papel determinante en la supervivencia, ya que, si el portainjerto y la yema no presentan unión en el cámbium, el injerto no tendrá éxito; en este trabajo, los injertos laterales presentaron mayor Cb y prendimiento. Aunque los porcentajes promedio de prendimiento y supervivencia fueron bajos (36 ± 0.1 %) y en la mayoría de los factores no hubo efecto interactivo significativo, sí existió efecto aditivo que aumentó estos valores (hasta 66 %). Lo anterior se reflejó en los injertos laterales realizados en portainjertos producidos con 8 kg de fertilizante·m⁻³ con yemas de Santa Catarina Ixtepeji durante la época 2 (febrero 2019).

En este sentido, los resultados representan un avance en el conocimiento del tema respecto a algunos de los factores determinantes para el éxito de injertos intraespecíficos con *P. pseudostrobus* var. *oaxacana*. En general, se pudo apreciar que el prendimiento y supervivencia del injerto depende principalmente de factores externos como la ejecución correcta de la técnica de injerto y la época de injertado. Algunos autores indican que los factores internos como la compatibilidad yema/portainjerto y las características anatómicas de ambas estructuras (factor no estudiado) también son importantes (Almqvist, 2013; Castro-Garibay et al., 2017; Darikova et al., 2013; Martínez-Ballesta et al., 2010; Ranjith & Ilango, 2017; Reig et al., 2018).

End of English version

References / Referencias

- Almqvist, C. (2013). Interstock effects on topgraft vitality and strobili production after topgrafting in *Pinus sylvestris*. *Canadian Journal of Forest Research*, 43(6), 584–588. doi: 10.1139/cjfr-2012-0507
- Barbosa, G. M. G., Alpizar, S., & Fiscal, V. (1984). *Pruebas de injertado en Pinus pseudostrobus var. oaxacana* Mtz. en los altos de Chiapas. México: Secretaría Forestal- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales.
- Castro-Garibay, S. L., Villegas-Monter, A., & López-Upton, J. (2017). Anatomy of rootstocks and scions in four pine species. *Forest Research*, 6(3), 1–6. doi: 10.4172/2168-9776.1000211
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2017). *Pinus pseudostrobus* Lindl. var. *pseudostrobus*. SIRE Paquetes Tecnológicos. CONAFOR-CONABIO. Retrieved from <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/981Pinus%20pseudostrobus.pdf>
- Comisión Nacional Forestal (CONAFOR). (2019). Manual para el establecimiento de unidades productoras de germoplasma forestal. Retrieved from https://backend.aprende.sep.gob.mx/media/uploads/proedit/resources/manual_para_el_estab_12bce8a9.pdf
- Cuevas, C. J. C., Jiménez, C. M., Jasso, M. J., Pérez, R. P., López, U. J., & Villegas, M. Á. (2015). Propagación asexual de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 21(1), 81–95. doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.08.033
- Darikova, Y. A., Vaganov, E. A., Kuznetsova, G. V., & Grachev, A. M. (2013). Changes in the anatomical structure of tree rings of the rootstock and scion in the heterografts of Siberian pine. *Trees*, 27(6), 1621–1631. doi: 10.1007/s00468-013-0909-6
- Farjon, A. (2008). *A natural history of conifers*. London, UK: Timber Press.
- Flores, L. C., López, U. J., & Valencia, M. S. (2017). Manual técnico para el establecimiento de ensayos de procedencias y progenies. Retrieved from <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/19/0Manual%20Te%CC%81cnico%20para%20el%20Establecimiento%20de%20Ensayos.pdf>
- Flores, A., López-Upton, J., Rullán-Silva, C. D., Olthoff, A. E., Alía, R., Sáenz-Romero, C., & García del Barrio, J. M. (2019). Priorities for conservation and sustainable use of forest genetic resources in four Mexican pines. *Forests*, 10(8), 675. doi: 10.3390/f10080675
- Frey, H. H., Frampton, J., Blazich, F. A., & Hinesley, L. E. (2010). Grafting Fraser fir (*Abies fraseri*): effect of grafting date, shade and irrigation. *HortScience*, 45(4), 617–620. doi: 10.21273/HORTSCI.45.4.617
- Frey, H. H., Frampton, J., Blazich, F. A., Hundley, D., & Hinesley, L. E. (2011). Grafting Fraser fir (*Abies fraseri*): effect of scion origin (crown position and branch order). *HortScience*, 46(1), 91–94. doi: 10.21273/HORTSCI.46.1.91
- Gaspar, R. G. B., Wendling, I., Stuepp, C. A., & Angelo, A. C. (2017). Rootstock age and growth habit influence

