

# Effective protocol to increase the percentage of grafting success of *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López

## Protocolo eficiente para aumentar el porcentaje de prendimiento en injertos de *Pinus greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López

Sandra L. Castro-Garibay<sup>1</sup>; Ángel Villegas-Monter<sup>1\*</sup>; Javier López-Upton<sup>2</sup>; Manuel Sandoval-Villa<sup>1</sup>; Lourdes Arévalo-Galarza<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Fisiología Vegetal. Carretera México- Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

<sup>2</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Ciencias Forestales. Carretera México- Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

<sup>3</sup>Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Fruticultura. Carretera México- Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Texcoco, Estado de México, México.

\*Corresponding author: villeda53@hotmail.com; tel.: +52 595 113 8606.

### Abstract

**Introduction:** Grafted plants of conifers are used in the establishment of clonal seed orchards, but with the methodology currently used, unsatisfactory results are reported.

**Objective:** To compare grafting and growth of *Pinus greggii* var. *australis* scion from nursery and field stock plants grafted on four rootstocks.

**Materials and methods:** Scions of *P. greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López, collected from nursery stock plants (NSSP) and field trees (FSSP), were divided into terminal bud and basal segment, and grafted onto *P. greggii* var. *australis*, *P. patula* Schiede ex Schltdl. et Cham., *P. teocote* Schiede ex Schltdl. et Cham. and *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. Percentage of grafting, height increment, diameter, scion-rootstock ratio and number of shoots (NS) were evaluated. Height and diameter increment data were subjected to an ANOVA and NS was analyzed with Poisson regression.

**Results and discussion:** Grafting ranged from 93 to 100 %. The greatest increase in height was reported for *P. teocote* (14 cm) with scion from the terminal shoot of the nursery plant, while the combination *P. greggii*/*P. leiophylla* had the best scion-rootstock ratio with a value of 1. The highest NS was recorded with scion from the basal segment of NSSP. Getting two types of scions from one scion made the use of vegetative material more efficient.

**Conclusions:** The use of nursery stock plants, 15-month-old rootstock, and two types of scions allowed having grafted plants in three months. The methodology developed was efficient, cost-effective and fast.

**Keywords:** *Pinus patula*;  
*Pinus teocote*; *Pinus leiophylla*;  
scion with terminal bud;  
basal segment scion.

### Resumen

**Introducción:** Las plantas injertadas de coníferas se utilizan en el establecimiento de huertos semilleros clonales, pero con la metodología utilizada actualmente se obtienen resultados poco satisfactorios.

**Objetivo:** Comparar prendimiento y crecimiento de injertos con púas de *Pinus greggii* var. *australis* provenientes de plantas donadoras de vivero y de campo, injertadas en cuatro portainjertos.

**Materiales y métodos:** Púas de *P. greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López, recolectadas en plantas donadora en vivero (PDPV) y de árboles en campo (PDPC), se dividieron en brote terminal y segmento basal e injertaron en *P. greggii* var. *australis*, *P. patula* Schiede ex Schltdl. et Cham., *P. teocote* Schiede ex Schltdl. et Cham. y *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. Se evaluó porcentaje de prendimiento, incremento en altura, diámetro, relación injerto-portainjerto y número de brotes (NB). Los datos de incremento en altura y diámetro se sometieron a un análisis de varianza y el NB se analizó con regresión Poisson.

**Resultados y discusión:** Los prendimientos variaron de 93 a 100 %. El incremento mayor en altura se obtuvo en *P. teocote* (14 cm) con púa de brote terminal de planta en vivero, mientras que la combinación *P. greggii*/*P. leiophylla* presentó mejor relación injerto-portainjerto con valor de 1. El mayor NB se registró con púa de segmento basal de PDPV. La obtención de dos tipos de púa de una varetta hizo más eficiente el uso de material vegetativo.

**Conclusiones:** El uso de plantas donadoras de vivero, portainjertos de 15 meses, y dos tipos de púa permitió tener plantas injertadas en tres meses. La metodología desarrollada fue eficiente, económica y rápida.

**Palabras clave:** *Pinus patula*;  
*Pinus teocote*; *Pinus leiophylla*;  
púa con brote terminal;  
púa de segmento basal.

## Introduction

The use of grafting dates back to 1800 BC. (Mudge, Janick, Scofield, & Goldschmidt, 2009). The purpose has been diverse based on the problem to be solved; for example, tolerance to pests such as phylloxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) in grapevine (Korosi et al., 2011) or diseases (*Phytophthora cinnamomi* Rands) in citrus and avocado (Acosta-Pérez et al., 2012; Castro, Fassio, Cautin, & Ampuero, 2015) and increased production in tomato (Velasco-Alvarado et al., 2019).

In the case of conifers, the use of grafting on a global scale is limited to seed-producing orchards (Loewe-Muñoz, Del Río, Delard, & Balzarini, 2021). In Mexico, grafting has only been used at an experimental level (Aparicio-Rentería, Viveros-Viveros, & Rebolledo-Camacho, 2013); in addition, the methodology used is time-consuming and generates low percentages of grafting, due to the inadequate quality of rootstocks and scions, as well as poor pre- and post-grafting management (Pérez-Luna et al., 2019).

*Pinus greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López adapts to poor soils and moisture limiting conditions (600 to 750 mm); it also shows good growth in diameter and height (Ramírez-Herrera, Vargas-Hernández, & López-Upton, 2005). The importance of this species in plantations and reforestations has led to the establishment of seed orchards (Ruíz-Farfán, López-Upton, Ramírez-Herrera, & Rodríguez-Trejo, 2015) with plants grown from seed.

In pines, rootstocks are regularly of the same species, because it is considered that with these combinations, grafting should be improved (Goldschmidt, 2014); however, there has been little research on the effect of rootstocks grafted with scions from the same tree and the effects on growth, production of female estrobili and wood quality are unknown.

The scions used in pine species are collected from trees growing in the field, they are generally lignified, which makes grafting more difficult; in addition, scions from the terminal bud are used, because it is considered that only in this way there will be growth once the graft is attached (Pérez-Luna et al., 2019). Despite the existence of scions with sufficient length to obtain more stem segments, no use is made of them. In the case of citrus, scions are not obtained from field plants due to phytosanitary and cost issues, but from stock-plants established in shadow house such as nurseries to have sufficient and quality plant material (Zamora-Rodríguez, Peña-Bárgaza, Hernández-Rodríguez, & Cueto-Rodríguez, 2016).

## Introducción

El uso de injertos data de 1800 a. C. (Mudge, Janick, Scofield, & Goldschmidt, 2009). El propósito ha sido diverso en función del problema a resolver; por ejemplo, tolerancia a plagas como filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae* Fitch) en vid (Korosi et al., 2011) o enfermedades (*Phytophthora cinnamomi* Rands) en cítricos y aguacate (Acosta-Pérez et al., 2012; Castro, Fassio, Cautin, & Ampuero, 2015) e incremento de producción en jitomate (Velasco-Alvarado et al., 2019).

En el caso de coníferas, el uso de injertos a escala mundial está limitado para huertos productores de semilla (Loewe-Muñoz, Del Río, Delard, & Balzarini, 2021). En México, los injertos solo se han utilizado a nivel experimental (Aparicio-Rentería, Viveros-Viveros, & Rebolledo-Camacho, 2013); además, la metodología empleada es laboriosa y genera porcentajes bajos de prendimiento, debido a la calidad inadecuada de los portainjertos y púas, así como al manejo pre y posinjerto deficiente (Pérez-Luna et al., 2019).

*Pinus greggii* Engelm. var. *australis* Donahue et López se adapta a suelos pobres y a condiciones limitantes de humedad (600 a 750 mm); además presenta buen crecimiento de diámetro y altura (Ramírez-Herrera, Vargas-Hernández, & López-Upton, 2005). Por la importancia de esta especie en plantaciones y reforestaciones, se han establecido huertos semilleros (Ruíz-Farfán, López-Upton, Ramírez-Herrera, & Rodríguez-Trejo, 2015) con plantas generadas de semilla.

En pinos, los portainjertos regularmente son de la misma especie, ya que se considera que con estas combinaciones el prendimiento debe ser mayor (Goldschmidt, 2014); sin embargo, poco se ha investigado sobre el efecto de portainjertos injertados con púas del mismo árbol y se desconocen los efectos en crecimiento, producción de estróbilos femeninos y la calidad de madera.

Las púas utilizadas en especies de pinos son obtenidas de árboles creciendo en campo, generalmente están lignificadas lo que hace más difícil el prendimiento; además, se utilizan púas del brote terminal, pues se considera que solo así habrá crecimiento una vez prendido el injerto (Pérez-Luna et al., 2019). A pesar de que existan púas con longitud suficiente para obtener más segmentos de tallo, no se aprovechan. En cítricos, las púas no se obtienen de plantas de campo por cuestiones fitosanitarias y económicas, sino de plantas madre donadoras establecidas en espacios protegidos como viveros, con el objetivo de tener material vegetal suficiente y de calidad (Zamora-Rodríguez, Peña-Bárgaza, Hernández-Rodríguez, & Cueto-Rodríguez, 2016).

