



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO EN CIENCIAS FORESTALES

CLONACIÓN POR INJERTO DE
Pinus patula **SCHIEDE EX**
SCHLTDL. *et* CHAM.

BENITO GONZÁLEZ JIMÉNEZ

T E S I S
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO

2023



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

La presente tesis titulada: **Clonación por injerto de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham.** realizada por el estudiante: **Benito González Jiménez** bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS
CIENCIAS FORESTALES

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

DR. MARCOS JIMÉNEZ CASAS

ASESOR

DR. JAVIER LÓPEZ UPTON

ASESOR

DR. MIGUEL ÁNGEL LÓPEZ LÓPEZ

ASESOR

DR. RODRIGO RODRÍGUEZ LAGUNA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, México, marzo de 2023

CLONACIÓN POR INJERTO DE *Pinus patula* SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM.

Benito González Jiménez, D.C.
Colegio de Postgraduados, 2023

RESUMEN

El injerto es una técnica de propagación vegetativa utilizada para obtener clones de genotipos superiores en las especies de pino para el establecimiento de huertos semilleros asexuales dentro de programas de mejoramiento genético. El objetivo de este trabajo fue realizar ensayos relacionados con algunos factores que influyen en el prendimiento, crecimiento y supervivencia de injertos en *Pinus patula*; al igual que establecer injertos interespecíficos para determinar la compatibilidad de púas de éste con otras especies de pino y manejar plantas injertadas para su conversión a setos productores de estacas y púas para su propagación. Se realizaron cinco experimentos independientes con injertos de *P. patula*: 1) evaluación de tres técnicas de injerto (terminal, lateral e inglés simple) y tres longitudes de corte en la púa y patrón (1.5, 2.0 y 2.5 cm); 2) injertos recíprocos para evaluar la compatibilidad de las púas de cuatro genotipos superiores de *P. patula* (G105, G106, G114 y G115) injertadas en patrones de las mismas cuatro familias (F105, F106, F114 y F115); 3) injertos de cuatro genotipos de *P. patula* (G105, G106, G114 y G115) y planta no injertada se manejaron como plantas madre (setos) para evaluar la producción y morfología de brotes adventicios (estacas) así como su posterior enraizamiento; 4) para evaluar compatibilidad se injertaron púas de un genotipo de *P. patula* sobre patrones de siete especies de pino (*P. greggii* var. *australis*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. cembroides*, *P. ayacahuite*, *P. hartwegii* y *P. patula*); y finalmente 5) púas de *P. patula* obtenidas a partir de injertos de un clon manejados como plantas madre se injertaron en patrones de su misma especie y de *P. greggii* a tres diferentes alturas de injertado (5, 15 y 20 cm) para evaluar prendimiento, supervivencia y crecimiento del injerto. Los injertos vía terminal y lateral obtuvieron mejor prendimiento. El corte en la púa y patrón es viable en el rango de 1.5 a 2.5 cm -Capítulo I. La supervivencia del injerto resultó mejor con la púa G115 y la familia de patrón F105; pero cada genotipo de púa mostró afinidad preferencial por una familia de patrón diferente a la de su progenie -Capítulo II. Se logró el desarrollo de brotes adventicios de plantas madre injertadas y no injertadas; el genotipo influyó en la morfología de los brotes y el enraizamiento se presentó solo en brotes de planta no injertada -Capítulo III. Se logró el prendimiento en diferente grado sobre las especies de patrón utilizadas, excepto en *P. cembroides* y la supervivencia y crecimiento del injerto se favoreció en patrones de *P. teocote* y *P. greggii* que son filogenéticamente más cercanos a *P. patula* -Capítulo IV. Las púas de *P. patula* mostraron alta compatibilidad y mejor crecimiento con patrones de *P. greggii* y al injertar la púa más cerca del ápice del patrón el crecimiento se incrementó -Capítulo V.

Palabras clave: clonación de genotipos superiores, compatibilidad del injerto, establecimiento de huertos asexuales, injerto interespecífico, mejoramiento genético, plantas madre.

GRAFT CLONING OF *Pinus patula* SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM.

Benito González Jiménez, D.C.
Colegio de Postgraduados, 2023

ABSTRACT

Graft is the vegetative propagation technique used to obtain clones of superior genotypes in pine species for the establishing of asexual seed orchards in programs of genetic improvement. The aim of this work was to carry out tests related to some factors that influence the success, growth and survival of *Pinus patula* grafts, as well as establishing interspecific grafts to determine the compatibility scions this with other pine species, and manage grafted plants to generate hedges that allow the production of cuttings and scions to their propagation. Five independent experiments dealing with *P. patula* grafts were realized: 1) evaluation of three graft techniques (top cleft, side-veneer and splice) and three cutting lengths in the scion and rootstock (1.5, 2.0 and 2.5 cm); 2) reciprocal grafts to evaluate the scions compatibility from four superior genotypes (G105, G106, G114 and G115) grafted on rootstocks of the same four families (F105, F106, F114 and F115); 3) grafts of four *P. patula* genotypes (G105, G106, G114 and G115) and non-grafted plants were used as mother plants (hedges) to evaluate the production and morphology of adventitious sprouts (cuttings) and their subsequent rooting; 4) Scions of a *P. patula* genotype were grafted onto rootstocks of seven pine species (*P. greggii* var. *australis*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. cembroides*, *P. ayacahuite*, *P. hartwegii* and *P. patula*) to evaluate compatibility; and finally 5) *P. patula* scions obtained from the grafts of a clone managed as mother plants were grafted on rootstocks of either *P. patula* and *P. greggii* at three different grafting heights (5, 15 and 20 cm) to evaluate the success, survival and graft growth. Top cleft and side-veneer grafts had better success. The cut in the scion and rootstock is viable in the rank of 1.5 to 2.5 cm -Chapter I. The graft survival was better with the G115 scion and the F105 rootstock family; but each scion genotype showed affinity preferential for one rootstock family different from its own progeny -Chapter II. Development of adventitious sprouts was achieved from grafted and non-grafted mother plants: the genotype influenced the sprouts morphology and rooting was present only in sprouts from non-grafted plants -Chapter III. The success was achieved in different degrees on the rootstock species used, except on *P. cembroides*, the graft survival and growth were benefited by rootstocks of *P. teocote* and *P. greggii*, which are phylogenetically closer to *P. patula* -Chapter IV. *P. patula* scions showed high compatibility and better growth with *P. greggii* rootstocks, also when grafting the scion closer to the rootstocks tip the growth increased -Chapter V.

Key words: establishment of asexual orchards, genetic improvement, graft compatibility, interspecific graft, mother plants, superior genotype cloning.

AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, porque mediante el programa de becas para estudios de postgrado me permitió realizar con éxito mis estudios de doctorado.

Al **Colegio de Postgraduados**, por brindarme un espacio para realizar el doctorado y a sus profesores que fortalecieron mi formación académica. Al **Postgrado en Ciencias Forestales** y personas que lo integran por permitirme ser parte de esta familia forestal.

Al **Fondo Sectorial para la Investigación, el Desarrollo y la Innovación Tecnológica Forestal, CONAFOR-CONACYT**, a través del proyecto CONAFOR-2017-2-291322 “Establecimiento de huertos semilleros asexuales regionales y ensayos de progenie de *Pinus patula* para la valoración genética de los progenitores”.

Agradezco a los integrantes de mi **Consejo Particular** por su amistad, respaldo y asesoría:

Dr. Marcos Jiménez Casas, por permitirme realizar el doctorado bajo su dirección y que ha fortalecido mi desarrollo profesional, por su amistad, por fomentar mi iniciativa en el trabajo de investigación y su apoyo durante todas las etapas del doctorado, tratando siempre de hacer un buen equipo de trabajo.

Dr. Javier López Upton, quien, con su amplia experiencia en el sector forestal, mejoraron significativamente la calidad de este trabajo de investigación, así como por su paciencia y disponibilidad durante las asesorías.

Dr. Miguel Ángel López López, por su buen trato y disponibilidad de tiempo siempre que lo necesité, por sus aportaciones sustanciales y atinados comentarios durante la fase experimental y redacción de la tesis.

Dr. Rodrigo Rodríguez Laguna, por su confianza puesta en mí para resolver los obstáculos que representaba esta investigación e ir resolviendo los retos que se presentaban, por sus consejos y asesorías y siempre con un buen ánimo en su trato.

A los sinodales: **Dr. Aurelio Manuel Fierros González** y **Dra. Virginia Rebolledo Camacho**, por sus aportaciones finales para mejorar la Tesis.

DEDICATORIA

- ❖ *Especialmente a mi papá†.*
- ❖ *A Esther, por su apoyo incondicional.*
- ❖ *A mi mamá, por el regalo de la vida y siempre contar con su apoyo y palabras de ánimo.*
- ❖ *A mis hermanos Sandra y Juan Carlos, así como a mis sobrinos: Aranza, Sofía, Josué y Diego.*
- ❖ *A mis amigos de toda la vida y a los que se sumaron durante la etapa de doctorado, por los buenos momentos y convivencias.*

CONTENIDO

RESUMEN.....	iii
ABSTRACT.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
LISTA DE CUADROS	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
CAPÍTULO I. COMBINACIÓN DE TÉCNICAS DE INJERTACIÓN PARA CLONAR GENOTIPOS SUPERIORES DE <i>Pinus patula</i> SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM.....	5
1.1. RESUMEN.....	5
1.2. ABSTRACT.....	6
1.3. INTRODUCCIÓN	7
1.4. MATERIALES Y MÉTODOS	8
1.4.1. Tratamientos-Técnicas de injerto	10
1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
1.5.1. Efecto de la técnica de injerto	12
1.5.2. Efecto de la longitud de corte.....	16
1.5.3. Efecto de las interacciones entre factores.....	17
1.6. CONCLUSIONES	19
CAPÍTULO II. INFLUENCIA DEL GENOTIPO DE LA PÚA Y LA FAMILIA DEL PATRÓN SOBRE LA COMPATIBILIDAD DEL INJERTO DE <i>Pinus patula</i>.....	20
2.1. RESUMEN.....	20
2.2. ABSTRACT.....	21
2.3. INTRODUCCIÓN	22
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS	23
2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
2.5.1. Efecto del genotipo de la púa	27
2.5.2. Efecto de la familia del patrón.....	31
2.5.3. Interacción de los factores en la supervivencia	33

2.6. CONCLUSIONES	35
CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DEL GENOTIPO DE PLANTAS MADRE A PARTIR DE INJERTO DE <i>Pinus patula</i> PARA LA INDUCCIÓN DE BROTES Y RAÍCES ADVENTICIAS	36
3.1. RESUMEN.....	36
3.2. ABSTRACT.....	37
3.3. INTRODUCCIÓN	38
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS	40
3.4.1. Producción de planta madre	40
3.4.2. Inducción de brotes (estacas) por poda	41
3.4.3. Enraizamiento de estacas.....	42
3.4.4. Diseño experimental y análisis de datos.....	43
3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	44
3.5.1. Formación de brotes	45
3.5.2. Número de brotes	47
3.5.3. Longitud de brotes.....	48
3.5.4. Diámetro de brotes	49
3.5.5. Enraizamiento de brotes	51
3.6. CONCLUSIONES	53
CAPÍTULO IV. COMPATIBILIDAD DE PÚAS DE <i>Pinus patula</i> SCHIEDE EX SCHLTDL. <i>et</i> CHAM., INJERTADAS EN PATRONES DE SIETE ESPECIES DE PINO.....	54
4.1. RESUMEN.....	54
4.2. ABSTRACT.....	55
4.3. INTRODUCCIÓN	56
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS	57
4.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
4.5.1. Prendimiento y supervivencia	61
4.5.2. Crecimiento del injerto	65
4.5.3. Longitud de acículas.....	66
4.6. CONCLUSIONES	68

CAPÍTULO V. INJERTOS INTERESPECÍFICOS DE <i>Pinus patula</i> SOBRE PATRONES DE <i>Pinus greggii</i> A TRES ALTURAS DE INJERTADO	69
5.1. RESUMEN.....	69
5.2. ABSTRACT.....	70
5.3. INTRODUCCIÓN	71
5.4. MATERIALES Y MÉTODOS	73
5.4.1. Producción de plantas madre.....	73
5.4.2. Poda de plantas madre y desarrollo de brotes adventicios	74
5.4.3. Segundo ciclo de injerto	75
5.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	77
5.5.1. Factor especies de patrón.....	78
5.5.2. Factor altura de injertado en el patrón.....	84
5.6. CONCLUSIONES	88
DISCUSIÓN GENERAL	89
CONCLUSIONES GENERALES.....	94
LITERATURA CITADA	95

LISTA DE CUADROS

- Cuadro 1.1.** Análisis de varianza y prueba de medias (\pm error estándar) de las variables prendimiento, crecimiento en longitud (cm) y desarrollo de acículas, para los factores técnica de injerto (TI), longitud de corte (LC) e interacción (TI x LC) en injertos de *P. patula*. 13
- Cuadro 2.1.** Características de los cuatro genotipos superiores de *Pinus patula* seleccionados como donadores de púas y su progenie para planta patrón, de un ensayo de progenie (G105 y G106) y un huerto semillero (G114 y G115) ubicados en Chignahuapan, Puebla..... 24
- Cuadro 2.2.** Valores de p del análisis de varianza de las variables evaluadas en la compatibilidad de las púas de cuatro genotipos superiores, injertadas en patrones de las mismas cuatro familias de *Pinus patula*. 27
- Cuadro 2.3.** Valores medios y error estándar (\pm) del análisis de compatibilidad de las púas de cuatro genotipos superiores injertadas en patrones de las mismas cuatro familias de *Pinus patula*. 28
- Cuadro 2.4.** Interacción entre el genotipo de púa y la familia del patrón sobre la supervivencia del injerto de *Pinus patula* a los 12 meses. 34
- Cuadro 3.1.** Valores de significancia generados en el análisis de varianza del porcentaje de plantas madre que formaron brotes a las 7 y 16 semanas, número de brotes promedio por planta y tamaño de los brotes [longitud (cm) y diámetro (mm)] a la semana 16 en las plantas madre de *Pinus patula* podadas y sujetas a los tratamientos establecidos. 44
- Cuadro 3.2.** Valores medios y error estándar (\pm) del porcentaje de plantas madre que formaron brotes a las 7 y 16 semanas, número de brotes por planta y tamaño de los brotes [longitud (cm) y diámetro (mm)] en las plantas madre de *Pinus patula* podadas y sujetas a los tratamientos establecidos. 45