Conclusiones

La procedencia de la yema, el método y la época de injertado son factores determinantes, debido a que influyeron significativamente en el éxito, crecimiento y supervivencia de injertos intraespecíficos con *P. pseudostrobus* var. *oaxacana*. Aunque el prendimiento y supervivencia fueron bajos y en la mayoría de los factores no hubo efecto interactivo significativo, sí existió un efecto aditivo que aumentó el prendimiento (>50 %) cuando se realizaron injertos laterales en portainjertos producidos con 8 kg·m⁻³ de fertilizante de liberación controlada, con yemas provenientes de Santa Catarina Ixtepeji, al final del invierno (época 2). La supervivencia disminuyó conforme pasó el tiempo, pero no se relacionó significativamente con la procedencia geográfica de la yema ni con la fertilización del portainjerto. Esto indica que la supervivencia en injertos intraespecíficos con *P. pseudostrobus* está en función de otros factores no estudiados, probablemente relacionados con la compatibilidad fisiológica y anatómica de la yema y el portainjerto.

Agradecimientos

Al Programa de Doctorado en Ciencias con Orientación en Manejo de Recursos Naturales en la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Nuevo León. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo de beca de posgrado al primer autor. Al proyecto “Establecimiento de huertos semilleros asexuales regionales y ensayos de progenie de *Pinus pseudostrobus* para la evaluación genética de los progenitores” del Fondo Sectorial CONACyT-CONAFOR, por las facilidades de financiamiento al primer autor. Al DiCoVi del estado de Michoacán y al Dr. Víctor Manuel Coria Ávalos, jefe del Campo Experimental Uruapan INIFAP, así como a los investigadores Dr. Martín Gómez Cárdenas e Ing. J. Trinidad Sáenz Reyes por todas las facilidades y apoyo brindado.

Fin de la versión en español

top grafting in *Araucaria angustifolia*. *CERNE*, 23(4), 465–471. doi: 10.1590/01047760201723042447

Gernandt, D. S., & Pérez-de la Rosa, J. A. (2014). Biodiversity of Pinophyta (conifers) in Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(S126-S133), 123–133. doi: 10.7550/rmb.3219

Goldschmidt, E. (2014). Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science*, 5, 1–9. doi: 10.3389/fpls.2014.00727

Kaplan, E. L., & Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53(282), 457–481.