Based on the above, the objective of this study was to compare grafting and growth of *Pinus greggii* var. *australis* scion from nursery and field stock plants grafted on four pine species.

## Materials and methods

### Plant material

Scions (terminal bud and basal segment) from nursery stock plants (NSSP) and field-selected trees (FSSP) from a sexual seed orchard in Pueblo Nuevo, Puebla, Mexico (19° 57' 35.73" N; 98° 06' 22.77" W) were used.

Nursery stock plants originated from grafting made in 2016 using scions from field-selected trees from a 14-year-old sexual seed orchard located at the Insurgentes nursery, Zacatlán, Puebla, Mexico (19° 57' 35.73" N; 98° 06' 22.77" W). Plants were kept in 12 L pots (21, 27 and 31 cm in base, height and upper diameter, respectively) with substrate consisting of bark, vermicompost and tezontle (60:20:20; v: v: v) at Montecillo, Texcoco, Estado de México, Mexico (19° 27' 37.74" N; 98° 54' 15.27" W), under 60 % shade netting.

From tree 16 in the seed orchard, 220 scions with a length of 8 to 12 cm and a diameter of 3.5 mm were collected. This activity was carried out one day before grafting; the scions were transported in Ziploc® bags in a cooler containing frozen water in plastic bottles. On the same day of collection, in the *in vitro* culture laboratory, the needles were removed from the base of the scions (4 cm), washed with soap and water to remove dust and scrubbed with a fine bristle toothbrush. They were then disinfested with Benomyl (methyl 1-[butylcarbamoyl] benzimidazole 2-yl carbamate; 2 g·L<sup>-1</sup>) for 15 min, left on laid paper to remove excess water, and stored in the same manner as transported. Nursery scions were collected (120 scions) at the time of grafting, but were not disinfested; the average length was 15 to 20 cm. At the time of grafting, scions averaged 8 to 10 cm in length for both origins (Figure 1).

### Rootstocks

In May 2018, five months seedlings from seed of *Pinus greggii* var. *australis*, *P. patula* Schiede ex Schltdl. et Cham., *P. teocote* Schiede ex Schltdl. et Cham. and *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham, produced in rigid plastic container (140 cm<sup>3</sup>) were transplanted into 1 L square pots (8.5, 12.5 and 10.7 cm at base, height and top, respectively) with bark, vermicompost and perlite substrate (60:20:20 v/v/v). Plant sizes ranged from 1.74 to 2.98 mm in diameter and from 14.05 to 20.55 cm in height. Fertilizations were made with

Con base en lo anterior, el objetivo fue comparar el prendimiento y crecimiento de injertos con púas de *Pinus greggii* var. *australis* provenientes de plantas donadoras de vivero y de campo, injertadas en cuatro especies de pino.

## Materiales y métodos

### Material vegetal

Se utilizaron púas (brote terminal y segmento basal) de plantas donadoras de vivero (PDPV) y de árboles seleccionados en campo (PDPC) de un huerto semillero sexual en Pueblo Nuevo, Puebla, México (19° 57' 35.73" N; 98° 06' 22.77" O).

Las plantas donadoras de vivero se originaron de injertos realizados en 2016 con púas de árboles seleccionados en campo de un huerto semillero sexual de 14 años, ubicado en el vivero Insurgentes, Zacatlán, Puebla, México (19° 57' 35.73" N; 98° 06' 22.77" O). Las plantas se mantuvieron en macetas de 12 L (21, 27 y 31 cm en base, altura y diámetro superior, respectivamente) con sustrato compuesto por corteza, lombricomposta y tezontle (60:20:20; v: v: v) en Montecillo, Texcoco, Estado de México, México (19° 27' 37.74" N; 98° 54' 15.27" O), bajo malla sombra al 60 %.

Del árbol 16 del huerto semillero se recolectaron 220 púas con longitud de 8 a 12 cm y diámetro de 3.5 mm. Esta actividad se realizó un día antes de hacer el injerto; las púas se transportaron en bolsas Ziploc® en una hielera que contenía agua congelada en botellas de plástico. El mismo día de recolecta, en el laboratorio de cultivo *in vitro*, se eliminaron las acículas de la base de las púas (4 cm), se lavaron con agua y jabón para eliminar el polvo y se tallaron con cepillo de dientes de cerdas finas. Después se desinfestaron con Benomilo (metil 1-[butilcarbamoil] bencimidazol 2-il carbamato; 2 g·L<sup>-1</sup>) durante 15 min, se dejaron sobre papel estraza para eliminar el exceso de agua y se guardaron de la misma forma que se transportaron. Las púas de vivero se recolectaron (120 púas) al momento de injertar, pero no se desinfestaron; la longitud promedio fue de 15 a 20 cm. Al momento del injerto, las púas tuvieron longitud promedio de 8 a 10 cm para ambos orígenes (Figura 1).

### Portainjertos

En mayo de 2018 plantas provenientes de semilla de *Pinus greggii* var. *australis*, *P. patula* Schiede ex Schltdl. et Cham., *P. teocote* Schiede ex Schltdl. et Cham. y *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham de cinco meses, producidas en tubetes de plástico rígido



**Figure 1.** *Pinus greggii* var. *australis* scions with terminal bud (A) and basal segment (B) used for grafting.  
**Figura 1.** Púas de *Pinus greggii* var. *australis* con brote terminal (A) y segmento basal (B) utilizadas para injertar.

2 g·L<sup>-1</sup> diammonium phosphate solution (DAP®) every two weeks for two months. The rootstocks were kept in a space protected with 60 % shade netting.

In April 2019, the plants of the four species were grafted (15 months, 3 to 4 mm in diameter and 36 to 52 cm in height). *Pinus patula* and *P. greggii* had the greatest heights, 52 and 49 cm, respectively, and *P. patula* and *P. teocote* had the greatest diameters, both with 4.3 mm. Shoots developed at the base of the rootstocks were removed one month after grafting and, subsequently, according to emergence.

#### Grafting and post-grafting management

A total of 60 grafts were made per species of rootstock: 15 for each origin (NSSP and FSSP) and 15 of each type of scion (terminal shoot and basal segment); a total of 240. It should be mentioning that, for basal segments of the field scions, the main apex was removed because they had insufficient length to section them, contrary to the nursery scions, where in some cases up to two basal segments were obtained. The type of grafting was cleft; the scion was grafted where the rootstock stem was tender green (12 cm), it was tied with plastic tape and a transparent plastic bag was placed under the union to avoid excess transpiration (Figure 2).

Plants were fertilized with DAP® (2 g·L<sup>-1</sup>), one week after grafting and, subsequently, every three weeks for six months, interspersed with DAP®, Yaramila complex® (N-12 %, P-11 %, K-18 %, S-11 %, Mg-2.7 %, B-0.0015 %, and Fe, Mn and Zn-0.2 %; 2 g·L<sup>-1</sup>) and humic substances (1 mL·L<sup>-1</sup>), adding 100 mL of solution to each plant and Ultrasol micromix® foliarly (1 g·L<sup>-1</sup>).

(140 cm<sup>3</sup>) se trasplantaron en macetas cuadradas de 1 L (8.5, 12.5 y 10.7 cm en la base, altura y parte superior, respectivamente) con sustrato de corteza, lombricomposta y perlita (60:20:20 v/v/v). Las tallas variaron de 1.74 a 2.98 mm de diámetro y de 14.05 a 20.55 cm de altura. Las fertilizaciones se hicieron con 2 g·L<sup>-1</sup> de solución de fosfato diamónico (DAP®) cada dos semanas por dos meses. Los portainjertos se mantuvieron en espacio protegido con malla sombra al 60 %.

En abril del 2019, las plantas de las cuatro especies se injertaron (15 meses, 3 a 4 mm de diámetro y 36 a 52 cm de altura). *Pinus patula* y *P. greggii* presentaron las alturas mayores, 52 y 49 cm respectivamente, y *P. patula* y *P. teocote* registraron los diámetros mayores, ambas con 4.3 mm. Los brotes desarrollados en la base de los portainjertos se eliminaron un mes después del injerto y, posteriormente, de acuerdo con su aparición.

#### Injertado y manejo posinjerto

Se realizaron 60 injertos por especie de portainjerto: 15 por cada origen (PDPV y PDPC) y 15 de cada tipo de púa (brote terminal y segmento basal); en total 240. Cabe mencionar que, para los segmentos basales de las púas de campo, el ápice principal se eliminó porque estas no tenían longitud suficiente para seccionarlas, caso contrario de las púas de vivero que en algunos casos se obtuvieron hasta dos segmentos basales. El tipo de injerto utilizado fue hendidura; la púa se injertó donde el tallo del portainjerto era verde tierno (12 cm), se amarró con cintas plásticas y se colocó una bolsa de plástico transparente (Figura 2) que cubrió por abajo de la unión, para evitar el exceso de transpiración.