Cuadro 3.3. Valores medios y error estándar (\pm) de los porcentajes de supervivencia y enraizamiento de los brotes para los tratamientos evaluados en el experimento de enraizamiento de estacas obtenidas de plantas madre de <i>Pinus patula</i>	51
Cuadro 4.1. Procedencia, edad y características morfológicas de las especies de pino utilizadas como plantas patrón en injertos interespecíficos de <i>Pinus patula</i>	58
Cuadro 4.2. Valores de significancia de los resultados del análisis de varianza en el experimento de púas de <i>Pinus patula</i> injertadas en patrones de siete diferentes especies de pino, evaluando el prendimiento a los 30 días, supervivencia a los ocho meses, la elongación del brote y longitud de acículas a los seis meses después del injertado.....	61
Cuadro 4.3. Valores medios y error estándar (\pm) de los tratamientos probados en el experimento de púas de <i>Pinus patula</i> injertadas en patrones de siete diferentes especies de pino, evaluando el prendimiento a los 30 días, supervivencia a los ocho meses y crecimiento en longitud y longitud de acículas a los seis meses después del injertado.....	62
Cuadro 5.1. Valores de significancia para las variables respuesta evaluadas, en diferentes especies de patrón y alturas de injertado con púas a partir de plantas madre de <i>P. patula</i>	78
Cuadro 5.2. Valores medios y error estándar (\pm) para las variables respuesta evaluadas, en diferentes especies de patrón y alturas de injertado con púas a partir de plantas madre.....	79

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.1.** Características del material vegetal de *Pinus patula* usado y técnicas de injerto evaluadas en el experimento. A: árboles donadores de púas; B: planta patrón; C: púas; D: injerto terminal; E: injerto lateral; F: injerto inglés simple. Las flechas indican el lugar de los cortes en cada técnica de injerto..... 9
- Figura 1.2.** Establecimiento del experimento y prendimiento de los injertos de *Pinus patula*. A: injertos cubiertos con bolsas de plástico para evitar la deshidratación; B, C, D: prendimiento de injerto terminal, lateral e inglés simple, respectivamente, a los 60 días; E, F, G: callo formado en injerto terminal, lateral e inglés simple a los 90 días. 17
- Figura 1.3.** Medias del crecimiento en longitud del injerto (\pm error estándar) de *Pinus patula* y valores de p para la combinación de cada nivel del factor técnica de injerto (TI): terminal (T), lateral (L) e inglés (I); con cada nivel del factor de longitud de corte (LC): 1.5, 2.0 y 2.5 cm. Letras diferentes indican diferencias significativas con Tukey ($p \leq 0.05$). 18
- Figura 2.1.** Árboles seleccionados de *Pinus patula* y desarrollo del injerto. A: genotipos superiores de *Pinus patula* seleccionados como donadores de yemas (púas) y semilla (planta patrón); B: desarrollo de la púa injertada en los primeros cinco meses..... 25
- Figura 2.2.** Porcentaje de supervivencia del injerto de *P. patula* del mes 2 al 12 de injertado. A: supervivencia del factor genotipo de púa; B: supervivencia del factor familia del patrón..... 29
- Figura 3.1.** Producción y enraizamiento de brotes a partir de plantas madre de *P. patula*. A: brotes de plantas madre a partir de injertos; B: brotes de plántula no injertada; C: cámaras de enraizamiento; D y E: callo de brotes a partir de injerto; F y G: enraizamiento y aclimatación de brotes de planta no injertada..... 42
- Figura 3.2.** Número total de brotes por tratamiento producidos entre la semana siete (S7) y la 16 (S16) después de la poda; cada tratamiento constituido por 30 plantas

madre de *Pinus patula*. Plantas injertadas: T1 (G105), T2 (G106), T3 (G114), T4 (G115) y T5 (plantas no injertadas)..... 47

Figura 3.3. Fenología de la formación de brotes adventicios a partir de injertos manejados como plantas madre de *P. patula*. A: poda de la planta madre; B: semana 2-6 con abultamiento en la base de algunos fascículos cercanos al área de poda; C: semana siete, inicio de la brotación; D-G: semana 8-14 crecimiento en longitud de los brotes y desarrollo de hojas primarias; H-J: semana 15-16 redujeron crecimiento e iniciaron desarrollo de hojas secundarias (acículas unidas al fascículo)..... 50

Figura 4.1. Injertos interespecíficos de *Pinus patula*. A: árbol donador de púas de *Pinus patula* G40; B: yemas utilizadas como púas para los injertos; injertos sobre patrones de diferentes especies del género *Pinus*: C: *P. patula*; D: *P. greggii*; E: *P. teocote*; F: *P. pseudostrobus*; G: *P. cembroides*; H: *P. ayacahuite*; I: *P. hartwegii*. 59

Figura 4.2. Injertos interespecíficos prendidos de ocho meses después de haber injertado púas de *Pinus patula* sobre siete diferentes especies del género *Pinus*. A: *P. patula*; B: *P. greggii*; C: *P. teocote*; D: *P. pseudostrobus*; E: *P. ayacahuite*; F: *P. hartwegii*. 67

Figura 5.1. Plantas madre para la producción de brotes adventicios utilizados como púas en injertos interespecíficos de *Pinus patula* sobre patrones de *Pinus greggii*. A: poda de plantas madre de *P. patula*; B: formación de brotes adventicios; C: planta patrón de *P. patula* y *P. greggii*; D: brotes utilizados como púas; E: acoplamiento púa-patrón en injerto de hendidura; F: púas injertadas a tres diferentes alturas de la base del tallo del patrón (5, 15 y 20 cm)..... 74

Figura 5.2. Injertos de púas a partir de plantas madre de *Pinus patula* injertadas en patrones de *P. patula* y *Pinus greggii*. A: formación de acículas a tres semanas del injertado; B: cicatrización entre la púa y el patrón a dos meses del injertado; C y D: prendimiento de injerto sobre patrones de *P. patula* y *P. greggii*, respectivamente a los dos meses del injertado (el punto rojo es el punto de

unión); E, F y G: injertos de 10 meses sobre *P. patula* injertados a 20, 15 y 5 cm de la base del tallo del patrón, respectivamente; H, I y J: injertos de 10 meses sobre *P. greggii* injertados a 20, 15 y 5 cm de la base del tallo del patrón, respectivamente. 76

INTRODUCCIÓN GENERAL

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie nativa de México de gran importancia económica por su rápido crecimiento, calidad de madera y fácil manejo, por lo que es una especie exitosa en plantaciones establecidas en regiones subtropicales (Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016). Esta especie llega a tener incrementos de 10 a 25 m³ / ha/año dependiendo si crece por regeneración natural o en plantaciones, así como de la edad, densidad e índice de sitio (Morales *et al.*, 2013; Ramírez-Martínez *et al.*, 2020). En Zacualpan, Veracruz se ha reportado una productividad en plantación de 17.9 m³ / ha/año (Parra-Piedra *et al.*, 2017). En África, algunos países de Sudamérica, Nueva Zelanda y Australia se han establecido plantaciones de *P. patula* con éxito (Morales *et al.*, 2013; Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016). En Sudáfrica, aproximadamente el 50% de la superficie plantada ha sido con *P. patula* (Mitchell *et al.*, 2012); y en México se han establecido cerca de 10,000 ha como plantación forestal comercial principalmente en el estado de Veracruz.

Debido a la importancia de esta especie, existe el interés creciente en México y otros países en establecer programas de mejoramiento genético que contemplan el establecimiento de huertos semilleros (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013). Estos son plantaciones especiales a partir de árboles fenotípicamente superiores establecidos con la finalidad de obtener semilla genéticamente mejorada para producir plantas de calidad que se requieren en programas de reforestación y plantaciones comerciales con mayor productividad y adaptadas a su ambiente (Muñoz-Gutiérrez *et al.*, 2017). Los huertos semilleros pueden ser sexuales (por semilla) o asexuales (por clones) de árboles seleccionados por sobresalir en características deseables (White, 2007). En México, se estableció el primer huerto semillero asexual de *P. patula* en 2003 en el municipio de Aquixtla, Puebla y a partir de este, se han establecido otros siete más, distribuidos en diferentes regiones de Puebla y Veracruz (Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016; Méndez-Neri *et al.*, 2020). Recientemente se establecieron cuatro huertos semilleros asexuales por medio del Fondo Sectorial CONAFOR-CONACYT proyecto 2017-2-291322 en los estados de Hidalgo, Oaxaca, Veracruz y Puebla (González-Jiménez *et al.*, 2022).

La técnica de injerto desde hace casi medio siglo se ha aplicado en coníferas para obtener los clones utilizados en el establecimiento de huertos semilleros asexuales (McKeand *et al.*, 2003; Pérez-Luna *et al.*, 2020a). Esta técnica permite multiplicar íntegramente características genéticas

de árboles superiores maduros con baja capacidad de desarrollo de raíces adventicias (Hartmann *et al.*, 2014). El injerto es la unión de dos entidades genéticas de origen diferente que influyen una en la otra y cada una de ellas mantiene su propia identidad genética continuando su crecimiento a través del ciclo de vida de la nueva planta (Darikova *et al.*, 2011). El injerto consta de dos partes: 1) La púa que es el genotipo que se desea clonar y representará la parte aérea encargada de las actividades de fotosíntesis y transpiración requeridas por la planta; 2) El patrón o portainjerto que aporta el sistema de raíces encargado de dar soporte, anclaje y proporcionar agua y nutrimentos a la púa injertada (Pérez-Luna *et al.*, 2020a).

Las partes del injerto (púa y patrón) pueden ser de la misma especie y variedad (intraespecíficos) o de diferente (interespecíficos) (Pérez-Luna *et al.*, 2020b). Generalmente, los injertos intraespecíficos tienen mayor compatibilidad debido a las similitudes anatómicas, fisiológicas y bioquímicas entre las partes del injerto, por lo tanto, al usar plantas de la misma especie se espera que la tasa de prendimiento del injerto sea más alta, por ello son los que principalmente se realizan (Goldschmidt, 2014; Castro-Garibay *et al.*, 2017). Sin embargo, se han obtenido resultados variables en injertos interespecíficos de compatibilidad alta, media y baja dependiendo de la combinación de especies que se haga (Melnik, 2017). Los injertos interespecíficos en algunos casos pueden incrementar la productividad, capacidad de adaptación a ambientes diferentes, resistencia a plagas, enfermedades y estrés por factores abióticos (sequía, salinidad, exceso o déficit hídrico), acelerar o aumentar la fructificación, mejorar la compatibilidad del injerto, propagación de especies con problemas de germinación o para mantener un tamaño más pequeño que favorezca la cosecha de conos en huertos semilleros asexuales (Castro-Garibay *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2019; Solorio-Barragán *et al.*, 2021). En México existe gran potencial en injertos interespecíficos para buscar combinaciones favorables y mejorar la compatibilidad entre especies del género *Pinus*, ya que se distribuyen 49 (40%) de las aproximadamente 120 especies en el mundo (Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014).

Aunque se ha logrado la propagación por medio de injerto en diversas especies del género *Pinus*, actualmente siguen existiendo problemas de bajo prendimiento (generalmente menos de 50%), a causa de diversos factores: anatomía interna, sanidad, afinidad taxonómica y genética púa-patrón, fenología de la yema, edad del patrón, técnica de injerto, longitud de corte en la púa y patrón, altura de injertado, condiciones ambientales, manejo y habilidad del injertador (Castro-

Garibay *et al.*, 2017; Pérez-Luna *et al.*, 2019; González-Jiménez *et al.*, 2022). Por ello, es necesario continuar con investigaciones enfocadas a aumentar el porcentaje de prendimiento y supervivencia en injertos de *P. patula* para obtener clones de genotipos superiores en huertos semilleros asexuales requeridos en diferentes zonas del país.

Por otro lado, además del establecimiento de huertos semilleros asexuales, los injertos pueden ser utilizados o manejados como plantas madre por medio de podas recurrentes para producir material vegetal con mejores características juveniles y ser utilizados en siguientes ciclos de propagación (Martínez-Alonso *et al.*, 2012; Riov *et al.*, 2020). Los brotes adventicios generados de plantas madre llegan a utilizarse como estacas para enraizamiento, púas para siguientes ciclos de injerto o explantes para cultivo *in vitro* (Read y Bavougian, 2013). El uso de plantas madre permite: 1) mantener características juveniles en los rebrotes; 2) facilitar el manejo y recolecta de los rebrotes; 3) programar podas; 4) evita ir al sitio original del árbol para reducir gastos; 5) controlar la nutrición de la planta; 6) utilizar poco espacio en vivero y mantener material vegetal sano (Rezende *et al.*, 2014; Sodr e y Gomes, 2019). Sin embargo, se desconoce la respuesta de las plantas injertadas manejadas como plantas madre para multiplicar genotipos deseables de *P. patula* ya que la mayoría de los estudios se han enfocado en el manejo de plantas madre originadas a partir de semilla (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022).

El objetivo del estudio es generar información acerca de algunos factores que influyen en el éxito o fracaso del prendimiento y supervivencia en injertos de *P. patula* como: la técnica, longitud de corte, altura de injertado, compatibilidad al injertar púas y patrones de *P. patula* entre parientes cercanos genéticamente y la compatibilidad en injertos interespecíficos con púas de *P. patula* sobre patrones de otras especies de pino; así como la respuesta de injertos al ser manejados como plantas madre para producción de brotes adventicios. Para organizar la información generada se abordan cinco objetivos particulares cuyos resultados se desglosan en cinco capítulos.

En el capítulo I se evaluó la técnica y longitud de corte más viable para injertos de *P. patula*. En el capítulo II se estimó la compatibilidad de injertos intraespecíficos realizados entre parientes cercanos genéticamente (p a-patrón) con no emparentados en función del genotipo de púa y familia de patrón. En el capítulo III se generó información acerca del efecto del injerto y genotipo en la inducción y desarrollo de brotes adventicios a partir de plantas madre de *P. patula* y su posterior enraizamiento. En el capítulo IV se evaluó la afinidad de injertos entre púas de *P.*

patula sobre patrones de siete diferentes especies de pino. Finalmente, en el capítulo V se describe la respuesta en la compatibilidad del injerto entre púas de *P. patula* obtenidas a partir de plantas madre sobre patrones de *Pinus greggii* a tres alturas de injertado.

CAPÍTULO I. COMBINACIÓN DE TÉCNICAS DE INJERTACIÓN PARA CLONAR GENOTIPOS SUPERIORES DE *Pinus patula* SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM.