- Kita, K., Kon, H., Ishizuka, W., Agathokleous, E., & Kuromaru, M. (2018). Survival rate and shoot growth of grafted Dahurian larch (*Larix gmelinii* var. *japonica*): a comparison between Japanese larch (*L. kaempferi*) and F1 hybrid larch (*L. gmelinii* var. *japonica* × *L. kaempferi*) rootstocks. *Silvae Genetica*, 67(1), 111–116. doi: 10.2478/sg-2018-0016
- Koepke, T., & Dhingra, A. (2013). Rootstock scion somatogenetic interactions in perennial composite plants. *Plant Cell Reports*, 32, 1321–1327. doi: 10.1007/s00299-013-1471-9
- Martínez-Ballesta, M. C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mota-Cadenas, C., & Carvajal, M. (2010). Physiological aspects of rootstock scion interactions. *Scientia Horticulturae*, 127(2), 112–118. doi: 10.1016/j.scienta.2010.08.002
- Muñoz, F. H. J., Prieto, R. J. Á., Flores, G. A., Pineda, O. T., & Morales, G. E. (2013). *Técnicas de injertado “enchapado lateral” y “fisura terminal” en Pinus pseudostrobus Lindl.* México: INIFAP.
- Oliveira, K. F., Nogueira, A. C., & Higa, A. R. (2018). Productivity of cones and seeds in a clonal orchard of *Pinus taeda* Linnaeus. *Advances in Forestry Science*, 5(2), 293–298. Retrieved from <http://periodicoscientificos.ufmt.br/> ...
- Opoku, E. M., Opuni-Frimpong, E., & Dompok, D. (2019). Developing sustainable regeneration techniques for four African mahogany species: grafting methods for success and growth. *New Forests*, 50(4), 539–554. doi: 10.1007/s11056-018-9677-x
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2019). Boletín de noticias: La producción mundial de productos madereros registra el mayor aumento de los últimos 70 años. Retrieved from <http://www.fao.org/news/story/es/item/1256292/icode/>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). (2018). *El estado de los bosques del mundo-Las vías forestales hacia el desarrollo sostenible*. Roma: Author. Retrieved from <http://www.fao.org/3/I9535ES/i9535es.pdf>
- Pérez-Luna, A., Prieto-Ruiz, J. Á., López-Upton, J., Carrillo-Parra, A., Wehenkel, C., Chávez-Simental, J. A., & Hernández-Díaz, J. C. (2019). Some factors involved in the success of side veneer grafting of *Pinus engelmannii* Carr. *Forests*, 10(2), 112. doi: 10.3390/f10020112
- Pérez-Luna, A., Wehenkel, C., Prieto-Ruiz, J. Á., López-Upton, J., & Hernández-Díaz, J. C. (2020). Survival of side grafts with scions from pure species *Pinus engelmannii* Carr. and the *P. engelmannii* × *P. arizonica* Engelm. var. *arizonica* hybrid. *PeerJ*, 8, e8468. doi: 10.7717/peerj.8468
- Ranjith, K., & Ilango, J. V. (2017). Impact of grafting methods, scion materials and number of scions on graft success, vigour and flowering of top worked plants in tea (*Camellia* spp.). *Scientia Horticulturae*, 220, 139–146. doi: 10.1016/j.scienta.2017.03.039
- Reig, G., Zarrouk, O., Forcada, C. F., & Moreno, M. Á. (2018). Anatomical graft compatibility study between apricot cultivars and different plum based rootstocks. *Scientia Horticulturae*, 237, 67–73. doi: 10.1016/j.scienta.2018.03.035
- Sevik, H., & Topacoglu, O. (2015). Variation and inheritance pattern in cone and seed characteristics of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) for evaluation of genetic diversity. *Journal of Environmental Biology*, 36(5), 1125–1130. https://www.researchgate.net/publication/282943568_Variation_and_inheritance_pattern_in_cone_and_seed_characteristics_of_Scots_pine_Pinus_sylvestris_L_for_evaluation_of_genetic_diversity
- StatSoft Inc. (2000). STATISTICA software, kernel release version 13. Tulsa, Oklahoma, USA: Author.
- Stewart, J. F., Will, R., Crane, B. S., & Nelson, C. D. (2016). Occurrence of shortleaf × loblolly pine hybrids in shortleaf pine orchards: Implications for ecosystem restoration. *Forest Science*, 63(2), 225–231. doi:10.5849/forsci.15-167
- Świerczyński, S., Kolasinski, M., Urbaniak, M., Stachowiak, A., & Nowaczyk, N. (2018). Influence of rootstock and grafting date on the success and grafts growth of two cultivars of pines. *Horticulture*, 21(4), 6. doi: 10.30825/EJPAU.165.2018.21.4
- Vargas-Hernandez, J. J., & Vargas-Abonce, J. I. (2016). Effect of gibberellic acid ($GA_{4/7}$) and girdling on induction of reproductive structures in *Pinus patula*. *Forest Systems*, 25(2), e063. doi: 10.5424/fs/2016252-09254
- Vargas-Hernández, J. J., Bermejo-Velázquez, B., & Ledig, F. T. (2004). *Manejo de recursos genéticos forestales* (2.ª ed.). México: Colegio de Postgraduados-Comisión Nacional Forestal.
- Viveros-Viveros, H., & Vargas-Hernández, J. J. (2007). Dormancia en yemas de especies forestales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 13(2), 131–135. Retrieved from <https://revistas.chapingo.mx/forestales/?section=articles&subsec=issues&numero=36&articulo=478>
- Wang, Y. Q. (2011). Plant grafting and its application in biological research. *Chinese Science Bulletin*, 56, 3511–3517. doi: 10.1007/s11434-011-4816-1
- Yin, H., Yan, B., Sun, J., Jia, P., Zhang, Z., Yan, X., ...Liu, H. (2012). Graft-union development: a delicate process that involves cell–cell communication between scion and stock for local auxin accumulation. *Journal of Experimental Botany*, 63(11), 4219–4232. doi: 10.1093/jxb/ers109
- Zobel, B. J., & Talbert, J. T. (1988). *Técnicas de mejoramiento genético de árboles forestales*. México: Limusa.