The plastic bag was removed as follows: one week after grafting one corner of the bag was cut off (about 2 cm), in the second week the next end of the bag was cut off (Figure 2B), in the third week the top of the bag was removed (Figure 2C), and in the fourth week it was completely removed (Figure 2D). The straps to tie the graft were removed three months later.

### Experimental design and study variables

The experimental design was generalized randomized blocks with factorial arrangement: the four rootstocks species as blocks, the factors were origins (NSSP and FSSP) and scion types (terminal bud and basal segment); there were 16 treatments in total.

The variables evaluated were grafting percentage (with the total number of plants per treatment), one month

Las plantas se fertilizaron con DAP® (2 g·L<sup>-1</sup>), una semana después de injertadas y, posteriormente, cada tres semanas durante seis meses, intercalando con DAP®, Yaramila complex® (N-12 %, P-11 %, K-18 %, S-11 %, Mg-2.7 %, B-0.0015 %, y Fe, Mn y Zn-0.2 %; 2 g·L<sup>-1</sup>) y sustancias húmicas (1 mL·L<sup>-1</sup>), colocando 100 mL de solución a cada planta y Ultrasol micromix® de manera foliar (1 g·L<sup>-1</sup>).

La bolsa de plástico se eliminó de la manera siguiente: una semana después del injerto se cortó una esquina de la bolsa (2 cm aproximadamente), en la segunda semana se cortó el extremo siguiente (Figura 2B), en la tercera semana se quitó la parte superior de la bolsa (Figura 2C) y en la cuarta semana se retiró completamente (Figura 2D). Las cintas para amarrar el injerto se eliminaron tres meses después.



**Figure 2.** Post-grafting management of *Pinus greggii* var. *australis* on four rootstock species: saturation of the bag with mist to reduce graft transpiration (A), cut at the corners of the bag (B), cut at the top of the bag (C) and bag removal and graft growth (D).

**Figura 2.** Manejo posinjerto de *Pinus greggii* var. *australis* en cuatro especies de portainjertos: saturación de bolsa con vaho para disminuir transpiración del injerto (A), corte de las esquinas de bolsa (B), corte de la parte superior (C) y retiro total de bolsa y crecimiento del injerto (D).

after grafting; increase in height (cm) and diameter (mm) six and 12 months after grafting (diameters were measured 0.5 cm above and below the graft union); scion/rootstock ratio (scion diameter/rootstock diameter); and number of shoots emitted on the scions of the combinations, three months after grafting. The grafting percentage was calculated considering the 15 plants per combination; for the rest of the variables, the sample was 10 plants per combination of rootstock and scion (origin and type). Data were analyzed with the statistical packages R 3.6.1 (The R Foundation, 2018) and SAS 9.4 (Statistical Analysis System Institute, 2013).

Height and diameter increment data were subjected to an ANOVA and subsequent Tukey's mean comparison test ( $P \leq 0.05$ ); for the first variable only terminal shoots scions were used, and diameter was analyzed in both scion types. The number of shoots generated in the scions of the combinations was analyzed with Poisson regression.

## Results and Discussion

### Grafting success

Using 15-month-old rootstocks and scions from nursery or field-collected stock plants, but with active growth, more than 93 % grafting was reported (Figure 3). Grafting success was 100 % when *P. teocote* and *P. patula* were used, while with *P. greggii* and *P. leiophylla* it was 96.5 % (Figure 3); Baron, Esteves, Amaro, Pina, and Ferreira (2019) mention that it is necessary to use the same species as rootstock to obtain

### Diseño experimental y variables de estudio

El diseño experimental fue bloques al azar generalizado con arreglo factorial: las cuatro especies de portainjertos como bloques, los factores fueron los orígenes (PDPV y PDPC) y los tipos de púa (brote terminal y segmento basal); se tuvieron 16 tratamientos en total.

Las variables evaluadas fueron porcentaje de prendimiento (con el total de plantas por tratamiento) un mes después de injertados; incremento en altura (cm) y diámetro (mm) a los seis y 12 meses después de injertado (los diámetros se midieron 0.5 cm por arriba y abajo de la unión del injerto); relación injerto/portainjerto (diámetro de injerto/diámetro portainjerto); y número de brotes emitidos en las púas de las combinaciones tres meses después del injerto. El porcentaje de prendimiento se calculó tomando en cuenta las 15 plantas por combinación; para el resto de las variables, la muestra fue de 10 plantas por combinación de portainjertos y púas (origen y tipo). Los datos se analizaron con los paquetes estadísticos R 3.6.1 (The R Foundation, 2018) y SAS 9.4 (Statistical Analysis System Institute, 2013).

Los datos incremento de altura y diámetro se sometieron a un análisis de varianza y posterior prueba de comparación de medias de Tukey ( $P \leq 0.05$ ); para la primera variable solo se utilizaron las púas de brote terminal, y el diámetro se analizó en ambos tipos de púa. El número de brotes generados en las púas de las combinaciones se analizó con regresión Poisson.

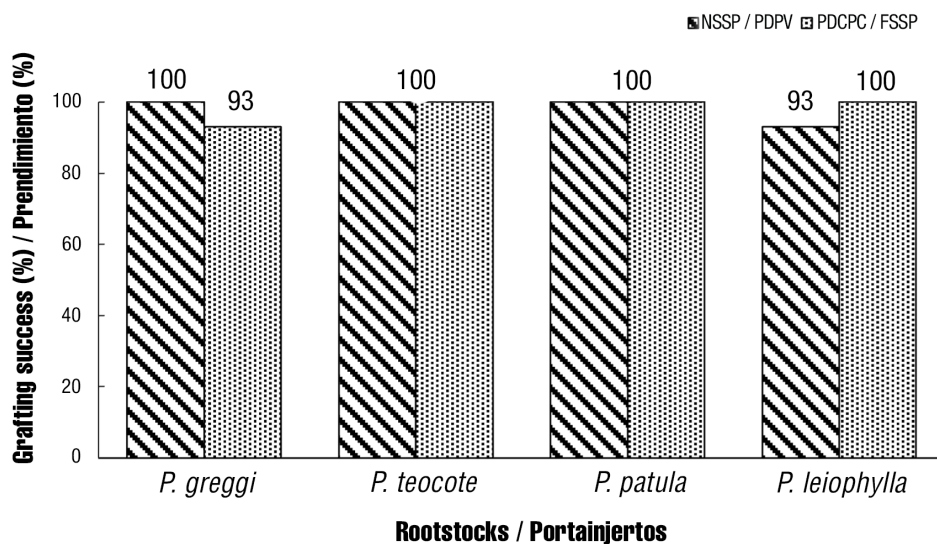


Figure 3. Grafting ( $n = 15$ ) using terminal budding of *Pinus greggii* var. *australis* on four rootstock species. NSSP: nursery scion stock plant; FSSP: field scion stock plant. Evaluation one month after grafting, May 2019.

Figura 3. Prendimiento de injertos ( $n = 15$ ) con brote terminal de *Pinus greggii* var. *australis* en cuatro especies de portainjertos. PDPV: planta donadora de púas de vivero; PDPC: planta donadora de púas de campo. Evaluación al mes de injertados, mayo 2019.

high grafting percentages; however, with the results of this study it is shown that such assumption may vary and that the pine species used have similar behavior to *Citrus* (Uribe-Bustamante, Curti-Díaz, Hernández-Guerra, & Ticante-Montero, 2013); *Persea* (Salazar-García, Medina-Torres, Ibarra-Estrada, & González-Valdivia, 2016) and *Prunus* (Gullo et al., 2014) that can be grafted onto other species.

Pine rootstocks in slow-growing species or cespitose state are regularly three to seven years old (Pérez-Luna et al., 2019) and fast-growing subtropical pine species are used from two years (Aparicio-Rentería et al., 2013). Plants of the mentioned ages are usually grafted in areas of higher lignification because this is mentioned in the methodologies, which can probably affect grafting. These ages are used because there is a lack of methodology to produce plants for grafting purposes and for these to have the minimum diameter and height measurements; however, with the results shown here, for fast-growing species, 15-month-old plants can be used.

In relation to the origin, the average grafting was 98 %, so either Nssp or Fssp with active growth can be used. The advantages of using Nssp are easy and fast harvesting and selection, since due to the height of the plants (1.5 m) it is not necessary to use persons, tree climbing equipment or transportation costs, as is the case with Fssp.

The Nssp scheme is used in fruit trees such as *Citrus* (Zamora-Rodríguez et al., 2016) and to obtain cuttings in pine species (Martínez-Alonso et al., 2012). In the present study, the management provided to Nssp such as pruning, fertilization and application of products against pathogens generated scions suitable for grafting.