1.1. RESUMEN

Los injertos en especies de pino se utilizan para el establecimiento de huertos semilleros asexuales. Generalmente se obtienen bajo prendimiento, por lo que requiere estudiarse los factores que influyen en su éxito. Como la técnica y la superficie de contacto del cambium, que depende de la longitud de corte en la púa y el patrón. El objetivo del estudio fue evaluar el prendimiento, crecimiento y desarrollo de acículas en injertos de *Pinus patula* en función de la técnica y longitud de corte. Se espera que alguna combinación entre la técnica y el corte específico defina el éxito del injerto. Se aplicó la técnica de injerto terminal, lateral e inglés simple, así como tres longitudes de corte (1.5, 2.0 y 2.5 cm) en un diseño completamente al azar con un arreglo factorial. Los datos se analizaron con análisis de varianza y las medias de los tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). A los 60 días de injertar, la técnica de injerto tuvo efecto en el prendimiento, presentando el valor más alto el injerto terminal (80%) sin diferencia estadística con el lateral (73.3%), pero sí entre el terminal y el inglés (56.7%, $p \leq 0.05$). No se presentaron diferencias entre las tres longitudes de corte para ninguna de las tres variables evaluadas. El efecto de interacción mostró que los injertos terminal y lateral con una longitud de corte de 1.5 cm expresaron el mayor crecimiento (32.4 y 32.2 mm, respectivamente), seguido del injerto lateral con una longitud de corte de 2.0 cm (30.4 mm). El estudio demostró que las técnicas más viables para aumentar el prendimiento del injerto en *P. patula*, es terminal y lateral. El corte en la púa y patrón puede considerarse en el rango de 1.5 a 2.5 cm.

Palabras clave: huertos semilleros, planta patrón, prendimiento del injerto, propagación vegetativa, púa.

**COMBINATION OF GRAFTING TECHNIQUES TO CLONE SUPERIOR
GENOTYPES OF *Pinus patula* SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM.**

1.2. ABSTRACT

Grafting in pine species is used to establish asexual seed orchards. Generally, grafting success is low, therefore, it is required to study the influencing factors. Such as the technique and the contact surface of the cambium that depends on the length of the cut on the scion and the rootstock. The objective of this study was to evaluate graft success, growth, and needle development on *Pinus patula* grafts as functions of the grafting technique and cutting length. It was expected that a specific combination of technique and cutting length would allow predicting the graft success. The techniques of top cleft, side-veneer and splice grafting were used with three cutting lengths (1.5, 2.0 and 2.5 cm) in a completely randomized design with factorial array. The data were analyzed with an analysis of variance and treatment means were compared with the Tukey test ($p \leq 0.05$). Sixty days after grafting, technique influenced success; top cleft grafting had the highest value (80%) but was not statistically different from side veneer grafting (73.3%). There was, however, statistical difference between top cleft and splice grafting (56.7%, $p \leq 0.05$). There were no differences among the three cutting lengths in terms of the three variables evaluated. The effect of the interaction showed that top cleft and side veneer grafts with the cutting length of 1.5 cm expressed the greatest growth (32.4 and 32.2 mm, respectively); followed by side veneer grafting with the cutting length of 2.0 cm (30.4 mm). The study demonstrated that the most viable techniques to increase grafting success in *P. patula* are the top cleft and side veneer techniques. Cutting length of the scion and the rootstock can be set within the range 1.5 to 2.5 cm

Keywords: graft success, rootstock, seed orchards, scion, vegetative propagation.

1.3. INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es una especie nativa de México de gran importancia económica por su alto potencial productivo, lo que la ha llevado a ser sujeta de programas de mejoramiento genético (Flores *et al.*, 2019), que incluyen el establecimiento de huertos semilleros asexuales (HSA) para mantener un abasto sostenido de semillas de alta calidad genética dirigidas a plantaciones de alto rendimiento (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013; Hernández *et al.*, 2016).

Los HSA en el género *Pinus* son establecidos a partir de la clonación de árboles superiores por medio de injerto desde hace casi medio siglo (McKeand *et al.*, 2003). Esta técnica permite multiplicar íntegramente las características genotípicas de árboles superiores maduros que presentan baja o nula capacidad de desarrollo de raíces adventicias (Hartmann *et al.*, 2014).

Sin embargo, aunque se ha logrado la propagación por medio de injerto en diversas especies de pino, actualmente siguen existiendo problemas de bajo prendimiento, a causa de diversos factores: anatomía interna, sanidad, afinidad taxonómica y genética púa-patrón, fenología de la yema, edad del patrón, técnica de injerto, condiciones ambientales, manejo y habilidad del injertador (Pérez-Luna *et al.*, 2019; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

Las técnicas de injertos más utilizadas en especies de coníferas son el injerto terminal y el lateral (Muñoz *et al.*, 2013). Recientemente se han aplicado estas técnicas en especies mexicanas: *Pinus engelmannii* Carr. (Pérez-Luna *et al.*, 2019), *Pinus rzedowskii* Madrigal & M. Caball. (Solorio-Barragán *et al.*, 2021) y *Pinus pseudostrobus* (Mirov) Harrison var. *oaxacana* (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020); particularmente en *P. patula* se ha documentado la aplicación de injertos laterales con el 29% de supervivencia (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013), por su parte Villaseñor y Carrera (1980) evaluaron las dos técnicas, favoreciendo el injerto terminal con 63% de prendimiento.

El injerto inglés simple, ha sido poco aplicado en coníferas a pesar de que su ejecución es sencilla y rápida. Esta técnica solamente requiere un corte inclinado con igual longitud y ángulo en la púa y el patrón, por lo que es uno de los métodos más utilizados en la horticultura, con alto porcentaje de prendimiento (Pardo-Alonso *et al.*, 2020).

La anatomía interna de la púa y el patrón es otro aspecto a considerar en el prendimiento del injerto, particularmente, la superficie de contacto del cambium entre el patrón y la púa es clave en el proceso de unión del injerto, por su capacidad de formación y diferenciación celular en la reconexión de los tejidos vasculares (Castro-Garibay *et al.*, 2017).

Pardo-Alonso *et al.* (2019) señalaron que además de injertar tallos (púa-patrón) con diámetro similar debe considerarse el área de superficie de corte y ángulo. Bajo esta premisa puede esperarse que cuanto más largo sea el corte, mayor será la superficie en contacto y el éxito del injerto. Se han sugerido diversas longitudes, limitadas por el diámetro de la púa (Muñoz *et al.*, 2013; Pérez-Luna *et al.*, 2019), por lo que es necesario determinar la longitud de corte que favorezca mejor la unión por cada especie en particular.

Esta investigación propone hallar la técnica y longitud de corte más viable para injertos de *P. patula*. El objetivo del estudio fue evaluar el prendimiento, el crecimiento y el desarrollo de acículas en injertos de *P. patula* en función de tres técnicas de injerto (terminal, lateral e inglés simple) y tres longitudes de corte en la yema y el patrón (1.5, 2.0 y 2.5 cm). Por lo que se tiene la hipótesis de que una mayor superficie de contacto (generada con la mayor longitud del corte) entre las regiones del cambium de la planta patrón y la púa, permitirá una mejor adherencia y soporte mecánico en el injerto, con una rápida reconexión de los conductos vasculares para lograr el éxito en las tres técnicas de injerto propuestas en el estudio para *P. patula*.

1.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Las plantas de *P. patula* usadas como patrón fueron generadas con semilla procedente de Ixtacamaxtitlán, Puebla. Una vez germinadas, las plantas fueron trasplantadas a bolsas de polietileno de color negro de 6 L, una planta por bolsa, llenadas con una mezcla de aserrín, corteza de pino, vermiculita y turba en proporción 70-20-5-5, respectivamente. En la mezcla se agregó fertilizante de liberación controlada de ocho meses, Multicote® (18-6-12 + micronutrientes), a una dosis de 8 g L⁻¹ de sustrato; además, en los riegos semanales se aplicó una dosis de 1 g L⁻¹ de fertilizante soluble Peters Profesional® (20-20-20 + micronutrientes); y cada 15 días y de manera alternada se aplicaron dos soluciones de fungicida, una de Ridomil Gold Bravo SC® (1 ml L⁻¹) y otra de Tecto 60® (1 g L⁻¹) para prevenir infecciones. Las plantas se mantuvieron en condiciones de vivero hasta cumplir un año de edad, en octubre de 2019, cuando

mostraron características deseables para injertar: sanas, con alturas de 77 a 79 cm y diámetros de 8.02 a 8.04 mm (Figura 1.1 B).

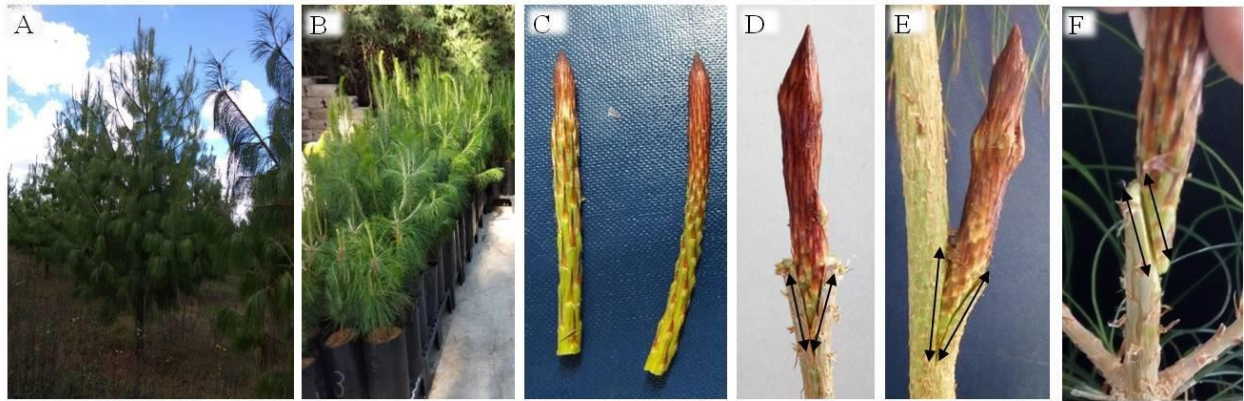


Figura 1.1. Características del material vegetal de *Pinus patula* usado y técnicas de injerto evaluadas en el experimento. A: árboles donadores de púas; B: planta patrón; C: púas; D: injerto terminal; E: injerto lateral; F: injerto inglés simple. Las flechas indican el lugar de los cortes en cada técnica de injerto.

Entonces se inició con la recolección de yemas (púas) en una plantación de un ensayo de progenie de *P. patula* de cuatro años de edad (Figura 1.1 A), localizado en el paraje Agua Azul del Ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, Chignahuapan, Puebla. Los árboles donadores de púas fueron seleccionados por sobresalir en su crecimiento, tanto en altura como en diámetro y con una buena rectitud del fuste. Estos individuos selectos pertenecen a las familias con mejor desempeño en el ensayo (8, 27, 50, 81, 84 y 85). Al momento de la recolección, las yemas se encontraban en un estado fenológico de crecimiento activo (de 11 a 15 cm de longitud y 5.8 a 6.0 mm de diámetro), con escamas cerradas, sin acículas, sanas y vigorosas (Figura 1.1 C).

Después de ser recolectadas, las yemas fueron trasladadas al vivero forestal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado en los 19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO a 2,249 m de altitud, lugar donde se estableció el experimento. Para evitar la deshidratación del tejido durante el traslado, las yemas fueron humedecidas con agua corriente, envueltas en papel y colocadas dentro de bolsas de polietileno en una nevera con hielo. Al llegar al vivero, se pusieron en refrigeración a 4 °C y al día siguiente las yemas fueron hidratadas, sumergiéndolas en una solución con agua y fertilizante foliar Bayfolan® S 2 g L⁻¹ por 10 min. Enseguida, se hizo un lavado con agua, jabón líquido e hipoclorito de sodio 1 ml L⁻¹ para eliminar el polvo y resina superficial. Posteriormente, se sumergieron en una solución de agua y fungicida en polvo Captan

50[®] 1.5 g L⁻¹ durante 20 min. Finalmente, las yemas fueron cortadas a 7.0 cm de longitud para tener un tamaño homogéneo de púa.

1.4.1. Tratamientos-Técnicas de injerto

En el experimento se establecieron tres tipos de injerto (terminal, lateral e inglés). Para la realización de los injertos de tipo terminal. Primero, se hizo un corte horizontal en el tallo (decapitación) por arriba del último verticilo de la planta patrón. Después, se quitaron las acículas del tallo principal y se limpió la zona decapitada con una solución de agua y sales de amonio cuaternario (Pursue[®]) 2 ml L⁻¹. Enseguida, en esa zona decapitada, con un cúter se hizo un corte vertical de longitud variable según el tratamiento (1.5, 2.0 o 2.5 cm) para generar la hendidura. En la base de las púas se aplicaron dos cortes, con el bisturí y navaja del número 12, en forma de cuña tratando de obtener solamente un plano de cada lado. Una vez hechos los cortes señalados en el tallo del patrón y en la base de la púa, se hizo coincidir el cambium de ambas partes al insertar la púa en la hendidura del patrón (Figura 1.1 D). Enseguida, para sellar la zona injertada y evitar su desplazamiento, se colocó una tira de plástico (“hule cristal delgado” de 1 cm de ancho y 50 µm de grosor), con varias vueltas alrededor de esta zona. Al colocar la tira se realizó una presión firme y continua para favorecer la unión de las estructuras internas. Finalmente, una bolsa de polietileno transparente (15 x 25 cm) fue colocada y cerrada sobre el injerto para generar y mantener un microambiente húmedo y evitar su deshidratación.

El injerto lateral se realizó a los 10 cm por arriba de la base del tallo del patrón (sin decapitarlo). En esa zona, con el cúter se hizo un corte con cierto grado de inclinación para generar la hendidura; mientras que en la base de la púa se aplicó el mismo corte, en forma de cuña, con las tres diferentes longitudes de corte que se describieron para el injerto tipo terminal. Entonces, se insertó la púa en la hendidura del patrón (Figura 1.1 E). La colocación de la bolsa de polietileno transparente y el amarre con la cinta de plástico en el punto de unión también fue similar a la técnica del injerto terminal.

Para el injerto inglés simple, el manejo de la planta patrón y la púa fue similar en casi todos los pasos al injerto terminal, solamente difirió el corte en la base de la púa y en la parte superior del patrón. En este caso, el corte fue diagonal con la misma longitud y ángulo, para ser complementario entre estas dos estructuras; pero las tres longitudes de corte señaladas en los

otros dos tipos de injerto, también fueron aplicadas. Al final, se hizo el amarre en el punto de unión y se colocó la bolsa de polietileno como en las dos técnicas anteriores (Figura 1.1 F).

Los injertos se mantuvieron en condiciones de invernadero, con riego manual y control parcial de la temperatura (techo plástico y paredes con malla antiáfidos). Protegidos contra el viento, lluvia, granizo y bajas temperaturas. Para permitir una adecuada ventilación, los injertos fueron colocados sobre bases de plástico, dejando un espacio entre el injerto y el piso. Mediante un sensor data logger Temp/Hum HOBO® se registró la temperatura (9.0 - 30.1 °C) y la humedad relativa (39.3 - 89.8%). A los injertos que mostraban prendimiento se les retiró la bolsa de polietileno de manera paulatina. En la tercera semana, se llevó a cabo un corte pequeño en las esquinas de la bolsa; en la quinta semana, se hizo la apertura total en la parte superior de la bolsa, y en la semana ocho se quitaron completamente las bolsas. El plástico en el punto de unión se retiró hasta la semana 12, para asegurar la unión de las conexiones internas entre la púa y el patrón, así como la cicatrización completa con la formación del callo.

El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial; los dos factores evaluados fueron: técnica de injertado con tres niveles (terminal, lateral e inglés simple) y longitud de corte con tres niveles (1.5, 2.0 y 2.5 cm) en patrón y púa, con diez repeticiones y generando un total de 90 injertos. A los 60 días de haber realizado los injertos, se evaluaron tres variables: 1) Prendimiento o éxito del injerto, 2) Crecimiento en longitud de la púa injertada y 3) Desarrollo inicial de acículas. El prendimiento se evaluó considerando en las púas la elongación, crecimiento de acículas, vigorosas, turgentes, y con coloración verde característico de yema viva. En el caso de las púas que presentaron coloración café, deshidratadas, sin turgencia y vigor, se consideraron como “no prendidas”. El crecimiento de la púa se evaluó sacando la diferencia entre la longitud inicial de la púa (7 cm) y su longitud a los 60 días de haberlas injertado. A los injertos prendidos se les evaluó el porcentaje que presentaban acículas desarrolladas, esto es con una longitud mayor a 1 cm.

A los datos obtenidos de las variables evaluadas se les aplicó el análisis de varianza con el programa R versión 3.6.1 y posteriormente se hizo la comparación múltiple de medias Tukey ($p \leq 0.05$). Al no cumplir con los supuestos de normalidad, los datos de prendimiento y desarrollo de acículas se transformaron con la función [$T = \arcseno(\sqrt{Y})$] antes de realizar el análisis de varianza y posteriormente se retransformaron a las unidades originales con la función [$Y = 100$

seno² (T)] (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015). Se realizó una gráfica de la interacción (técnica de injerto x longitud del corte) para la variable que presentó diferencia estadística.

$$Y_{ijk} = \mu + T_i + L_j + TL_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición k del nivel i de T y nivel j de L ; μ = media general; T_i = efecto de la técnica de injerto; L_j = efecto de la longitud de corte; TL_{ij} = interacción técnica de injerto x longitud de corte, ϵ_{ijk} = error experimental i = terminal, lateral e inglés; j = 1.5, 2.0 y 2.5 cm; k = 1, 2, ..., 10 repeticiones.

1.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los 60 días, cuando finalizó el experimento, más del 50% de todos los injertos realizados prendieron exitosamente, con un crecimiento en longitud superior a los 17 mm y más del 60% de los injertos desarrollaron acículas (Cuadro 1.1). El porcentaje de prendimiento obtenido es considerado como aceptable para las coníferas; ya que en general se han reportado prendimientos menores al 50% para las especies de este grupo (Muñoz *et al.*, 2013). Por otro lado, el crecimiento en longitud y desarrollo de acículas en los injertos demuestran la viabilidad del injerto (Cuadro 1.1). En injertos de *P. pseudostrobus*, el crecimiento y desarrollo de acículas indican el establecimiento del nuevo tejido cambial entre ambas partes, que reactiva sus funciones fisiológicas para iniciar el desarrollo y crecimiento de una planta completa constituida por dos genotipos (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

En el análisis estadístico, entre las técnicas de injerto (TI) evaluadas únicamente el prendimiento resultó con diferencia estadística ($p \leq 0.05$); mientras que en la longitud de corte (LC) no se presentaron diferencias en las tres variables evaluadas. Para la interacción entre ambos factores (TI x LC) solo la variable crecimiento del injerto tuvo diferencia (Cuadro 1.1).

1.5.1. Efecto de la técnica de injerto

Prendimiento del injerto

De las tres técnicas de injerto evaluadas, con la del injerto terminal se obtuvieron los porcentajes de prendimiento más altos. Con esta técnica el prendimiento se incrementó en más de 20%, respecto a los observados con la del tipo inglés, que tuvo los menores porcentajes; mientras en los injertos laterales el prendimiento presentó valores intermedios (Cuadro 1.1). Mugerwa y Okullo (2010) obtuvieron un resultado similar en injertos de *Pinus caribaea* var. *hondurensis*,

donde el injerto de tipo terminal favoreció el prendimiento de la púa injertada en 25%, respecto al injerto inglés. Los autores atribuyen el éxito a que los injertos terminales tuvieron una unión más rápida y fuerte que permitió el transporte de agua y nutrientes a la púa.

Cuadro 1.1. Análisis de varianza y prueba de medias (\pm error estándar) de las variables prendimiento, crecimiento en longitud (cm) y desarrollo de acículas, para los factores técnica de injerto (TI), longitud de corte (LC) e interacción (TI x LC) en injertos de *P. patula*.

Factor	GL	Prendimiento (%)	Crecimiento (mm)	Desarrollo de acículas (%)
Técnica de injerto (TI)	2	0.022[†]	0.749^{ns}	0.354^{ns}
Terminal		80.0 \pm 5.8 a	17.1 \pm 5.5 a	66.9 \pm 2.6 a
Lateral		73.3 \pm 3.3 ab	17.6 \pm 3.0 a	69.0 \pm 10.4 a
Inglés simple		56.7 \pm 3.3 b	17.6 \pm 5.2 a	45.6 \pm 19.3 a
Promedio		70.0 \pm 4.1	17.6 \pm 2.7	60.5 \pm 7.4
Longitud de corte (LC)	2	0.070^{ns}	0.075^{ns}	0.138^{ns}
1.5 cm		66.7 \pm 3.3 a	25.5 \pm 7.2 a	80.2 \pm 4.4 a
2.0 cm		66.7 \pm 8.8 a	17.7 \pm 3.5 a	51.3 \pm 15.9 a
2.5 cm		76.7 \pm 8.8 a	10.2 \pm 1.7 a	50.0 \pm 9.6 a
Promedio		70.0 \pm 4.1	17.6 \pm 2.7	60.5 \pm 7.4
TI x LC	4	0.210^{ns}	0.040[†]	0.529^{ns}
CV (%)		16.5	57.5	34.5

Valores medios de tratamientos con letra diferente en una columna dentro de cada factor de estudio indican diferencia estadística. GL: grados de libertad. CV: coeficiente de variación. Diferencias estadísticas con $^{\dagger}p \leq 0.05$ y ns, sin diferencia estadística.

En especies de coníferas se han obtenido resultados satisfactorios en el prendimiento al utilizar tanto injertos terminales como laterales (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020; Pérez-Luna *et al.*, 2020a); aunque el injerto lateral ha sido más frecuentemente aplicado (Blada y Panea, 2011). El éxito de ambas técnicas está relacionado con la anatomía interna y externa de los tejidos en el punto de unión entre púa y patrón (Castro-Garibay *et al.*, 2017). Villaseñor y Carrera (1980) reportaron prendimiento de 80% en injertos terminales y 25% menos en laterales para *P. patula*.

Para la misma especie, Aparicio-Rentería *et al.* (2013) obtuvieron 38% menor prendimiento en injertos laterales, en comparación con los resultados de este estudio, argumentando que el bajo prendimiento se debió a factores climáticos extremos, principalmente temperatura y humedad. La elección de alguna de las dos técnicas (terminal o lateral) en *P. patula* dependerá del objetivo final, cada una presenta ventajas y desventajas a considerar.

Las técnicas de injerto terminal y lateral, generalmente se han aplicado para el establecimiento de huertos semilleros asexuales (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013). Particularmente, el injerto lateral pudiera también considerarse cuando el objetivo es el manejo de setos para producción de brotes adventicios, ya que el genotipo de interés se ubica más cerca de las raíces, lo que ayuda a mantener características juveniles (Wendling *et al.*, 2014).

Por otro lado, el menor prendimiento con el injerto inglés se debió a que en esta técnica únicamente se realiza un corte o plano en forma diagonal, tanto en la púa como al patrón (Pardo-Alonso *et al.*, 2020), quedando solamente sobrepuestas las superficies del cambium (púa-patrón) y no se fijan como en el caso del terminal y lateral, que se injertan en una hendidura con dos planos expuestos (Hartmann *et al.*, 2014). Incluso la púa se coloca bajo la presión que ejercen los dos planos del patrón favoreciendo el contacto de los cambiums (Mugerwa y Okullo, 2010).

Por lo tanto, en el injerto inglés se presenta mayor fragilidad en la zona de unión y resulta más susceptible al movimiento, aumentando el riesgo de desplazamiento entre las partes del injerto y provocando interrupción de las conexiones internas; además presenta una menor superficie de contacto del cambium, estructura responsable y clave para una unión exitosa (Pina *et al.*, 2017; Gautier *et al.*, 2019). Sin embargo, el injerto inglés simple pudiera ser otra alternativa de clonación para *P. patula*, en particular para plantas patrón y púas de talla pequeña; ya que se ha recomendado en tallos de diámetro menor a 5 mm, donde se dificulta hacer otro tipo de corte (Lee *et al.*, 2010). Esta técnica se ha aplicado para obtener injertos a mayor escala en especies del género *Abies* y *Pinus* a partir de brotes obtenidos de setos de genotipos superiores injertados en planta patrón menor de un año (Pérez-Luna *et al.*, 2020a).

Actualmente, esta técnica se utiliza ampliamente para la producción masiva de injertos en jitomate (Pardo-Alonso *et al.*, 2020). Pero debido a que la zona de unión en esta técnica es más frágil, debe considerarse la utilización de clips especiales de silicón para mantener una presión

firme, continua y mejor alineada que garantice el contacto del sistema vascular de ambas partes (Lee *et al.*, 2010; Pardo-Alonso *et al.*, 2020). El material plástico utilizado en este estudio para fijar el punto de unión, pudo haber influido negativamente en la presión que requiere para mantenerse unida la púa con el patrón. Blada y Panea (2011) recomiendan utilizar el material más apropiado para fijar las partes del injerto y que garanticen la cicatrización.

Crecimiento en longitud y desarrollo de acículas en la púa injertada

El tipo de injerto no tuvo efecto en las variables de crecimiento en longitud y en el desarrollo de acículas de la púa injertada (Cuadro 1.1). Esto indica que los injertos realizados, independientemente de la técnica usada, respondieron favorablemente; ya que una vez prendidos, la reactivación fisiológica de la yema se manifiesta inmediatamente con el crecimiento inicial y desarrollo de acículas en la púa injertada (Muñoz *et al.*, 2013). Greenwood *et al.* (2010) demostraron que injertos exitosos presentan desarrollo y crecimiento inmediato de la púa injertada en *Picea rubens* Sarg. En un estudio con *P. pseudostrobus* sí se encontró diferencia de crecimiento de 2.2 cm entre el injerto lateral y el terminal, los autores consideraron que el mejor crecimiento en los injertos laterales fue por su ubicación cercana a las raíces, lo que permitió un mejor flujo de agua y nutrimentos (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

Para este trabajo con *P. patula*, el bajo crecimiento en longitud de las púas, de solo 17 mm (Cuadro 1.1) en las tres técnicas de injerto evaluadas, probablemente se debió a la temporada del año, ya que los datos de esta variable se registraron durante el mes de diciembre. Periodo donde el crecimiento activo de las yemas de esta especie decrece, tanto por la disminución del fotoperiodo como de la temperatura (Viveros-Viveros y Vargas-Hernández, 2007; Pérez-Luna *et al.*, 2019).

Aunque no se detectó efecto de la técnica de injerto sobre el porcentaje de plantas con acículas desarrolladas (Cuadro 1.1), es importante considerar que posterior al prendimiento, las acículas que crezcan serán los órganos encargados de generar los carbohidratos necesarios para procesos vitales, futuro crecimiento y supervivencia de la planta injertada (Lal, 2018). Estas acículas son más indispensables durante el establecimiento de los injertos laterales, ya que en estos debe eliminarse toda la parte aérea del patrón y al final solamente quedan las acículas que logre desarrollar la púa injertada (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

1.5.2. Efecto de la longitud de corte

Prendimiento crecimiento y desarrollo de acículas del injerto

Las diferentes longitudes de corte, realizadas en la planta patrón y en la púa, no tuvieron diferencias estadísticas en las variables consideradas (Cuadro 1.1). Se esperaba que la mayor longitud de corte (2.5 cm) favoreciera el prendimiento en mayor porcentaje que en los otros dos cortes (1.5 y 2.0 cm). En algunos trabajos la longitud de corte ha sido importante en el éxito de los injertos. En *Mangifera indica* L. el tamaño de corte (> 4 cm) fue determinante en el éxito de los injertos (Mng'omba, 2013). Blada y Panea (2011) encontraron que el mayor prendimiento fue alcanzado con cortes mayores, que generaron mayores superficies de contacto (de 4 a 5 cm) entre el cambium del patrón y el de la púa, en injertos laterales de *Picea pungens* Engelm. var. *glauca* Regel. Estos autores argumentaron que la mayor superficie de contacto influyó en el desarrollo de callo, estructura celular necesaria para la cicatrización del tejido. La cicatrización es el primer paso para que se realice la formación de nuevas estructuras de conducción entre las partes que conforman el injerto (Gautier *et al.*, 2019).

Sin embargo, el éxito en los injertos no solo depende de la longitud de corte sino también de la especie y del tipo de injerto. Para injertos laterales de *P. pseudostrobus* se ha recomendado una longitud de corte de 3 - 5 cm (Pérez-Luna *et al.*, 2019); mientras que para el caso de *P. caribaea*, la longitud de corte ha sido menor, de 2.5 cm en injerto terminal y de 2 cm en injerto inglés simple (Mugerwa y Okullo, 2010). Para injertos de *P. patula*, basados en los resultados de esta investigación, se sugieren cortes de 1.5 a 2.5 cm (sin diferencia estadística detectada), para esperar prendimientos superiores a 65% (Cuadro 1.1); ya que, con este intervalo de longitud de corte, la superficie de contacto del cambium fue capaz de lograr una cicatrización eficiente (Figura 1.2 E, F y G). Si se reduce la longitud de corte más allá de este intervalo, podría darse una unión mecánica débil entre las partes del injerto, afectando la formación del callo y de los nuevos tejidos vasculares, por reducir en exceso la superficie de contacto del cambium (Hartmann *et al.*, 2014; Pina *et al.*, 2017).

Para incrementar los porcentajes de prendimiento obtenidos en los injertos de *P. patula* deben considerarse otros factores que también influyen en el prendimiento de los injertos: 1) La morfología y el estado fenológico de las yemas utilizadas como púas, al momento de la

recolecta, ya que en coníferas estos varían considerablemente entre géneros, especies, procedencias y genotipos (Castro-Garibay *et al.*, 2017; Flores *et al.*, 2019); y 2) El ángulo de corte y diámetro entre púa y patrón, permiten una mayor superficie de contacto y mejor acoplamiento entre las dos zonas de unión del injerto, lo cual incrementa la probabilidad para la reconexión de los tejidos vasculares (Pardo-Alonso *et al.*, 2019).