Regarding the type of scion, the proposal proposed showed that the basal segment scions were suitable for grafting, having 100 % grafting success, which allowed the efficient use of the vegetative material of the selected trees. The average grafting success of both types of scions was 99 % (two grafts failed), possibly because the field scion was harvested one day before grafting and the Nssp scion may have been too tender. Grafting is regularly done with terminal bud scions, because those collected in the field are approximately 10 cm long, which makes the use of basal segments impossible; however, with the implementation of nursery stock plants, the scions reached lengths of up to 30 cm, so that up to three fractions of approximately 10 cm can be obtained: one with terminal bud and two basal segments, which means an advantage to obtain more scions.

## Resultados y discusión

### Prendimiento de injertos

Con el uso de portainjertos de 15 meses y púas de plantas donadora de vivero o recolectadas en campo, pero con crecimiento activo, se obtuvo más de 93 % de prendimiento (Figura 3). El prendimiento en los portainjertos fue de 100 % cuando se utilizó *P. teocote* y *P. patula*, mientras que con *P. greggii* y *P. leiophylla* fue de 96.5 % (Figura 3); Baron, Esteves Amaro, Pina, y Ferreira (2019) mencionan que es necesario utilizar la misma especie como portainjerto para obtener porcentajes altos de prendimiento; sin embargo, con los resultados del presente trabajo se demuestra que tal supuesto puede variar y que las especies de pino utilizadas tienen comportamiento similar a *Citrus* (Uribe-Bustamante, Curti-Díaz, Hernández-Guerra, & Ticante-Montero, 2013); *Persea* (Salazar-García, Medina-Torres, Ibarra-Estrada, & González-Valdivia, 2016) y *Prunus* (Gullo et al., 2014) que pueden injertarse en otras especies.

Los portainjertos de pino en especies con crecimiento lento o estado cespitoso tienen regularmente de tres a siete años (Pérez-Luna et al., 2019) y las especies de pinos subtropicales de crecimiento rápido se utilizan de dos años (Aparicio-Rentería et al., 2013). Las plantas de las edades mencionadas generalmente son injertadas en zonas de mayor lignificación, porque así lo mencionan las metodologías, lo cual probablemente puede afectar el proceso de prendimiento. Dichas edades se emplean debido a que se carece de metodología para producción de plantas con fines de injerto y para que estas tengan las medidas mínimas de diámetro y altura; no obstante, con los resultados aquí presentados, en especies de crecimiento rápido se pueden utilizar plantas de 15 meses.

Con relación al origen, el prendimiento promedio fue 98 %, por lo que se pueden utilizar PDPV o PDPC con crecimiento activo. Cabe resaltar las ventajas del uso de PDPV tales como la recolecta y selección que fueron fáciles y rápidas, ya que por la altura de las plantas (1.5 m) no es necesario utilizar personal, equipo para el escalado de árboles ni gastos de traslado, como sucede para las PDPC.

El esquema de PDPV se emplea en frutales como cítricos (Zamora-Rodríguez et al., 2016) y en la obtención de estacas en especies de pino (Martínez-Alonso et al., 2012). En el presente estudio, el manejo proporcionado a las PDPV como podas, fertilización y aplicación de productos contra agentes patógenos generó púas adecuadas para los injertos.

In the studies carried out in Mexico, grafting success is less than 50 % three months after grafting (Aparicio-Rentería et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019), due to the lack of early preparation of rootstocks and scions; in addition, post-grafting management is deficient. Aparicio-Rentería et al. (2013) remove plastic bags three months after grafting, enough time for the temperature and humidity conditions inside the bag to favor the proliferation of fungi, a possible cause of graft death. In the present study, the elimination of plastic bags begins the week after grafting and ends one month later. It should be mentioned that the percentage of grafting one year later remains the same; therefore, proper post-grafting management is important for survival regardless of the rootstock and scion (type and origin) used.

### Growth and height increase

One year after grafting, the height of grafts from NSSP increased 253.0, 300.0, 289.3 and 243.1 % and in FSSP increased 227.5, 216.0, 222.1 and 179.0 % in *P. greggii*, *P. teocote*, *P. patula* and *P. leiophylla* rootstocks, respectively (Figure 4). *Pinus leiophylla* produced lower growths, possibly because the species produced around 15 epicormic shoots, which involved competition for nutrients and carbohydrates. Scions from nursery stock plants showed higher growth than those in the field, which indicates that the nursery scheme is an excellent alternative to have scions with suitable characteristics

Respecto al tipo de púa, con la propuesta planteada se demuestra que las de segmento basal fueron aptas para injertarse, obteniendo 100 % de prendimiento, lo cual permitió el uso eficiente del material vegetativo de los árboles seleccionados. El prendimiento promedio de ambos tipos de púa fue de 99 % (dos injertos no prendidos), debido posiblemente a que la púa de campo se recolectó un día antes de injertarla y la de PDPV tal vez estaba demasiado tierna. Los injertos se hacen regularmente con púas de brote terminal, porque las recolectadas en campo tienen longitud de 10 cm aproximadamente, lo que hace imposible el uso de segmentos basales; sin embargo, con la implementación de plantas donadoras de vivero, las púas alcanzaron longitudes de hasta 30 cm, por lo que se pueden obtener hasta tres fracciones de 10 cm aproximadamente: una con brote terminal y dos segmentos basales, lo que significa una ventaja para obtener más púas.

En los trabajos realizados en México, el prendimiento en injertos de pino es inferior de 50 %, tres meses después de injertados (Aparicio-Rentería et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019), debido a que no existe preparación anticipada de portainjertos y púas; además, el manejo posinjerto es deficiente. Aparicio-Rentería et al. (2013) eliminan bolsas de plástico tres meses después de injertar, tiempo suficiente para que las condiciones de temperatura y humedad dentro de la bolsa propicien la proliferación de hongos, posible

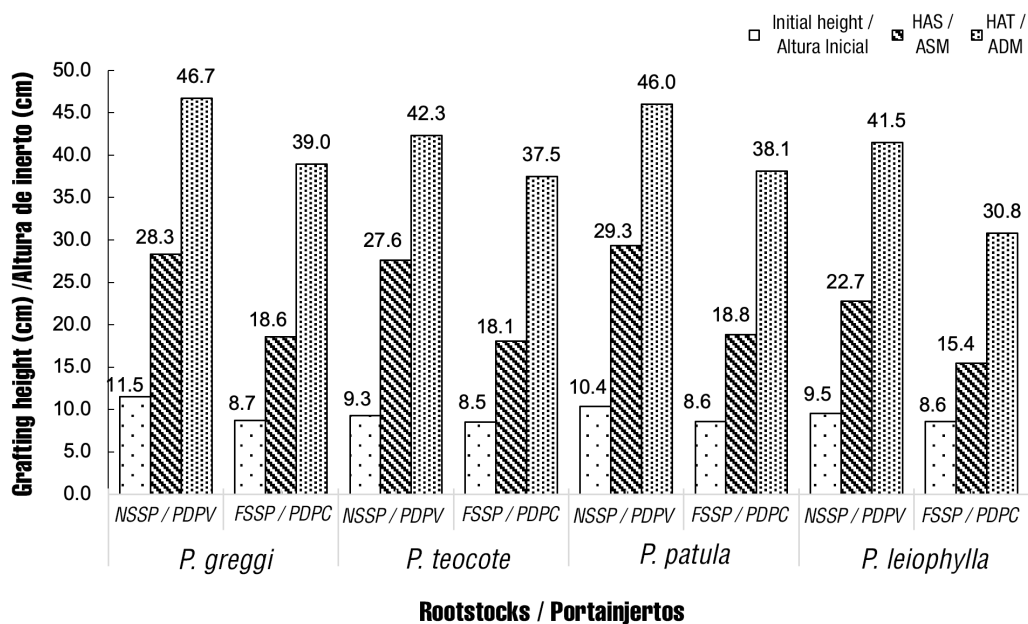


Figure 4. Average growth dynamics in grafting (n = 10) of *Pinus greggii* var. *australis* made in April 2019, using terminal shoot scions. NSSP: nursery scion stock plant, FSSP: field scion stock plant, HAS: height after six months (October 2019), ADM: height after 12 months (April 2020).

Figura 4. Dinámica de crecimiento promedio en injertos (n = 10) de *Pinus greggii* var. *australis* realizados en abril de 2019, utilizando púas de brote terminal. PDPV: planta donadora de púa en vivero, PDPC: planta donadora de púa en campo, ASM: altura a los seis meses (octubre 2019), ADM: altura a los 12 meses (abril 2020).



for grafting, obtained with management practices through pruning, fertilization, protection against pests and diseases. The results also indicate that it does not depend on the phenology of the species, because the pruning carried out forces the plants to sprout, as occurs in *Citrus* (Zamora-Rodríguez et al., 2016).

ANOVA showed significance for scion origin and rootstock ( $P < 0.0001$ ) in the six-month data; however, after 12 months only the scion origin factor ( $P = 0.0009$ ) was significant. The height increment for NSSP grafts six months later ranged from 13.2 to 19.0 cm, and for FSSP grafts from 6.8 to 10.4 cm. At 12 months, the increases were 32.0 to 35.7 cm and 22.2 to 30.2 cm in NSSP and FSSP grafting, respectively.