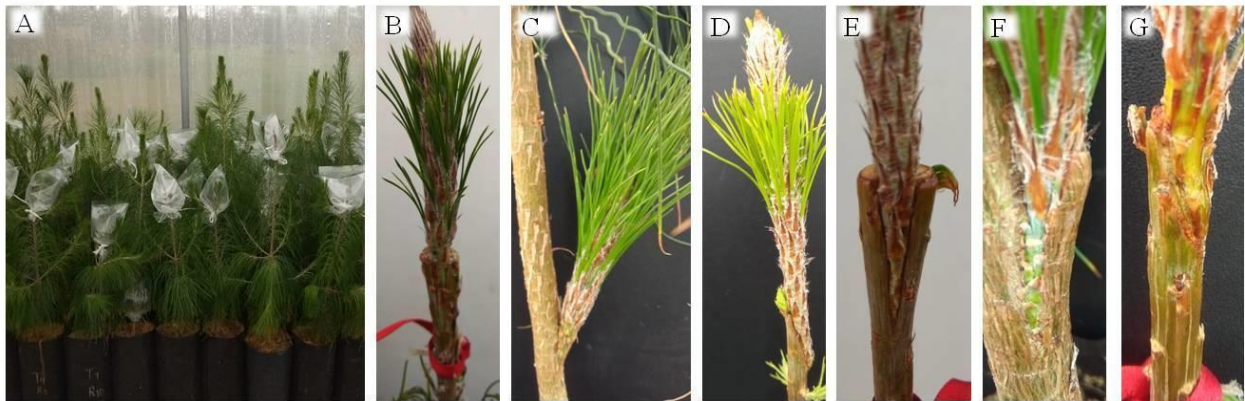


Figura 1.2. Establecimiento del experimento y prendimiento de los injertos de *Pinus patula*. A: injertos cubiertos con bolsas de plástico para evitar la deshidratación; B, C, D: prendimiento de injerto terminal, lateral e inglés simple, respectivamente, a los 60 días; E, F, G: callo formado en injerto terminal, lateral e inglés simple a los 90 días.

La púa reanuda exitosamente su crecimiento y desarrollo cuando la conexión vascular se establece con un xilema y floema funcional para que ésta pueda obtener agua y nutrientes, ya que este proceso involucra una gran demanda de agua (Hartmann *et al.*, 2014; Guadaño *et al.*, 2016). Un indicador de una posible incompatibilidad es la falta de desarrollo del injerto, lo que puede ser producida por una conexión vascular insuficiente, discontinua o una degeneración del floema en el área de unión del injerto, lo que causa desbalance en el transporte de agua y nutrientes que afecta el crecimiento del injerto (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010; Pina *et al.*, 2017).

1.5.3. Efecto de las interacciones entre factores

La interacción entre factores (tipo de injerto x longitud de corte) generó diferencias en el crecimiento de los injertos (Cuadro 1.1). Los valores mayores de crecimiento (> 30 mm) se obtuvieron con las combinaciones: 1) terminal x corte de 1.5 y 2) inglés simple x corte de 1.5 y 3) injerto lateral x corte de 2.0 cm (Figura 1.3).

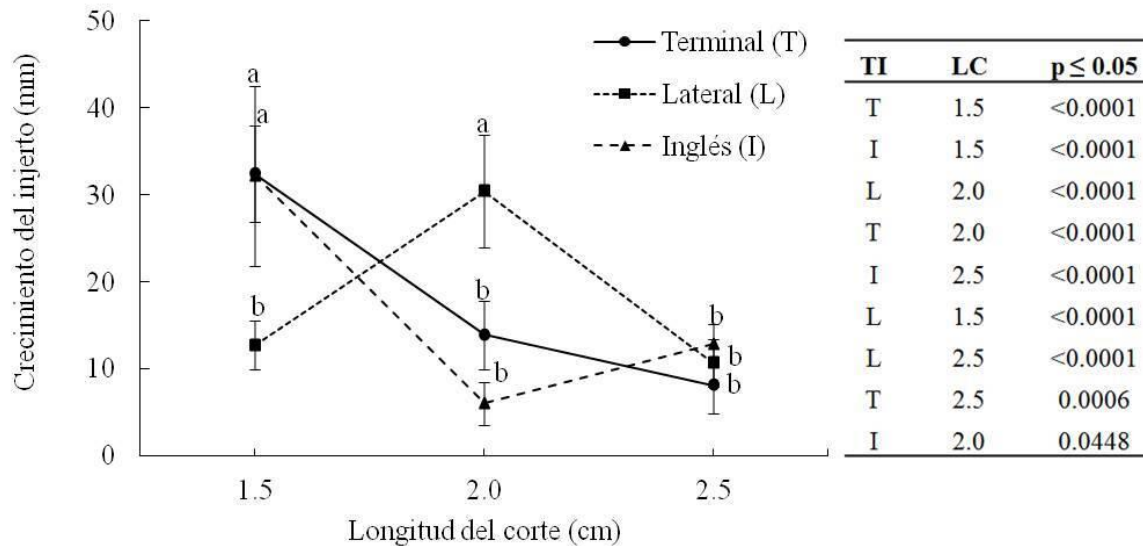


Figura 1.3. Medias del crecimiento en longitud del injerto (\pm error estándar) de *Pinus patula* y valores de p para la combinación de cada nivel del factor técnica de injerto (TI): terminal (T), lateral (L) e inglés (I); con cada nivel del factor de longitud de corte (LC): 1.5, 2.0 y 2.5 cm. Letras diferentes indican diferencias significativas con Tukey ($p \leq 0.05$).

Los mejores resultados en el crecimiento se obtuvieron en los cortes de menor longitud (1.5 cm), con los que se genera poca superficie de contacto entre la planta patrón y la púa, en combinación con los injertos que se realizaron cerca de yema terminal de la planta patrón (terminal e inglés simple) (Figura 1.3). Estas interacciones sugieren que los injertos que se realizan en regiones apicales de las plantas logran una mejor reconexión de tejidos cuando los cortes son pequeños y esto se refleja en el crecimiento de la púa injertada. Es probable que las hormonas estén jugando un papel importante en el resultado generado por estas interacciones. Se sabe que las auxinas se acumulan cerca del ápice de las plantas, lugar donde se sintetizan (meristemo apical) y son responsables de la formación y diferenciación vascular; así como de la cicatrización durante la unión de los tejidos parenquimatosos en el injerto (Goldschmidt, 2014; Nanda y Melnyk, 2018).

En este trabajo se observó que el proceso de cicatrización fue más rápido en las heridas hechas por cortes pequeños. Mientras más rápida sea la unión de los tejidos mediante la cicatrización, la comunicación célula a célula vía plasmodesmos (canales de membrana) se acelera y la fisiología de la planta injertada se reactiva, lo cual permite dirigir los recursos disponibles y estimular tanto el crecimiento como desarrollo de acículas (Mng'omba, 2013; Gautier *et al.*, 2019). Martínez-Ballesta *et al.* (2010) sugirieron que una formación correcta de callo puede producir un adecuado

crecimiento de la púa. Una vez formado el tejido de cicatrización y reconexión vascular del xilema y floema se dará la continuidad en la actividad fisiológica, reiniciándose el crecimiento y desarrollo del injerto como si fuera un sólo individuo (Goldschmidt, 2014; Hartmann *et al.*, 2014), por lo tanto, puede esperarse que mientras más rápido se forme el callo más rápido iniciará el crecimiento del injerto.

1.6. CONCLUSIONES

La técnica y longitud de corte son factores determinantes en el prendimiento, crecimiento y desarrollo de acículas en injertos de *Pinus patula*.

El estudio demostró que las técnicas más viables para aumentar el prendimiento del injerto en *P. patula*, son terminal y lateral, correspondientes a las técnicas más comúnmente utilizadas en injertos de coníferas.

La longitud de corte en el rango evaluado no definió el éxito del injerto por lo que pudiera considerarse aplicar el corte entre 1.5 a 2.5 cm en futuros ensayos de injerto.

Cuando la longitud de corte se combinó con la técnica, se obtuvieron combinaciones favorables en el crecimiento del injerto, en particular la terminal con corte de 1.5 cm.

CAPÍTULO II. INFLUENCIA DEL GENOTIPO DE LA PÚA Y LA FAMILIA DEL PATRÓN SOBRE LA COMPATIBILIDAD DEL INJERTO DE *Pinus patula*

2.1. RESUMEN

El origen genético de la púa y del patrón define el éxito del injerto. La compatibilidad genética por parentesco intraespecífico puede favorecer el prendimiento del injerto. El objetivo fue evaluar la compatibilidad de las púas de cuatro genotipos, injertadas en patrones de las mismas cuatro familias de *Pinus patula*. Se injertaron púas de cuatro genotipos superiores (G105, G106, G114 y G115) sobre patrones de las mismas familias de medios hermanos (F105, F106, F114 y F115), en todas sus combinaciones con el diseño bloques completos al azar con arreglo factorial. Se evaluó prendimiento, supervivencia, desarrollo de acículas y crecimiento en longitud y diámetro del injerto. El análisis de varianza indicó diferencia ($p \leq 0.05$) en la supervivencia por efecto del genotipo de púa y familia de patrón. La supervivencia del G115 fue mayor por 7.5, 41.3 y 46.3% que los otros genotipos G114, G105 y G106, respectivamente; mientras que la F105 superó por 8.7, 18.7 y 32.5% a la F106, F114 y F115, respectivamente. Las mejores combinaciones en supervivencia resultaron de injertar G115+F114 (85%), G114+F105 (80%), G105+F106 (60%) y G106+F105 (60%); el G105 (26 cm) y G115 (2 mm) mostraron los valores más altos en el crecimiento en longitud y diámetro, respectivamente. La supervivencia del injerto se favorece con el uso de la púa G115 y el patrón F105; pero cada genotipo de púa mostró, en distinta proporción, afinidad por una familia de patrón diferente a la de su progenie.

Palabras clave: clonación, genotipo superior, mejoramiento genético, parentesco intraespecífico, prendimiento del injerto.

INFLUENCE OF SCION GENOTYPE AND THE ROOTSTOCK FAMILY ABOUT THE COMPATIBILITY OF *Pinus patula* GRAFT

2.2. ABSTRACT

The genetic origin of the scion and the rootstock determine graft success. Genetic compatibility by intraspecific relationships can promote graft success. The aim was to evaluate the scion compatibility from four genotypes grafted in rootstocks of the same four *Pinus patula* families. The four superior scion genotypes (G105, G106, G114 and G115) were grafted on rootstocks of the same families of half-siblings (F105, F106, F114 and F115) in all their combinations with the complete blocks random design with factorial array. Success, survival, needles development as well as graft length and diameter growth. The variance analysis indicated differences ($p \leq 0.05$) in the survival by effect of the scion genotype and rootstock family. The survival of G115 was 7.5, 41.3 and 46.3% higher than that of the other genotypes G114, G105 and G106, respectively; while F105 overcame by 8.7, 18.7 and 32.5% the F106, F114 and F115, respectively. Top survival combinations emerged from grafting G115+F114 (85%), G114+F105 (80%), G105+F106 (60%) and G106+F105 (60%); G105 (26 cm) and G115 (2 mm) showed the highest values in growth length and diameter, respectively. Graft survival is favored by the use of G115 scion and the F105 rootstock, but each scion genotype showed affinity preferential for one rootstock family different from its own progeny.

Keywords: cloning, genetic improvement, graft success, intraspecific relationship, superior genotype.

2.3. INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. es un pino subtropical ampliamente plantado en el mundo, por su productividad, calidad de madera y fácil manejo (Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016). Existe el interés creciente en México y otros países en el mejoramiento genético de la especie, que contempla el establecimiento de huertos semilleros asexuales (HSA) a partir de árboles superiores (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013). Actualmente el Fondo Sectorial CONAFOR-CONACYT proyecto 2017-2-291322 tiene como objetivo el establecimiento de cuatro HSA de *P. patula* en los estados de Hidalgo, Oaxaca, Puebla y Veracruz.

Por medio de la clonación se multiplican genotipos superiores con el fin de producir semilla de alta calidad genética (Hartmann *et al.*, 2014). En la práctica actual, los clones utilizados en el establecimiento de HSA en especies de pino son obtenidos por medio de injerto (Pérez-Luna *et al.*, 2020a). Como en *P. elliottii* Engelm. var. *elliottii* y *P. taeda* L. en Estados Unidos (White *et al.*, 2018), o en *P. patula* y *P. pseudostrobus* (Mirov) Harrison var. *oaxacana* en México (Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020). El injerto es la unión de dos entidades genéticas de origen diferente (púa y patrón) que influyen una en la otra y cada una de ellas mantiene su propia identidad genética a través del ciclo de vida de la planta (Darikova *et al.*, 2011). Esta técnica de propagación en coníferas se ha documentado con problemas de bajo prendimiento y supervivencia relacionados con la anatomía interna, sanidad, afinidad taxonómica y genética entre la púa y el patrón, fenología de la yema, edad del patrón, técnica de injerto, condiciones ambientales y de manejo (Pérez-Luna *et al.*, 2019; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

En especies del género *Pinus*, los genotipos de la púa y patrón constituyen un factor importante en la compatibilidad y fuente de variación, que determinan el prendimiento, supervivencia, desarrollo y floración de los injertos (Medina *et al.*, 2007). Cuando se presentan altas similitudes en la estructura genética entre los componentes del injerto, generalmente se espera mayor afinidad (Goldschmidt, 2014).

Los estudios de compatibilidad púa-patrón en coníferas se han enfocado a nivel de especie, resultando por lo general, mayor compatibilidad en injertos intraespecíficos. Púas de *Pinus rzedowskii* Madrigal & M. Caball. injertadas sobre patrones de cinco diferentes especies de pino

mostraron mayor afinidad (86%) con patrones de la misma especie (Solorio-Barragán *et al.*, 2021). Por lo que la afinidad del injerto podría incrementarse cuando la púa y el patrón provienen del mismo genotipo o familia.

Debe considerarse que existen variaciones morfológicas y fisiológicas entre genotipos o procedencias dentro de la misma especie, por ello, tendrán una respuesta diferente al ser parte de una planta injertada, ya sea, como púa o patrón (Tandonnet *et al.*, 2010; Méndez-Neri *et al.*, 2020). Es necesario identificar cuales combinaciones púa-patrón son favorables entre ellas a nivel de genotipo. Pina *et al.* (2017) sugieren evaluar la compatibilidad del injerto antes de considerar el uso de un patrón para un genotipo de púa específico.