Regarding the mean tests of height increment, after six-month evaluation, NSSP grafting had the greatest increase; after 12 months, the averages for scion origin were 33.98 and 27.74 cm in NSSP and FSSP, respectively (Table 1).

On both evaluation dates, rootstocks with *P. leiophylla* had the lowest increments, regardless of scion origin, probably because the number of epicormic shoots emitted was a competition factor. In contrast, *P. patula* and *P. greggii* generated the greatest increases after 12 months of evaluation.

Rootstocks are a key element for grafting growth because they provide water and nutrients that can be

causa de la muerte de injertos. En el presente estudio, la eliminación de bolsas de plástico inicia la semana posterior a la realización de los injertos y finaliza un mes después. Cabe mencionar que el porcentaje de prendimiento un año más tarde sigue siendo el mismo; por tanto, el manejo posinjerto adecuado es importante para la sobrevivencia sin importar que portainjertos y púas (tipo y origen) se utilicen.

### Crecimiento e incremento en altura

Un año después de injertados, la altura de los injertos provenientes de PDPV aumentó 253.0, 300.0, 289.3 y 243.1 % y en las PDPC incrementó 227.5, 216.0, 222.1 y 179.0 % en los portainjertos de *P. greggii*, *P. teocote*, *P. patula* y *P. leiophylla*, respectivamente (Figura 4). *Pinus leiophylla* propició crecimientos menores, debido posiblemente a que la especie produjo alrededor de 15 brotes epicórmicos, lo que implicó competencia de nutrientes y carbohidratos.

Las púas de plantas donadoras de vivero presentaron mayor crecimiento que las de campo, lo cual indica que el esquema en espacio protegido es una excelente alternativa para tener púas con características adecuadas para el injerto, obtenidas con prácticas de manejo mediante podas, fertilizaciones, protección contra plagas y enfermedades. Los resultados también indican que no se depende de la fenología de la especie, porque las podas realizadas obligan a las plantas a brotar, tal como se hace en cítricos (Zamora-Rodríguez et al., 2016).

**Table 1. Height increment grafting with terminal shoot scions obtained from nursery stock plants (NSSP) and field stock plants (FSSP) of *Pinus greggii* var. *australis*, grafted on four rootstock species.**

**Cuadro 1. Incremento en altura de injertos con púas de brote terminal obtenidas de plantas donadoras de vivero (PDPV) y plantas donadoras de campo (PDPC) de *Pinus greggii* var. *australis*, injertadas en cuatro especies de portainjertos.**

Rootstock/Portainjerto	Scion origin/ Origen de púa	Increment (cm)/Incremento (cm)	
		6 months/6 meses (October 2019)/(octubre 2019)	12 months/12 meses (April 2020)/(abril 2020)
<i>P. greggii</i>	NSSP/PDPV	16.83 ab	35.22 a
	FSSP/PDPC	9.87 cd	30.26 ab
<i>P. teocote</i>	NSSP/PDPV	18.38 a	33.07 ab
	FSSP/PDPC	9.56 cd	28.95 ab
<i>P. patula</i>	NSSP/PDPV	18.95 a	35.65 a
	FSSP/PDPC	10.40 cd	29.52 ab
<i>P. leiophylla</i>	NSSP/PDPV	13.24 bc	32.00 ab
	FSSP/PDPC	6.88 d	22.26 b
CV (%)		22.12	26.05

Means with different letters in the same column indicate significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ;  $n = 10$ ). /

Medias con letras distintas en una misma columna indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ;  $n = 10$ ).

used. In fruit, horticultural and ornamental species, the production of rootstocks is an activity that is carried out so that the plant has sufficient reserves to provide nutrients and carbohydrates to the grafted scion. In the case of pines, the production of rootstocks has not been a priority to date, since plants produced for different purposes are used.

For pine species, scions from field trees are generally lignified and sometimes collected and grafted during periods when plants are dormant (Aparicio-Rentería et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019), which delays the grafting and growth processes and even causes the death of grafts. The results show that growth is greater with NSSP, which can shorten the time to planting, as long as climatic conditions such as the presence of rain and absence of frost allow it.

Martínez-Ballesta, Alcaraz-López, Muries, Mot-Cadenas, and Carvajal (2010) mentioned that vascular connection is fundamental for greater grafting growth. According to this, the results with NSSP could be due to the correct vascular connection, in addition to the nutrition provided with the objective of having scions with adequate characteristics for the activity. It should be noted that the practice of fertilization is little used in plants established under open-field conditions. On the other hand, Castro-Garibay, Villegas-Monter, and López-Upton (2017) mention that *P. teocote* has circular vascular cambium, making it a viable option to serve as rootstock, just like *P. leiophylla*; however, with the latter the lowest increases in height were reported, so, in addition to the anatomical characteristics of the species, there should be another factor affecting the growth of the combinations made.

#### Diameter and scion-rootstock ratio

The diameters of the scions generated by the stock plants in the nursery were homogeneous (2.8 to 3.1 cm) and none were discarded for use, in contrast to the 220 collected in the open field, of which about 80 were discarded because they did not meet the minimum required for grafting. This indicates that selection and experience of the person performing this activity are also important.

According to the ANOVA, the factors with a significant effect on scion diameter were rootstock ( $P < 0.0001$ ) and scion type ( $P < 0.0001$ ), while for rootstock diameter they were rootstock ( $P < 0.0001$ ), origin ( $P = 0.0009$ ) and the interaction origin\*scion ( $P = 0.0105$ ) after six months of evaluation. After 12 months, the factors rootstock, scion type and origin were significant for both diameters, and only the rootstock\*origin interaction ( $P = 0.0206$ ) was significant for scion diameter. The highest values of scion-rootstock ratio occurred in basal segment scions, regardless of origin.

El análisis de varianza mostró significancia para origen de púa y portainjerto ( $P < 0.0001$ ) en los datos de seis meses; sin embargo, a los 12 meses solo el factor origen de púa ( $P = 0.0009$ ) fue significativo. El incremento en altura de los injertos de PDPV, seis meses después, varió de 13.2 a 19.0 cm, y para los de PDPC de 6.8 a 10.4 cm. A los 12 meses, los incrementos fueron 32.0 a 35.7 cm y 22.2 a 30.2 cm en injertos de PDPV y PDPC, respectivamente.

Respecto a las pruebas de medias del incremento en altura, en la evaluación de seis meses, los injertos de PDPV tuvieron mayor incremento; para los 12 meses, los promedios para origen de púa fueron 33.98 y 27.74 cm en PDPV y PDPC respectivamente (Cuadro 1).

En ambas fechas de evaluación, los portainjertos con *P. leiophylla* obtuvieron los menores incrementos, sin importar el origen de la púa, debido probablemente a que la cantidad de brotes epicórmicos emitidos fue factor de competencia. En contraste, *P. patula* y *P. greggii* generaron los incrementos mayores a los 12 meses de evaluación.

Los portainjertos son pieza clave para el crecimiento del injerto, ya que este le proporcionará agua y nutrientes que puedan ser utilizados. En especies frutales, horticolas y ornamentales, la producción de portainjertos es una actividad que se realiza con el fin de que la planta tenga reservas suficientes para proporcionar nutrientes y carbohidratos a la púa injertada. En el caso de pinos, la producción de portainjertos hasta la fecha no ha sido prioritaria, ya que se utiliza planta producida para fines diferentes.

En especies de pino, las púas procedentes de árboles de campo son generalmente lignificadas y en ocasiones se recolectan e injertan en periodos donde las plantas están en letargo (Aparicio-Rentería et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019), lo cual atrasa los procesos de prendimiento y crecimiento e incluso causa la muerte de injertos. Los resultados demuestran que el crecimiento es mayor con PDPV, lo que puede acortar el plazo para plantación, siempre que las condiciones climáticas como la presencia de lluvia y ausencia de heladas lo permitan.