En *P. elliotii* el genotipo de la púa y del patrón presentaron diferencias en la supervivencia al año de ser injertados (Medina *et al.*, 2007). En *Larix gmelinii* var. *japonica* la supervivencia del injerto dependió más de las características clonales de la púa que del patrón (Kita *et al.*, 2018). Para *P. patula* no se tienen referencias sobre el desempeño del genotipo de púa o patrón en los injertos.

El objetivo del estudio fue evaluar el prendimiento, la supervivencia, el crecimiento y el desarrollo de acículas de injertos realizados entre parientes cercanos genéticamente (púa-patrón) con no emparentados, en función del genotipo de púa y familia de patrón. Se espera mayor compatibilidad al injertar las púas en su misma progenie.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

Se seleccionaron para este estudio cuatro genotipos del estado de Puebla (G105, G106, G114 y G115). Los árboles elegidos mostraron superioridad en altura, diámetro normal y rectitud del fuste dentro de cada una de sus fuentes (Cuadro 2.1). La fuente del G105 y G106 fue de un ensayo de progenie (19° 57' 43.14" LN y 98° 06' 15.25" LO a 2,574 m de altitud); mientras que la del G114 y G115 de un huerto semillero sexual (19° 57' 36.09" LN y 98° 06' 18.92" LO a 2,592 m de altitud). Ambas fuentes ubicadas en el ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, de Chignahuapan, Puebla.

En octubre de 2018 se recolectó semilla de polinización abierta de los cuatro genotipos seleccionados para la producción de planta patrón. Las semillas fueron sembradas y germinadas

en envases individuales de plástico con capacidad de 320 ml en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México; utilizando un sustrato de corteza de pino, perlita y tepezil en proporción 60-20-20, respectivamente. En la mezcla se incluyeron 8 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada de ocho meses Multicote® 18-6-12 + 2MgO + microelementos.

Cuadro 2.1. Características de los cuatro genotipos superiores de *Pinus patula* seleccionados como donadores de púas y su progenie para planta patrón, de un ensayo de progenie (G105 y G106) y un huerto semillero (G114 y G115) ubicados en Chignahuapan, Puebla.

Genotipo	Edad (años)	Altura (m)	Diámetro (cm)
G105	11	9.40	19.8
G106	11	9.80	21.6
G114	15	17.1	25.2
G115	15	16.3	24.8

Edad = al momento de la recolecta de las yemas (2020); Altura y diámetro = al momento de la selección de los genotipos (2018).

En septiembre de 2019 las plantas patrón se trasplantaron a envase de plástico rígido de 1 L manteniendo el control del genotipo que originó cada arbolito. Se utilizó como sustrato una mezcla de turba de musgo, perlita y vermiculita (60-20-20%, respectivamente), incluyendo la misma cantidad y fertilizante de liberación controlada utilizada en la etapa de geminación. Tres meses después los patrones fueron sacados del invernadero y colocados a sol directo.

El riego de la planta patrón se aplicó cuando se requirió con regadera manual, ajustando el pH del agua a 5.7 con ácido fosfórico, adicionado con fertilizante soluble Peters Profesional® 20-20-20, a razón de 1 g L⁻¹, una vez por semana.

El 25 de marzo de 2020, 80 plantas vigorosas de cada familia fueron seleccionadas para ser usadas como patrón. Las plantas tuvieron en promedio de 60 ± 5.0 cm de altura y 8.1 ± 0.1 mm de diámetro de la base del tallo.

La recolecta de las púas se realizó el 01 de abril de 2020 de los mismos cuatro genotipos utilizados como donadores de semilla para la planta patrón (G105, G106, G114 y G115) (Figura 2.1 A). Las yemas (púas) presentaban un estado fenológico de crecimiento activo, antes de emitir

acículas, vigorosas, sin plagas ni enfermedades aparentes; tenían una longitud promedio de 13 ± 2.0 cm y un diámetro de 4.9 ± 0.1 mm.

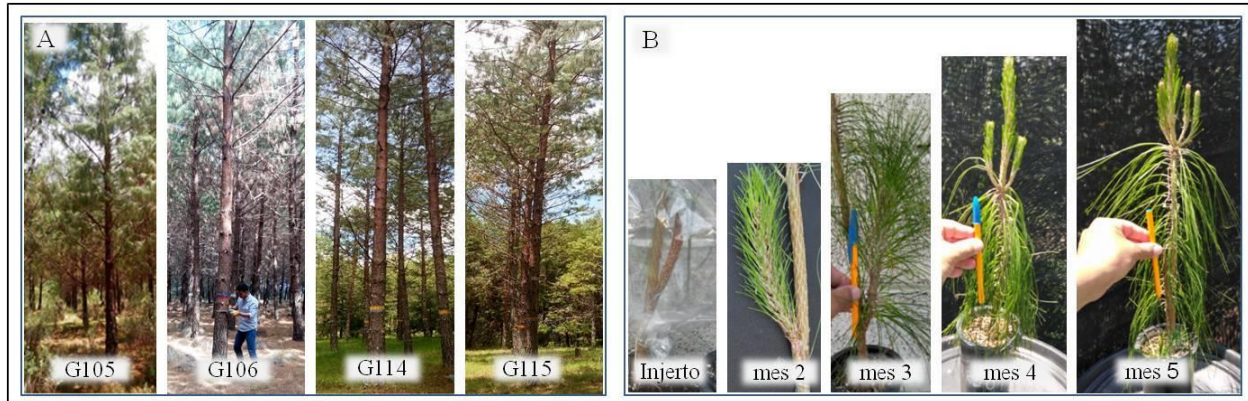


Figura 2.1. Árboles seleccionados de *Pinus patula* y desarrollo del injerto. A: genotipos superiores de *Pinus patula* seleccionados como donadores de yemas (púas) y semilla (planta patrón); B: desarrollo de la púa injertada en los primeros cinco meses.

Después de la recolecta, las yemas se humedecieron, se envolvieron en papel periódico y guardaron en bolsas plásticas. Los paquetes de 120 púas por genotipo (considerando 50% más de las requeridas) se transportaron dentro de la nevera con hielo a las instalaciones del Colegio de Postgraduados. Los paquetes se mantuvieron en refrigeración a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta al día siguiente para ser injertadas (22 horas en promedio después de la recolecta). Las púas se ajustaron a una longitud de 7 cm al momento de injertar. Los injertos se realizaron de forma recíproca, injertando la púa de cada uno de los cuatro genotipos probados sobre la progenie de su mismo genotipo y sobre la progenie de los otros tres genotipos.

En el experimento se usó la técnica de injerto lateral aplicada a 10 cm de la base en el tallo principal del patrón (sin decapitarlo), haciendo un corte de 2 cm de longitud y 80° de inclinación con el cúter. A la púa se le hicieron dos cortes con bisturí y navaja del número 12 para darle forma de cuña en la parte basal exponiendo dos planos del cambium. Posteriormente, se hizo coincidir el cambium de ambas partes al insertar la púa en la hendidura del patrón. Enseguida, para sellar la zona injertada se colocó una tira de plástico (hule cristal “delgado” de 1 cm de ancho y $50\text{ }\mu\text{m}$ de grosor), con varias vueltas alrededor de la zona. Finalmente, una bolsa de polietileno transparente (15 x 25 cm) fue colocada sobre el injerto para evitar su deshidratación.

Las actividades de manejo post-injertación incluyeron: la apertura de la bolsa de forma paulatina entre los 35 y 60 días; el plástico en el punto de unión se quitó a los dos meses y medio (cuando se observó la cicatrización completa); las podas del patrón se realizaron en tres etapas (40, 60 y 100 días después de injertar), eliminando aproximadamente un tercio de la parte aérea en cada fecha, hasta dejar solo la yema injertada como líder de la planta.

Entre el día 30 y 60 después del injertado se realizaron inspecciones en el punto de unión de cada injerto una vez por semana para detectar y corregir problemas fitosanitarios. El riego, fertilización y aplicación de fungicidas continuaron con el mismo manejo que en la producción de la planta patrón.

Se aplicó un diseño experimental en bloques al azar en un arreglo factorial. Factor 1: genotipo de la púa con cuatro niveles (G105, G106, G114 y G115); Factor 2: familia del patrón con cuatro niveles (F105, F106, F114 y F115). Se establecieron cuatro bloques con 16 tratamientos, cada tratamiento representado con cinco injertos por bloque, por lo que se realizaron un total de 320 injertos.

Las variables evaluadas fueron: prendimiento (%) y número de injertos que desarrollaron acículas (%) a los dos meses, supervivencia del injerto (%) mensualmente hasta los 12 meses, longitud (cm) y diámetro (mm) de la púa injertada a los cinco meses. Los datos se analizaron usando el modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_k + G_i + F_j + GF_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición k del nivel i de G y nivel j de F ; μ = media general; β_k = efecto del bloque; G_i = efecto del genotipo de la púa; F_j = efecto de la familia del patrón; GF_{ij} = interacción genotipo de la púa * familia del patrón; ϵ_{ijk} = error experimental $i = G105, G106, G114$ y $G115$; $j = F105, F106, F114$ y $F115$; $k = 1, 2, 3$ y 4 repeticiones.

Los datos de las variables evaluadas cumplieron con los supuestos de normalidad del modelo y se realizó el análisis de varianza. Posteriormente a las variables que presentaron diferencias significativas se les aplicó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey, con el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System 9.4 [SAS, 2013]).

2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El efecto del genotipo de la púa (GP) mostró diferencias ($p \leq 0.05$) en la supervivencia, crecimiento en longitud, diámetro del injerto y desarrollo de acículas (Cuadro 2.2); de igual manera la familia del patrón (FP) presentó diferencias en las mismas variables, excepto para el crecimiento en longitud. La interacción entre los factores probados (GP x FP) solo tuvo efecto en la supervivencia (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Valores de p del análisis de varianza de las variables evaluadas en la compatibilidad de las púas de cuatro genotipos superiores, injertadas en patrones de las mismas cuatro familias de *Pinus patula*.

Fuente de variación	Prendimiento (%)	Supervivencia (%)	Longitud (cm)	Diámetro (mm)	Acículas (%)
Bloque	0.5046	0.3378	0.6548	0.8307	0.1262
GP	0.3995	0.0001	0.0001	0.0001	0.0002
FP	0.5046	0.0001	0.3274	0.0201	0.0159
GP*FP	0.4684	0.0050	0.1701	0.8348	0.1173

GP: genotipo de la púa; FP: familia del patrón.

Se obtuvo un prendimiento promedio de 74.7%, supervivencia 50.0%, 20.8 cm de crecimiento en longitud y 1.6 mm en diámetro y el 65% de injertos prendidos desarrolló acículas (Cuadro 2.3).

2.5.1. Efecto del genotipo de la púa

Prendimiento

Se lograron altos porcentajes de prendimiento para *P. patula*, de 70 a 82%, pero no se detectaron diferencias entre los cuatro genotipos de púa probados (Cuadro 2.2). El prendimiento documentado para esta especie es de 35% con la técnica lateral (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013). En coníferas se han obtenido resultados variables, pero en la mayoría de los casos con prendimiento menor al 50% (Muñoz *et al.*, 2013).

Los altos porcentajes de prendimiento en este estudio indican que los genotipos de púa probados tuvieron la capacidad de unir sus tejidos de forma completa y funcional. El estado fenológico de las yemas (crecimiento activo) fue conveniente para ser injertadas, provienen de árboles con características superiores, sanos y edad similar, lo cual se recomienda para lograr el éxito del

injerto (Pérez-Luna *et al.*, 2019). Además, las condiciones ambientales durante el prendimiento permitieron que los procesos celulares que inician al momento de injertar se llevaran a cabo correctamente (Hartmann *et al.*, 2014), independientemente del genotipo de púa probado.

Cuadro 2.3. Valores medios y error estándar (\pm) del análisis de compatibilidad de las púas de cuatro genotipos superiores injertadas en patrones de las mismas cuatro familias de *Pinus patula*.

Factor	Prendimiento (%)	Supervivencia (%)	Longitud (cm)	Diámetro (mm)	Acículas (%)
Genotipo de púa					
G105	72.5 \pm 6.3 a	32.5 \pm 6.8 b	26.0 \pm 1.2 a	1.8 \pm 0.1 a	69.2 \pm 7.0 a
G106	70.0 \pm 5.5 a	27.5 \pm 6.3 b	16.1 \pm 1.0 c	1.1 \pm 0.2 b	40.6 \pm 8.0 b
G114	73.8 \pm 4.7 a	66.3 \pm 4.7 a	20.7 \pm 0.8 b	1.3 \pm 0.1 b	69.7 \pm 6.8 a
G115	82.5 \pm 4.8 a	73.8 \pm 5.7 a	20.5 \pm 0.9 b	2.0 \pm 0.1 a	80.9 \pm 5.2 a
Familia del patrón					
F105	80.0 \pm 5.2 a	65.0 \pm 4.7 a	21.3 \pm 1.0 a	1.9 \pm 0.1 a	64.3 \pm 2.5 ab
F106	70.0 \pm 6.1 a	56.3 \pm 7.1 ab	21.9 \pm 1.5 a	1.6 \pm 0.2 ab	81.9 \pm 6.0 a
F114	71.3 \pm 5.8 a	46.3 \pm 7.9 bc	20.6 \pm 1.3 a	1.3 \pm 0.2 b	56.2 \pm 8.4 b
F115	77.5 \pm 4.4 a	32.5 \pm 8.7 c	19.4 \pm 1.5 a	1.5 \pm 0.2 ab	58.0 \pm 9.2 b
Promedio	74.7	50.0	20.8	1.6	65.1

Medias con letras diferentes en la misma columna para cada factor son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$).

Aunque en la interacción el efecto fue no significativo, en cada genotipo se tuvo un mayor prendimiento con una familia de patrón no emparentada: G105+F106 (85 \pm 9.6), G106+F105 (85 \pm 9.6), G114+F115 (85 \pm 5.0) y G115+F114 (90 \pm 10.0%). Pina *et al.* (2017) sugirieron probar y seleccionar para cada genotipo de interés la planta patrón que mejore el prendimiento y reduzca la incompatibilidad inicial.

Supervivencia

Además del prendimiento la supervivencia del injerto es un factor de gran relevancia ya que deben mantenerse vivos a través del tiempo para cumplir con su finalidad. Se detectó diferencia en la supervivencia del G115 y G114 respecto al G105 y G106 (Cuadro 2.2). La supervivencia

más alta a los 12 meses fue la de yemas del G115 (73.8%) con diferencia de 41.3, 46.3 y 7.5%, respecto al G105, G106 y G114 (Cuadro 2.3). Se ha identificado en especies de pino que la supervivencia del injerto se reduce considerablemente a través del tiempo. Para *P. patula* se reportó la reducción en la supervivencia de 100 a 29% y en otro estudio a 34%, entre los siete y ocho meses después de injertar (Villaseñor y Carreara, 1980; Aparicio-Rentería *et al.*, 2013). En *P. engelmannii* Carr. disminuyó a 12.5% a los seis meses y a 27% en *P. pseudostrobus* a los 90 días (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020; Pérez-Luna *et al.*, 2020a).

En los dos genotipos de púa que obtuvieron alta supervivencia, el mayor número de injertos muertos se presentó en la etapa de prendimiento (dos primeros meses) y solamente el 8.7% (G115) y 7.5% (G114) en el intervalo del mes 2-12 (Figura 2.2 A). Barrera-Ramírez *et al.* (2020) coincidieron que el mayor porcentaje de mortalidad en injertos se registró durante los primeros 40 días, ya que más del 50% presentaron problemas de prendimiento.

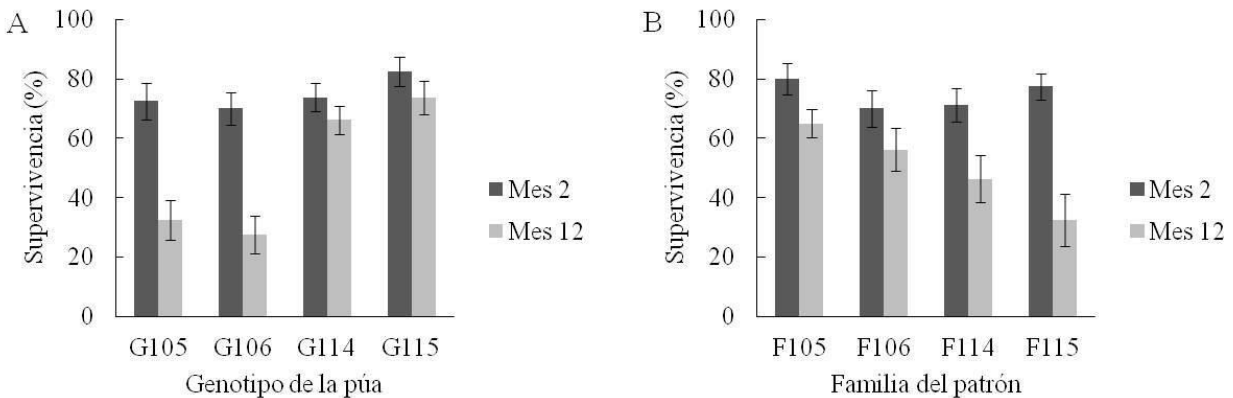


Figura 2.2. Porcentaje de supervivencia del injerto de *P. patula* del mes 2 al 12 de injertado. A: supervivencia del factor genotipo de púa; B: supervivencia del factor familia del patrón.

Por lo contrario, la mayor tasa de mortalidad después del prendimiento se presentó en el G105 (40%) y G106 (42.5%) (Figura 2.2 A). Aparicio-Rentería *et al.* (2013) atribuyeron la mortalidad de injertos de *P. patula* en el primer año a condiciones ambientales extremas por altas temperaturas, exceso de lluvia, granizo y heladas antes de ser llevados a campo.

Para este estudio la principal causa de mortalidad en el periodo del mes 2-12, se debió a la muerte de la planta completa (púa y patrón) en casi el 100% de los casos. A los injertos que

murieron se les detectó necrosis en las raíces ya que se ha reportado a esta especie como susceptible en los primeros años al ataque de hongos fitopatógenos (Ford *et al.*, 2014).

También la incompatibilidad fisiológica y anatómica entre la púa y el patrón influyen en la supervivencia, ya que alguna de las dos partes puede debilitar o matar al árbol injertado; pocos estudios han puesto atención en el impacto de la púa sobre el patrón (Han *et al.*, 2019). Tandonnet *et al.* (2010) determinaron que el vigor de la raíz es conferido por la púa injertada, además el genotipo de púa indujo necrosis en las raíces del portainjerto. El G115 y G114 después del prendimiento pudieron haber asimilado eficientemente los recursos proporcionados por el patrón y viceversa, ya que la capacidad de interacción determina el éxito del injerto (Goldschmidt, 2014).

Crecimiento del injerto y desarrollo de acículas

El mayor crecimiento en longitud del injerto se presentó con púas del genotipo G105 (26 cm) con diferencia de 9.9, 5.3 y 5.5 cm con el G106, G114 y G115, respectivamente (Cuadro 2.3). Por otro lado, el G115 (2.0 mm) y el G105 (1.8 mm) favorecieron el mayor crecimiento en diámetro en comparación con el G106 y G114 (Cuadro 2.3). Las púas de los genotipos probados expresaron su potencial de crecimiento inicial por ser recolectadas e injertadas a inicios de primavera, cuando ocurre el principal alargamiento del brote en pinos, en crecimiento activo (Viveros-Viveros y Vargas-Hernández, 2007) (Figura 2.1 B). Los genotipos utilizados como púas presentaron efecto en la respuesta del crecimiento inicial en longitud y diámetro.

El genotipo influye en variaciones, tanto en la fenología reproductiva como en las características morfológicas entre clones debido a la diversidad genética entre individuos de la misma especie (Sivacioglu *et al.*, 2009). Sivacioglu *et al.* (2009) encontraron efecto del genotipo sobre el crecimiento entre diferentes clones de *Pinus sylvestris* L. de un huerto semillero asexual y Han *et al.* (2019) demostraron que el genotipo de la púa causó un fuerte efecto sobre la concentración de prolina en las raíces de injertos en *Populus*. Cada genotipo puede tener diferente capacidad de ser propagado por injertación, incluso puede llegar a influir el hábito de crecimiento de las procedencias donde se recolectaron las yemas (Méndez-Neri *et al.*, 2020).

Los injertos prendidos que desarrollaron más rápidamente acículas a los dos meses fueron las púas del G115 (80.9), G114 (69.7) y G105 (69.2), que tuvieron diferencias con el G106 (40.6%)

(Cuadro 2.3). Esos tres genotipos también presentaron los valores más altos de crecimiento en longitud y diámetro (Cuadro 2.3). Esto puede atribuirse a que las plantas injertadas con estos genotipos de púas reactivaron el crecimiento favoreciendo la fotosíntesis y producción de carbohidratos al desarrollarse más rápido (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020). Esta velocidad de respuesta es de gran relevancia en injertos laterales, ya que la parte aérea del patrón se poda paulatinamente y al final solo quedan las acículas que haya logrado desarrollar la púa injertada (Muñoz *et al.*, 2013).

2.5.2. Efecto de la familia del patrón

Prendimiento

Se obtuvo en promedio 70 a 80% de prendimiento y la diferencia estadística fue no significativa entre las cuatro familias de patrón probadas (Cuadro 2.2). Esta respuesta pudiera atribuirse por ser injertos intraespecíficos ya que es mayor la compatibilidad inicial al ser más cercanos genéticamente a nivel de individuos dentro de una misma especie (Darikova *et al.*, 2011).

El reconocimiento y primeros eventos celulares, así como el proceso de unión y cicatrización después de injertar ocurren de forma completa y funcional con la mayor afinidad anatómica, morfológica y fisiológica (Pina *et al.*, 2017; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020). Además de considerar el estado fitosanitario, nutricional y de manejo en los patrones.

La respuesta positiva y similar entre las familias de patrón probadas sobre el prendimiento también pudieran relacionarse a la calidad de la planta patrón, ya que la semilla de cada familia proviene de árboles superiores: F105 y F106 (ensayo de progenie) y F114 y F115 (huerto semillero sexual depurado). Estos se cruzaron con otros árboles superiores del ensayo o del huerto y producto de la recombinación genética generaron semilla de mayor calidad (White *et al.*, 2007).

Supervivencia

Se detectó diferencia en la supervivencia del injerto entre la F105 y F115 (Cuadro 2.2). La F105 mostró el valor promedio más alto (65%) con diferencias de 8.7, 18.7 y 32.5% con la F106, F114 y F115, respectivamente (Cuadro 2.3).

La mayor mortalidad respecto a la familia del patrón se presentó después del prendimiento en el periodo del mes 2-12 y varió respecto a cada familia, disminuyendo en este periodo 15, 13.7, 25 y 45% con la F105, F106, F114 y F115, respectivamente (Figura 2.2 B).

La mortalidad se atribuyó a problemas fitosanitarios en el sistema de raíces que afectaron directamente la capacidad de proporcionar agua y nutrimentos a la púa injertada. En Sudáfrica se han reportado daños en las raíces al propagar por semilla y estacas a *P. patula*, detectando que es susceptible a *Fusarium circinatum* con bajos niveles de tolerancia en la etapa de vivero, reduciendo la supervivencia hasta 32% (Ford *et al.*, 2014).

La incorrecta o baja formación de callo también puede afectar la supervivencia de la planta injertada, ya que las conexiones vasculares en el punto de unión pueden determinar la traslocación de nutrimentos y agua, afectando otras características fisiológicas (Martínez-Ballesta *et al.*, 2010).

Las diferencias encontradas en las familias de patrón sugieren que los portainjertos pueden diferir en su funcionalidad, por ejemplo, su capacidad para capturar recursos del suelo y transportarlos a la púa, por diferencias en la arquitectura del sistema de raíces, funcionamiento e interacción con la rizosfera (Gautier *et al.*, 2019).

La familia de patrón que mantuvo el valor más alto de supervivencia (F105) podría considerarse para producción de planta patrón en futuros estudios de injerto, así como continuar con ensayos para identificar las mejores familias de *P. patula* para este fin.

Los injertos han sido empleados ampliamente en otras áreas para incrementar productividad y/o mejorar la resistencia a enfermedades y estrés abiótico, por ello, debe considerarse injertar púas en patrones que tienen alta resistencia a problemas fitosanitarios en las raíces, debido a que las principales ventajas documentadas de los portainjertos es la capacidad para controlar enfermedades (Han *et al.*, 2019).

Crecimiento del injerto y desarrollo de acículas

El análisis de varianza no mostró diferencias ($p \leq 0.05$) en la familia de patrón sobre el crecimiento en longitud, solamente en diámetro (Cuadro 2.2). La F105 (1.9 mm) presentó diferencia en el crecimiento en diámetro con la F114 (1.3 mm) (Cuadro 2.3). El crecimiento de

las púas injertadas se considera como un indicativo de prendimiento inicial y vigor del injerto (Muñoz *et al.*, 2013).

El G105 mostró el mayor crecimiento en diámetro al injertarse en su misma progenie G105+F105 (2.1 mm). Sin embargo, esta afinidad puede estar relacionada con el vigor de esta familia en particular y no por afinidad genética, ya que fue la mejor en todos los casos para esta variable: G106+F105 (1.6), G114+F105 (1.6) y G115+F105 (2.2 mm). El desarrollo de acículas se evaluó a los dos meses para detectar la rapidez con la que se generan estas estructuras. A los cinco meses el 100% de injertos las había desarrollado. En *P. pseudostrobus* la formación de acículas se observó desde los 45 días (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

La familia de patrón F106 favoreció la formación de acículas más rápidamente (81.9%) y tuvo diferencias con la F114 y F115 de 25.7 y 23.9%, respectivamente (Cuadro 2.3). La respuesta de esta familia quizás esté relacionada con una rápida conexión vascular entre las partes del injerto permitiendo la translocación de agua y nutrimentos a la púa para reanudar exitosamente la formación y desarrollo de acículas (Hartmann *et al.*, 2014).

Mientras más rápido aparezcan las acículas se espera que inicien la fotosíntesis y producción de carbohidratos requeridos por la planta injertada favoreciendo la reactivación de su crecimiento (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020). Martínez-Ballesta *et al.* (2010) mencionan que están poco documentadas las implicaciones fisiológicas de la conexión entre la púa y el patrón sobre el área foliar, la morfología, el crecimiento, la biomasa y la fotosíntesis en injertos.

2.5.3. Interacción de los factores en la supervivencia

El efecto del genotipo de la púa es afectado por la familia del patrón en la supervivencia del injerto en *P. patula*. Las mejores combinaciones para cada uno de los cuatro genotipos de púa fueron: G115+F114 (85), G114+F105 (80), G106+F105 (60) y G105+F106 (60%) (Cuadro 2.4). La selección de una apropiada combinación de púa y patrón puede mejorar la supervivencia, como lo encontrado por Kita *et al.* (2018) en injertos de *Larix gmelinii*. Cada genotipo de púa presentó mayor supervivencia siendo injertado en una familia de patrón no emparentada y no en su misma progenie, como se esperaba. Podría maximizarse la supervivencia del injerto para plantaciones de huertos semilleros asexuales determinando el portainjerto más apropiado al genotipo de la púa (Kita *et al.*, 2018).

Cuadro 2.4. Interacción entre el genotipo de púa y la familia del patrón sobre la supervivencia del injerto de *Pinus patula* a los 12 meses.

Genotipo de púa	Familia de patrón	Supervivencia (%)	Genotipo de púa	Familia del patrón	Supervivencia (%)
G105	F105	45 ± 5.0	G114	F105	80 ± 8.2
G105	F106	60 ± 14.1	G114	F106	60 ± 14.1
G105	F114	25 ± 5.0	G114	F114	55 ± 5.0
G105	F115	00 ± 0.0	G114	F115	70 ± 5.8
G106	F105	60 ± 8.2	G115	F105	75 ± 5.0
G106	F106	30 ± 5.8	G115	F106	75 ± 15.0
G106	F114	20 ± 8.2	G115	F114	85 ± 15.0
G106	F115	00 ± 0.0	G115	F115	60 ± 8.2

Valores medios ± error estándar.

Aunque cada genotipo de púa tenga afinidad por una familia de patrón en particular (Cuadro 2.4), la F105 fue más estable (primer o segundo valor más alto) en la supervivencia y presenta características que favorecen la viabilidad del injerto a través del tiempo para los genotipos de púas probados de *P. patula*. Por lo tanto, pudiera considerarse como patrón en futuras pruebas de injerto para esta especie. Kita *et al.* (2018) indicaron que con un apropiado portainjerto puede obtenerse un árbol que exhiba las mejores cualidades de ambas entidades genéticas (púa-patrón).

En contraste, la F115 fue la menos favorable. Al injertarse el G105 y G106 en la F115 murieron todos los injertos de los respectivos tratamientos a los 12 meses (Cuadro 2.4); por lo tanto, el uso de esta familia como patrón no garantiza la supervivencia del injerto.

Existen pocos estudios sobre la producción de portainjertos en especies del género *Pinus*, pese a la importancia del patrón sobre el prendimiento, supervivencia y vigor del injerto (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020). Se ha tenido mayor avance en la selección de genotipos superiores para ser utilizados como púas, pero no existe información en *P. patula* de familias sobresalientes que puedan ser utilizadas como planta patrón en injertos.

2.6. CONCLUSIONES

El éxito de los injertos de *Pinus patula* es mayor en plantas sin cercanía genética intraespecífica, es más importante el vigor de ambas partes.