Martínez-Ballesta, Alcaraz-López, Muries, Mot-Cadenas, y Carvajal (2010) mencionan que la conexión vascular es fundamental para el mayor crecimiento de injertos. De acuerdo con esto, los resultados con las PDPV pudieron deberse a la conexión vascular correcta, además de la nutrición proporcionada con el objetivo de tener púas con características adecuadas a la actividad. Cabe resaltar que la práctica de fertilización es poco utilizada en plantas establecidas en campo. Por otra parte, Castro-Garibay, Villegas-Monter, y López-Upton (2017) mencionan que *P. teocote* presenta

After six months of evaluation, the largest scion and rootstock diameter was recorded for the combinations of *P. teocote* with basal segment scion from the open field (5.05 mm) and NSSP (5.40 mm), respectively. After 12 months, the combination of *P. patula* with basal

cámbium vascular circular, haciéndolo una opción viable para fungir como portainjerto, al igual que *P. leiophylla*; sin embargo, con esta última se obtuvieron los menores incrementos en altura, por lo que, además de las características anatómicas de la especie, debe

**Table 2. Diameters and scion-rootstock ratio of *Pinus greggii* var. *australis*, six (October 2019) and 12 months (April 2020) after grafting on four pine species.**

**Cuadro 2. Diámetros y relación injerto-portainjerto de *Pinus greggii* var. *australis*, seis (octubre 2019) y 12 meses (abril 2020) después de la injertación en cuatro especies de pino.**

Rootstock/ Portainjerto	Scion/Púa		Diameter 6 months (mm)/ Diámetro 6 meses (mm)				S-RS/ R-IP	Diameter 12 months (mm) /Diámetro 12 meses (mm)				S-RS/ R-IP
	Origin/Origen	Type/ Tipo	Scion/Púa		Rootstock/ Portainjerto			Scion/Púa		Rootstock/ Portainjerto		
<i>P. greggii</i>	NSSP/PDPV	TB/BT	3.97	bcd	4.75	bcdef	0.84	5.87	abcd	6.13	abcd	0.96
	FSSP/PDPC	BS/SB	4.46	abcd	5.02	abcd	0.89	5.90	abcd	6.42	abc	0.92
	NSSP/PDPV	TB/BT	4.10	abcd	4.88	abcde	0.84	5.28	bcdef	5.75	bcde	0.92
	FSSP/PDPC	BS/SB	3.96	bcd	4.50	cdfeg	0.88	5.25	bcdef	5.52	de	0.95
<i>P. teocote</i>	NSSP/PDPV	TB/BT	3.95	cd	5.13	ab	0.77	5.28	bcdef	6.08	abcd	0.87
	FSSP/PDPC	BS/SB	4.39	abcd	5.40	a	0.81	5.69	abcde	6.48	ab	0.88
	NSSP/PDPV	TB/BT	4.38	abcd	5.12	abc	0.86	5.06	def	6.15	abcd	0.82
	FSSP/ PDPC	BS/SB	5.05	a	5.14	ab	0.98	5.68	abcde	5.92	abcde	0.96
<i>P. patula</i>	NSSP/PDPV	TB/BT	4.27	abcd	5.07	abcd	0.84	5.96	abc	6.18	abcd	0.96
	FSSP/ PDPC	BS/SB	4.98	ab	5.20	ab	0.96	6.41	a	6.68	a	0.96
	NSSP/PDPV	TB/BT	4.20	abcd	4.88	abcde	0.86	5.31	bcdef	5.97	abcd	0.89
	FSSP/PDPC	BS/SB	4.83	abc	4.89	abcde	0.99	6.05	ab	6.10	abcd	0.99
<i>P. leiophylla</i>	NSSP/PDPV	TB/BT	3.55	d	4.38	efg	0.81	4.76	f	5.58	de	0.85
	FSSP/PDPC	BS/SB	3.77	d	4.49	defg	0.84	4.84	ef	5.65	cde	0.86
	NSSP/PDPV	TB/BT	3.85	cd	4.24	fg	0.91	4.70	f	5.14	e	0.91
	FSSP/PDPC	BS/SB	4.07	abcd	4.07	g	1.00	5.07	cdef	5.51	de	0.92
CV (%)			15.44		8.24			10.46		8.74		

Means with different letters in the same column indicate significant difference according to Tukey's test ( $P \leq 0.05$ ;  $n = 10$ ). S-RS: scion-rootstock ratio, NSSP: nursery scion stock plant, FSSP: field scion stock plant, TB: terminal bud, BS: basal segment.

Medias con letras distintas en una misma columna indican diferencia significativa de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P \leq 0.05$ ;  $n = 10$ ). R-IP: Relación injerto-portainjerto, PDPV: planta donadora de púa de vivero, PDPC: planta donadora de púa de campo, BT: brote terminal, SB: segmento basal.

segment scion from NSSP had the largest diameters for graft (6.41 mm) and rootstock (6.68) (Table 2). In fruit trees it is mentioned that rootstock vigor is positively related to plant diameter (Girardi, Mourão Filho, & Kluge, 2007), which suggests that *P. patula* can be classified as vigorous because it has the largest diameters 12 months after grafting.

The scion-rootstock ratio is an indicator of compatibility (Berdeja-Arbeu, Villegas-Monter, Ruiz-Posadas, Sahagún-Castellanos, & Colinas-León, 2010). In the case of *P. leiophylla*, although the diameters were smaller, the FSSP combination with basal segment scion had ratio 1, which indicates that growth is homogeneous and the same applies to some combinations with *P. teocote* and *P. patula* with values of 0.98 and 0.99, respectively. However, after 12 months, the results with *P. greggii* and *P. patula* are more attractive than with the rest of the combinations (Table 2). Baron et al. (2019) mention that taxonomic affinity is a requirement for grafting compatibility that may explain why all values are higher than 0.90 in the *P. greggii*/*P. greggii* combination after 12 months.

Differential diameter growth may be a symptom of incompatibility because physiological mechanisms are modified and trigger changes in height, diameter and crown size (Berdeja-Arbeu et al., 2010).

Aloni, Cohen, Karni, Aktas, and Edelstein (2010) refer to the accumulation of organic compounds at the graft union, which can cause proliferation of parenchymal tissue and increased stem diameter in both parts, which involves anatomical irregularities. Souza, Diniz, Neves, Alves, and Oliveira (2018) mention that the difference between diameters impairs the flow of photoassimilates and hydraulic conductivity that will be reflected in plant growth.

### Number of shoots

Only origin and type of scion had a significant effect on the number of shoots ( $P < 0.0001$ ). The highest number of shoots emitted was in basal segment scions, due to the loss of apical dominance, since the concentration of cytokinins increases (Tanaka, Takei, Kojima, Sakakibara, & Mori, 2006), and with this the proliferation and growth of axillary buds, the opposite case for terminal shoot scions. NSSP exceeded in number of shoots (4.4) to FSSP (2.40), which may be associated with the accumulation of organic compounds due to the management provided to NSSP (Figure 5).

Shoots can be used to shape the plant depending on the objective set. The scions produced by nursery plants showed a higher number of shoots compared to field plants, perhaps due to the handling provided to the stock plant, which could have led to a higher

existir otro factor que afecte el crecimiento de las combinaciones realizadas.

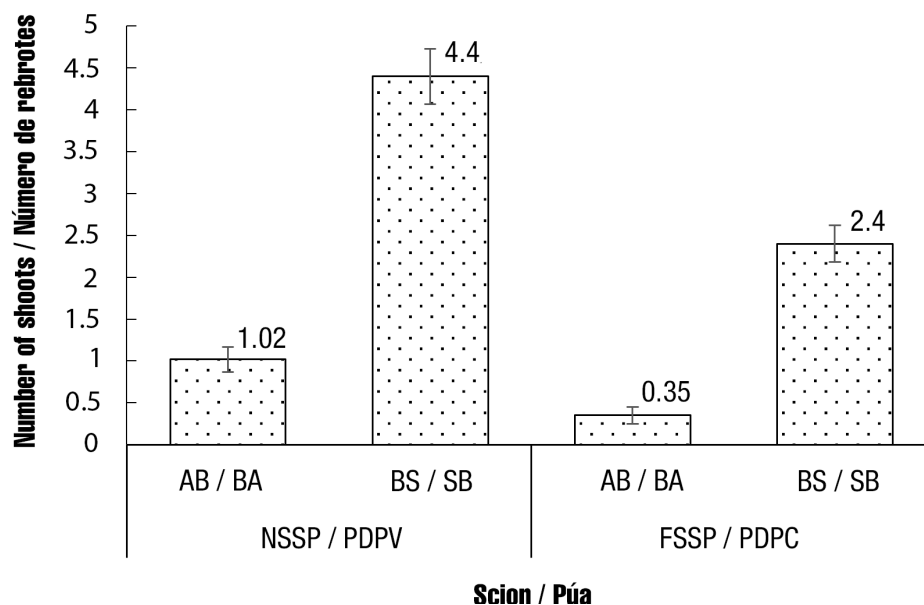
### Diámetro y relación injerto-portainjerto

Los diámetros de las púas generadas por las plantas donadoras en vivero fueron homogéneos (2.8 a 3.1 cm) y ninguna se descartó para su uso, en contraste con las 220 recolectadas en campo de las que se desecharon alrededor de 80, porque no cumplían con el mínimo requerido para injertarse. Esto indica que la selección y experiencia del que realiza esta actividad también son importantes.

De acuerdo con el análisis de varianza, los factores que tuvieron efecto significativo sobre el diámetro de púa fueron portainjerto ( $P < 0.0001$ ) y tipo de púa ( $P < 0.0001$ ), mientras que para el diámetro de portainjerto fueron portainjerto ( $P < 0.0001$ ), origen ( $P = 0.0009$ ) y la interacción origen\*púa ( $P = 0.0105$ ) a los seis meses de evaluación. A los 12 meses, los factores portainjerto, tipo de púa y origen fueron significativos para ambos diámetros, y solo la interacción portainjerto\*origen ( $P = 0.0206$ ) tuvo significancia para diámetro de púa. Los valores mayores de la relación injerto-portainjerto ocurrieron en las púas de segmento basal, sin importar su origen.

A los seis meses de evaluación, el mayor diámetro de injerto y portainjerto se obtuvo en las combinaciones de *P. teocote* con púa de segmento basal proveniente de campo (5.05 mm) y de PDPV (5.40 mm), respectivamente. A los 12 meses, la combinación de *P. patula* con púa de segmento basal proveniente de PDPV originó los mayores diámetros para injerto (6.41 mm) y portainjerto (6.68) (Cuadro 2). En frutales se menciona que el vigor del portainjerto está relacionado positivamente con el diámetro de la planta (Girardi, Mourão Filho, & Kluge, 2007), lo que sugiere que *P. patula* puede catalogarse como vigoroso por presentar los mayores diámetros 12 meses después de injertado.

La relación injerto-portainjerto es un indicador sobre la compatibilidad (Berdeja-Arbeu, Villegas-Monter, Ruiz-Posadas, Sahagún-Castellanos, & Colinas-León, 2010). En el caso de *P. leiophylla*, aunque los diámetros fueron menores, la combinación PDPC con púa de segmento basal tuvo relación 1, lo que indica que el crecimiento es homogéneo y lo mismo sucede para algunas combinaciones con *P. teocote* y *P. patula* con valores de 0.98 y 0.99, respectivamente. No obstante, a los 12 meses, los resultados con *P. greggii* y *P. patula* son más promisorios que con el resto de las combinaciones (Cuadro 2). Baron et al. (2019) mencionan que la afinidad taxonómica es un requisito para la compatibilidad de injertos eso puede explicar porque todos los valores son superiores a 0.90 en la combinación *P. greggii*/*P. greggii* a los 12 meses.



**Figure 5.** Lateral shoots produced in grafts of *Pinus greggii* var. *australis* on four rootstocks. NSSP: nursery scion stock plant, FSSP: field scion stock plant, BA: apical bud, SB: basal segment. Data collected three months after grafting (n = 10).

**Figura 5.** Brotes laterales producidos en injertos de *Pinus greggii* var. *australis* sobre cuatro portainjertos. PDPV: planta donadora de púas de vivero, PDPC: planta donadora de púas de campo, BA: brote apical, SB: segmento basal. Datos recabados tres meses después de realizados los injertos (n = 10).

concentration of organic compounds, contributing to sprouting. After evaluating the number, some shoots of the scions were removed, leaving two or three per plant to promote growth and thickening and to form the crown architecture.

*P. greggii* var. *australis* is endemic to Mexico; most research on this species has focused on provenance-progeny studies for selection (Ruíz-Farfán et al., 2015) and nursery plant production (Castro-Garibay, Aldrete, López-Upton, & Ordaz-Chaparro, 2018), but in relation to propagation by grafting there is a lack of information. In Mexico, for *P. patula* and *P. arizonica*, complicated grafting methodologies are used, in addition to poor pre- and post-grafting practices (Aparicio-Rentería et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019).

This study shows important contributions for grafting of *P. greggii* var. *australis* on other rootstock species because they are regularly used from the same species. In addition, the methodology is simple and can be adapted to other conifers because the implementation of NSSP has the following advantages: they are not exposed to field environmental conditions (dust, drought, pest or disease attack), they do not depend on the phenology of the species and there is greater control of fertilization and pathogens. On the other hand, by means of pruning, it is possible to provide grafting scions at least three times a year with characteristics of interest to the propagator, and those that do not yet have them are left on the stock plant and monitored until they reach the

El crecimiento diferenciado de diámetro puede ser síntoma de incompatibilidad, ya que los mecanismos fisiológicos se modifican y desencadenan cambios en altura, diámetro y tamaño de copa (Berdeja-Arbeu et al., 2010).

Aloni, Cohen, Karni, Aktas, y Edelstein (2010) hacen referencia a la acumulación de compuestos orgánicos en la unión del injerto, que pueden causar proliferación de tejido parenquimatoso y aumento de diámetro del tallo en ambas partes, lo cual implica irregularidades anatómicas. Souza, Diniz, Neves, Alves, y Oliveira (2018) mencionan que la diferencia entre los diámetros perjudica el flujo de fotoasimilados y la conductividad hidráulica que se verán reflejados en el crecimiento de la planta.

#### Número de brotes

Solo los factores origen y tipo de púa tuvieron efecto significativo en el número de brotes ( $P < 0.0001$ ). La mayor cantidad de brotes emitidos fue en las púas de segmento basal, debido a la pérdida de dominancia apical, ya que la concentración de citocininas aumenta (Tanaka, Takei, Kojima, Sakakibara, & Mori, 2006), y con esto la proliferación y crecimiento de las yemas axilares, caso contrario para las púas de brote terminal. Las PDPV superaron en cantidad de brotes (4.4) a las PDPC (2.40), lo cual puede estar asociado a la acumulación de compuestos orgánicos debido al manejo proporcionado a las PDPV (Figura 5).

required size; therefore, NSSP are an excellent option that should be promoted to make grafting propagation of pine species more efficient. Likewise, NSSP, being 1.5 m high, do not require qualified people to collect, there are no transportation costs, and it is not necessary to disinfect the rods before using them, since there is control over the incidence of pests and diseases in comparison with those collected from trees in the open field.

There is no established methodology for rootstock production in forest species. With the present proposal of transplanting five-month-old plants to 1 L pots, pruning roots, removing lateral shoots and making individual fertilizations, vigorous rootstocks are achieved with better roots and greater content of reserves that will be used by the scions when they are grafted; in addition, by programming the planting of species, there will be adequate plants and they can be used between March and May. Due to their growth, the species used as rootstocks were transplanted after five months; however, growth is different for cespitose and stone pine species, so it is necessary to determine methodologies for the production of rootstocks of these or similar species. The proposed methodology can be useful for propagating trees selected in the open field or from progeny trials that have been evaluated to generate stock plants in nurseries.

## Conclusions

Suitable rootstock production, the use of a scion stock plant and post-grafting management are key aspects to obtain success grafting of up to 100 %. The methodology developed for grafting *P. greggii* var. *australis* guarantees the efficient use of vegetative material, since scions with terminal bud and basal segment can be grafted, and higher grafting and growth percentages are reported. The rootstocks *P. greggii* var. *australis*, *P. teocote*, *P. patula* and *P. leiophylla* can be used in combination with *P. greggii* var. *australis* as scion; the use of each will depend on the objective.

## Acknowledgments

The authors thank the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) for the doctoral scholarship granted to the first author, which led to the present study.

End of English version

Los brotes pueden utilizarse para dar forma a la planta dependiendo del objetivo establecido. Las púas producidas por plantas en vivero presentaron mayor número de brotes en comparación con las de campo, debido quizá al manejo proporcionado a la planta donadora, lo que pudo propiciar mayor concentración de compuestos orgánicos, contribuyendo a la brotación. Después de evaluar el número, algunos brotes de las púas se eliminaron dejando dos o tres por planta para promover el crecimiento y engrosamiento de estos y formar la arquitectura de copa.

*P. greggii* var. *australis* es endémico de México; la mayoría de las investigaciones sobre la especie se han enfocado en estudios de procedencia-progenie para selección (Ruíz-Farfán et al., 2015) y producción de planta en vivero (Castro-Garibay, Aldrete, López-Upton, & Ordaz-Chaparro, 2018), pero con respecto a la propagación mediante injerto se carece de información. En México, en el caso de *P. patula* y *P. arizonica* se utilizan metodologías complicadas de injertación, además de prácticas pre y posinjerto deficientes (Aparicio-Rentería et al., 2013; Pérez-Luna et al., 2019).

Este trabajo presenta aportes importantes para realizar injertos de *P. greggii* var. *australis* sobre otras especies de portainjertos, ya que regularmente se utilizan de la misma especie. Además, la metodología es sencilla y puede adaptarse a otras coníferas, ya que con la implementación de PDPV se tienen las ventajas siguientes: no están expuestas a condiciones ambientales de campo (polvo, sequía, ataque de plagas o enfermedades), no se depende de la fenología de la especie y existe mayor control de la fertilización y patógenos. Por otra parte, mediante podas se pueden generar varetas para injertar por lo menos tres veces al año con características de interés para el propagador, y las que aún no las tengan se dejan en la planta donadora y monitorean hasta que alcancen las medidas requeridas; por tanto, las PDPV son una excelente opción que se debe impulsar para hacer más eficiente la propagación por injerto en especies de pino. Asimismo, las PDPV, al tener altura de 1.5 m, no requieren personal especializado para la recolecta, no hay gastos de traslado y tampoco es necesaria la desinfección de varetas antes de utilizarse, debido a que se tiene control sobre la incidencia de plagas y enfermedades en comparación con las recolectadas de árboles en campo.

En especies forestales no existe metodología establecida de producción de portainjertos. Con la presente propuesta de trasplantar plantas de cinco meses a macetas de 1 L, realizar podas de raíces, eliminar brotes laterales y hacer fertilizaciones individuales se logran portainjertos vigorosos con mejores raíces

## Referencias / Referencias

- Acosta-Pérez, J. A., Ortiz-García, C. F., Zaldivar-Cruz, J. M., Rodríguez-Cuevas, M., Bautista-Muñoz, C. C., & Castillo-Aguilar, C. de la C. (2012). Identificación del agente causal e importancia de la gomosis en la zona citrícola de Huimanguillo, Tabasco, México. *Universidad y Ciencia*, 23(3), 245–258. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S0186-29792012000300004&lng=es&nr m=iso](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0186-29792012000300004&lng=es&nr m=iso)
- Aloni, B., Cohen, R., Karni, L., Aktas, H., & Edelstein, M. (2010). Hormonal signaling in rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae*, 127(2), 119–126. doi: 10.1016/j.scienta.2010.09.003
- Aparicio-Rentería, A., Viveros-Viveros, H., & Rebolledo-Camacho, V. (2013). Huertos semilleros clonales: Una alternativa para los programas de reforestación en Veracruz. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 4(20), 90–97. doi: 10.29298/rmcf.v4i20.373
- Baron, D., Esteves Amaro, A. C., Pina, A., & Ferreira, G. (2019). An overview of grafting re-establishment in woody fruit species. *Scientia Horticulturae*, 243, 84–91. doi: 10.1016/j.scienta.2018.08.012
- Berdeja-Arbeu, R., Villegas-Monter, A., Ruiz-Posadas, L. M., Sahagún-Castellanos, J., & Colinas-León, M. T. (2010). Interacción lima persa-portainjertos. Efecto en características estomáticas de hoja y vigor de árboles. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 16(2), 91–97. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/rcsh/v16n2/v16n2a4.pdf>
- Castro, M., Fassio, C., Cautin, R., & Ampuero, J. (2015). UCV7, portainjerto de aguacate tolerante a salinidad. *Revista Fitotecnía Mexicana*, 38(1), 85–92. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-73802015000100011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802015000100011)
- Castro-Garibay, S. L., Aldrete, A., López-Upton, J., & Ordaz-Chaparro, V. M. (2018). Efecto del envase, sustrato y fertilización en el crecimiento de *Pinus greggii* var. *australis* en vivero. *Agrociencia*, 52(1), 115–127. Retrieved from <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v52n1/1405-3195-agro-52-01-115.pdf>
- Castro-Garibay, S. L., Villegas-Monter, A., & López-Upton, J. (2017). Anatomy of rootstocks and scions in four pine species. *Forest Research: Open Access*, 6(3), 1–6. doi: 10.4172/2168-9776.1000211
- Girardi, E. A., Mourão Filho, F. A. A., & Kluge, R. A. (2007). Effect of seed coat removal and controlled-release fertilizer application on plant emergence and vegetative growth of two citrus rootstocks. *Fruits*, 62(1), 13–19. doi: 10.1051/fruits:2006044
- Goldschmidt, E. E. (2014). Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science*, 25(5), R183-R188. doi: 10.3389/fpls.2014.00727

y mayor contenido de reservas que serán utilizadas por las varetas cuando son injertadas; además, al programar la siembra de especies se tendrán las plantas adecuadas y podrán utilizarse entre los meses de marzo a mayo. Cabe mencionar que por el crecimiento que presentan, las especies utilizadas como portainjertos se trasplantaron a los cinco meses; sin embargo, el crecimiento es diferente para especies cespitosas y piñoneras, por lo que hace falta determinar metodologías para la producción de portainjertos de estas especies o similares. La metodología planteada puede ser útil para propagar árboles seleccionados en campo o de ensayos de progenies que hayan sido evaluados para generar planta donadora en viveros.

## Conclusiones

La producción adecuada de portainjertos, el uso de planta donadora de púas y el manejo posinjerto son aspectos clave para obtener prendimiento de hasta 100 %. La metodología desarrollada para injertos de *P. greggii* var. *australis* garantiza el uso eficiente de material vegetativo, ya que se pueden injertar púas con brote terminal y segmento basal, y se obtienen porcentajes de prendimientos y crecimientos mayores. Los portainjertos *P. greggii* var. *australis*, *P. teocote*, *P. patula* y *P. leiophylla* pueden utilizarse en combinación con *P. greggii* var. *australis* como púa; el uso de cada uno de ellos dependerá del objetivo.

## Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca de doctorado otorgada a la primera autora, del cual se derivó el presente trabajo.

Fin de la versión en español

- Gullo, G., Motisi, A., Zappia, R., Dattola, A., Diamanti, J., & Mezzettii, B. (2014). Rootstock and fruit canopy position affect peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] (cv. Rich May) plant productivity and fruit sensorial and nutritional quality. *Food Chemistry*, 153, 234–242. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.12.056
- Korosi, G. A., Powell, K. S., Clingeffer, P. R., Smith, B., Walker, R. R., & Wood, J. (2011). New hybrid rootstock resistance screening for phylloxera under laboratory conditions. *Acta Horticulturae*, 904, 53–58. doi: 10.17660/actahortic.2011.904.7
- Loewe-Muñoz, V., Del Río, R., Delard, C., & Balzarini, M. (2021). Enhancing *Pinus pinea* cone production by grafting in a non-native habitat. *New Forest*, 53, 37–55. doi: 10.1007/s11056-021-09842-5
- Martínez-Alonso, C., Kidelman, A., Feito, I., Velasco, T., Alía, R., João G, M., & Majada, J. (2012). Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forest*, 43, 651–663. doi: 10.1007/s11056-012-9333-9
- Martínez-Ballesta, M. C., Alcaraz-López, C., Muries, B., Mot-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
- Mudge, K., Janick, J., Scofield, S., & Goldschmidt, E. E. (2009). A history of grafting. *Horticultural Reviews*, 53, 437–493. doi: 10.1002/9780470593776.ch9
- Pérez-Luna, A., Prieto-Ruiz, J. A., 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
- Ramírez-Herrera, C., Vargas-Hernández, J. J., & López-Upton, J. (2005). Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*. *Acta Botánica Mexicana*, 72, 1–16. doi: 10.21829/abm72.2005.997
- Ruiz-Farfán, D., López-Upton, J., Ramírez-Herrera, C., & Rodríguez-Trejo, D. A. (2015). Fenología reproductiva en un ensayo de progenies de *Pinus greggii* var. *australis*. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 38(3), 285–296. doi: 10.35196/rfm.2015.3.285
- Salazar-García, S., Medina-Torres, R., Ibarra-Estrada, M. E., & González-Valdivia, J. (2016). Influencia de portainjertos clonales sobre la concentración foliar de nutrimentos en aguacate ‘Hass’ cultivado sin riego. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 22(3), 161–175. doi: 10.5154/r.rchsh.2015.06.013
- Souza, L. S., Diniz, R. P., Neves, R. J., Alves, A. A. C., & Oliveira, E. J. (2018). Grafting as a strategy to increase owering of cassava. *Scientia Horticulturae*, 240, 544–551. doi: 10.1016/j.scienta.2018.06.070
- Statistical Analysis System Institute. (2013). SAS computer software v. 9.4. Cary, NC, USA: Author.
- Tanaka, M., Takei, K., Kojima, M., Sakakibara, H., & Mori, H. (2006). Auxin controls local cytokinin biosynthesis in nodal stem in apical dominance. *The Plant Journal*, 45(6), 1028–1036. doi: 10.1111/j.1365-313x.2006.02656.x
- The R Foundation. (2018). The R project for statistical computing 3.6.1. USA: Bell Laboratories.
- Uribe-Bustamante, A., Curti-Díaz, A. S., Hernández-Guerra, C., & Ticante-Montero, S. J. (2013). Calidad de naranja Valencia injertada en 20 portainjertos. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 19(1), 61–69. doi: 10.5154/r.rchsh.2011.08.043
- Velasco-Alvarado, M. J., Lobato-Ortiz, R., García-Zavala, J. J., Castro-Brindis, R., Cruz-Izquierdo, S., & Corona-Torres, T. (2019). Injertos interespecíficos entre *Solanum lycopersicum* L. y *S. habrochaites* Knapp & Spooner como alternativa para incrementar el rendimiento de fruto. *Agrociencia*, 53(7), 1029–1042. Retrieved from <https://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2019/oct-nov/art-7.pdf>
- Zamora-Rodríguez, V., Peña-Bárgaza, I., Hernández-Rodríguez, L., & Cueto-Rodríguez, J. L. (2016). Producción de material de propagación certificado de cítricos. *CitriFrut*, 33(2), 3–13. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/326479791\\_PRODUCION\\_DE\\_MATERIAL\\_DE\\_PROPAGACION\\_CERTIFICADO\\_DE\\_CITRICOS](https://www.researchgate.net/publication/326479791_PRODUCION_DE_MATERIAL_DE_PROPAGACION_CERTIFICADO_DE_CITRICOS)