El genotipo de púa y familia de patrón no influyen en el prendimiento inicial. El genotipo de la púa modifica el efecto de la familia de patrón en la supervivencia del injerto y viceversa.

El crecimiento en longitud, diámetro y desarrollo de acículas del injerto varía de manera particular respecto al genotipo de púa y familia de patrón probados.

El genotipo G115 y la familia F105 mostraron superioridad en supervivencia respecto a otros genotipos y familias probadas, por lo que es posible encontrar familias que pueden ser utilizadas como plantas patrón más compatibles al injerto.

CAPÍTULO III. EVALUACIÓN DEL GENOTIPO DE PLANTAS MADRE A PARTIR DE INJERTO DE *Pinus patula* PARA LA INDUCCIÓN DE BROTES Y RAÍCES ADVENTICIAS

3.1. RESUMEN

Los injertos de pino de genotipos superiores utilizados como plantas madre representan una alternativa de material para propagación masiva por medio de la inducción de brotes adventicios. El objetivo fue evaluar el efecto del injerto y genotipo en la inducción y desarrollo de brotes a partir de plantas madre de *Pinus patula* y su posterior enraizamiento. Para inducir los brotes, se aplicó una poda a la yema terminal de injertos de cuatro genotipos superiores de *P. patula* (G105, G106, G114 y G115) y plántulas de dos años sin injertar, dando cinco tratamientos. Posteriormente los brotes se cosecharon y pusieron en cámaras de enraizamiento. Para evaluar la inducción de brotes y raíces adventicias se aplicó un diseño en bloques al azar y se midió el porcentaje de plantas madre que formaron brotes, así como el número, longitud (cm) y diámetro (mm) a la semana 16. En la segunda etapa, se contabilizaron las estacas vivas y enraizadas (%), a tres meses de su establecimiento en las cámaras de enraizamiento. Se detectaron diferencias en todas las variables ($p \leq 0.05$). El genotipo tuvo efecto en el tiempo de inicio de formación de brotes. Las plantas no injertadas desarrollaron el mayor número promedio de brotes por planta madre (7.5). Los brotes del G114 y G106 presentaron el mayor crecimiento en longitud (6.0 cm) y en diámetro (5.1 mm), respectivamente. En la etapa de enraizamiento, los brotes de la planta no injertada tuvieron el 100% de supervivencia y 20% de enraizamiento. Los brotes de plantas madre de injerto permanecieron vivos entre 50 y 75% pero sin enraizar. Se logró el desarrollo de brotes adventicios de plantas madre, tanto de planta no injertada como injertada; el genotipo influyó en la morfología de los brotes y el enraizamiento se presentó solo en brotes de planta no injertada.

Palabras clave: clon, genotipo superior, morfología del brote, planta madre, poda.

GENOTYPE EVALUATION FROM MOTHER PLANTS OF *Pinus patula* GRAFT FOR ADVENTITIOUS SPROUTS AND ROOTS INDUCTION

3.2. ABSTRACT

The pine grafts of superior genotypes used as mother plants represent an alternative to massive reproduction through adventitious sprout induction. The aim was to evaluate the graft and genotype effect on the induction and development of sprouts based on mother plants of *Pinus patula* and its subsequent rooting. To induce the sprouts, pruning was applied to the terminal bud of four superior genotypes of *P. patula* (G105, G106, G114 and G115), and two-year non-grafted seedlings, resulting five treatments. A complete random block design was used to test the effects of grafted and non-grafted mother plants on production of sprouts, as well as number, length (cm) and diameter (mm) 16 weeks after. In the second stage, live and rooting cuttings were counted (%) three months after their establishment in the rooting chamber. Differences were detected in all variables ($p \leq 0.05$). The genotype affected the starting time of sprouts. The non-grafted plants developed higher average number of sprouts per mother plant. (7.5). The G114 and G106 sprouts presented the highest growth in length (6.0 cm) and diameter (5.1 mm), respectively. Regarding rooting, sprouting of non-grafted plants showed 100% survival and 20% of rooting. Survival of sprouts from grafted mother plants was between 50% and 75%, whit no rooting at all. Development of adventitious sprouts was achieved from grafted and non-grafted mother plants; the genotype influenced the sprouts morphology and the rooting was present only in sprouts from non-grafted plants.

Keywords: clone, mother plant, pruning, sprout morphology, superior genotype.

3.3. INTRODUCCIÓN

La propagación clonal consiste en obtener nuevos individuos a partir de partes vegetativas que tienen la capacidad de regeneración y proporciona la posibilidad de multiplicar íntegramente la información genética de un árbol con características deseables que quieren mantenerse (Niemi *et al.*, 2004; Hartmann *et al.*, 2014). Esto puede lograrse por medio de injertos, enraizamiento de estacas, acodos o cultivo *in vitro* (Bonga, 2016).

Sin embargo, la propagación por injertos es limitada por la cantidad de púas disponibles por árbol y la necesidad de producir planta patrón de calidad; por lo que para la propagación masiva es más recomendable el enraizamiento de estacas. Los injertos se han utilizado para producir planta requerida para el establecimiento de huertos semilleros asexuales en especies de pino porque los árboles maduros son difíciles de enraizar (Wendling *et al.*, 2014; Pérez-Luna *et al.*, 2020a).

En *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham., especie endémica de México de importancia económica por su alta productividad y calidad de madera (Escamilla-Hernández *et al.*, 2020), se ha comprobado el éxito de la aplicación de los injertos para la propagación de genotipos deseables (Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016).

La multiplicación masiva por enraizamiento de estacas requiere material juvenil, así que las empresas forestales han creado plantas de porte pequeño que generen muchos brotes vigorosos a las que se les llama plantas madre (Rowe *et al.*, 2002; Wendling *et al.*, 2014). El sistema de plantas madre se refiere al manejo de plantas obtenidas por semilla o por propagación vegetativa que son podadas para estimular la formación de brotes adventicios con características juveniles (Riov *et al.*, 2020; Martínez-Alonso *et al.*, 2012). Estos brotes pueden utilizarse para enraizamiento de estacas, injertarse o para cultivo *in vitro* (Read y Bavougian, 2013).

El enraizamiento de estacas se ha aplicado operativamente en *Pinus radiata* D. Don en Nueva Zelanda, *P. taeda* L. en USA y *P. patula* en Sudáfrica (Ford *et al.*, 2014; Wu, 2019). En México sólo hay reportes de experimentos en *P. patula*, *P. leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham., *P. hartwegii* Lindl. y el híbrido *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015; Rivera *et al.*, 2021; Bautista-Ojeda *et al.*, 2022; Cabrera *et al.*, 2022).

El uso de plantas madre permite: 1) mantener características juveniles en las estacas; 2) facilitar el manejo y recolecta de estacas; 3) programar podas; 4) evita ir al sitio original del árbol para reducir gastos; 5) controlar la nutrición de la planta; y 6) utilizar poco espacio en vivero y mantener material vegetal sano (Rezende *et al.*, 2014; Sodré y Gomes, 2019).

La producción de planta madre por semilla tiene el inconveniente de que se reproducen individuos genéticamente diferentes al árbol superior seleccionado y requiere preferentemente la realización de cruza controladas con otros progenitores cuya cruza sea comprobada en campo en ensayos que requieren tiempo (Mitchell y Jones, 2006; Ford *et al.*, 2014).

Por medio de la propagación serial puede evitarse la variación genética y clonar a mayor escala los árboles superiores originales (Mitchell y Jones, 2006; Wendling *et al.*, 2014). Primero se injertan los genotipos seleccionados, luego, se podan las plantas a temprana edad para estimular el desarrollo de brotes adventicios, los cuales se cosechan y mediante tratamientos físicos y químicos se promueve el enraizamiento de estacas (Read y Bavougian, 2013; Bonga, 2016). La interrogante es si el tejido injertado tendría mayor probabilidad de producir brotes vigorosos, menos lignificados (juveniles) y con capacidad de enraizamiento como los generados por plantas madre originadas por semilla (Inoti *et al.*, 2017).

La fisiología de las plantas madre est  en función del genotipo, fecha de poda, condiciones ambientales, nutricionales y hormonales (Inoti *et al.*, 2017). El genotipo puede influir en la capacidad de formación, número y morfología de los brotes adventicios, así como en su enraizamiento (Martínez-Alonso *et al.*, 2012; Sodré y Gomes, 2019).

Se encontró variación en la inducción y número de brotes de acuerdo al origen genético de la planta madre en *Pinus taeda* y *P. jaliscana* Pérez de la Rosa (Rowe *et al.*, 2002; Aparicio-Rentería *et al.*, 2006). En plantas madre de *P. taeda* las diferencias genéticas entre familias fueron evidentes en la formación de brotes (Rowe *et al.*, 2002). Sin embargo, Martínez-Alonso *et al.* (2012) no encontraron efecto del origen genético en la longitud del rebrote de plantas madre de *Pinus pinaster* Ait.

Se desconoce la respuesta de las plantas injertadas manejadas como plantas madre para multiplicar genotipos deseables de *P. patula* seleccionados de un ensayo de progenie y un huerto semillero. Por lo tanto, el objetivo del estudio es comparar el efecto del injerto y genotipo en la

producción de brotes y en el enraizamiento de estacas en respuesta a la poda de plantas madre de *P. patula*.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Producción de planta madre

Para los experimentos se utilizaron cuatro genotipos superiores de *Pinus patula* seleccionados en el ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, Chignahuapan, Puebla (G105, G106, G114 y G115). Los árboles elegidos mostraron superioridad en altura, diámetro normal y rectitud del fuste dentro de cada una de sus fuentes. La fuente del G105 y G106 fue de un ensayo de progenie (19° 57' 43.14" LN y 98° 06' 15.25" LO a 2,574 m de altitud); mientras que la del G114 y G115 de un huerto semillero sexual (19° 57' 36.09" LN y 98° 06' 18.92" LO a 2,592 m de altitud).

En octubre de 2018 se recolectó semilla de polinización abierta de los cuatro genotipos seleccionados para producción de planta patrón. Las semillas germinaron en envases individuales de plástico rígido con capacidad de 320 ml en condiciones de invernadero en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Texcoco, México, y en septiembre de 2019 las plantas se trasplantaron a envase de plástico de 1 L. Se utilizó como sustrato una mezcla de turba de musgo, perlita y vermiculita (60-20-20%, respectivamente), incluyendo 8 g L⁻¹ de fertilizante de liberación controlada de ocho meses Multicote[®] 18-6-12 + 2MgO + microelementos. Tres meses después las plantas fueron colocadas a sol directo.

En marzo de 2020, 18 meses de edad, se seleccionaron 320 plantas vigorosas que fueron utilizadas como patrón para injertar y generar las plantas madre y 30 más para producir plantas madre sin injertar. La recolecta de las púas se realizó a principios de abril de 2020 de los mismos cuatro genotipos utilizados como donadores de semilla para la planta patrón (G105, G106, G114 y G115); las púas se trasladaron al Colegio de Postgraduados, donde se mantuvieron en refrigeración a 4 °C. Las yemas presentaban un estado fenológico de crecimiento activo, antes de emitir acículas, vigorosas, sin plagas ni enfermedades aparentes; una longitud promedio de 13 ± 2.0 cm y diámetro de 4.9 ± 0.1 mm.

Al día siguiente de la recolecta de las yemas se injertó con la técnica lateral a 10 cm de la base en el tallo principal del patrón, haciendo un corte de 2 cm de longitud y 80° de inclinación con el

cúter (navaja de doble filo). Al momento de injertar las púas se ajustaron a 7 cm de longitud; posteriormente a cada púa se le hicieron dos cortes con bisturí (navaja del número 12) para darle forma de cuña en la parte basal, exponiendo dos planos del cambium, de modo que, se hizo coincidir el cambium de ambas partes al insertar la púa en la hendidura del patrón. Para fijar la púa y sellar la zona injertada se colocó la tira de plástico (“hule cristal delgado” de 1 cm de ancho y 50 μm de grosor), con varias vueltas alrededor de la zona.

Finalmente, fue colocada sobre el injerto una bolsa de polietileno transparente (15 x 25 cm) para evitar la deshidratación del mismo. La bolsa fue inflada para generar espacio con la púa injertada y luego se amarró en la parte superior e inferior. En vivero se dio mantenimiento de riego de manera individual dos a tres veces por semana a los injertos prendidos y a la planta no injertada. El pH del agua se ajustó a 5.7 con ácido fosfórico. La fertilización se realizó una vez por semana con Peters Profesional® 20-20-20 en dosis de 1 g L⁻¹.

3.4.2. Inducción de brotes (estacas) por poda

A los seis meses del injertado, en octubre de 2020, se seleccionaron las 30 mejores plantas injertadas de cada genotipo (altura, vigor y con dominancia apical definida) para conformar las plantas madre. Enseguida, la planta injertada como de la no injertada se podó 2 cm abajo de la yema apical para inducir el desarrollo de brotes adventicios.

Al momento de realizar la poda, las plantas madre se encontraban sanas y con fascículos. La altura promedio de la planta injertada fue: G105 (36.1 ± 1.4), G106 (26.7 ± 1.2), G114 (32.7 ± 0.5), G115 (35.8 ± 1.1) y de la no injertada (76.8 ± 0.9 cm). La planta no injertada estuvo constituida de la planta patrón de dos años de edad que no se injertó, ésta se mantuvo con el mismo manejo que las injertadas.

Dos meses después de la poda aparecieron los brotes adventicios en las plantas madre, a los cuales se les aplicó solución de Captan 50® 1 g L⁻¹ con frecuencia de dos veces por semana mientras seguían creciendo aun en la planta madre, para prevenir problemas fitosanitarios en la siguiente etapa de enraizamiento. Las plantas se mantuvieron a la intemperie con temperatura promedio de 21.3 ± 0.6 , máxima de 36.6 ± 0.6 y mínima de 6.1 ± 0.3 °C. La humedad relativa promedio fue 51.8 ± 1.0 , la máxima de 72.9 ± 0.7 y la mínima de $28.5 \pm 0.8\%$. El registro de

estas variables se realizó (cada 4 h) con un sensor HOBO® durante 16 semanas a partir de la poda de las plantas madre.

3.4.3. Enraizamiento de estacas

A la semana 18 después de la poda, los brotes adventicios generados en las plantas madre fueron cosechados (Figura 3.1 A y B). Las estacas obtenidas se sumergieron en solución de agua corriente y fertilizante foliar Bayfolan® 1.5 g L⁻¹ durante 20 min para mantenerlos hidratados. Luego, fueron lavadas en solución de jabón líquido comercial e hipoclorito de sodio 1 ml L⁻¹ y se enjuagaron con agua corriente. Finalmente, se trataron con solución del fungicida Captan® 1 g L⁻¹ durante 15 min y se pasaron a un recipiente con hielo para mantenerlos frescos e hidratados.

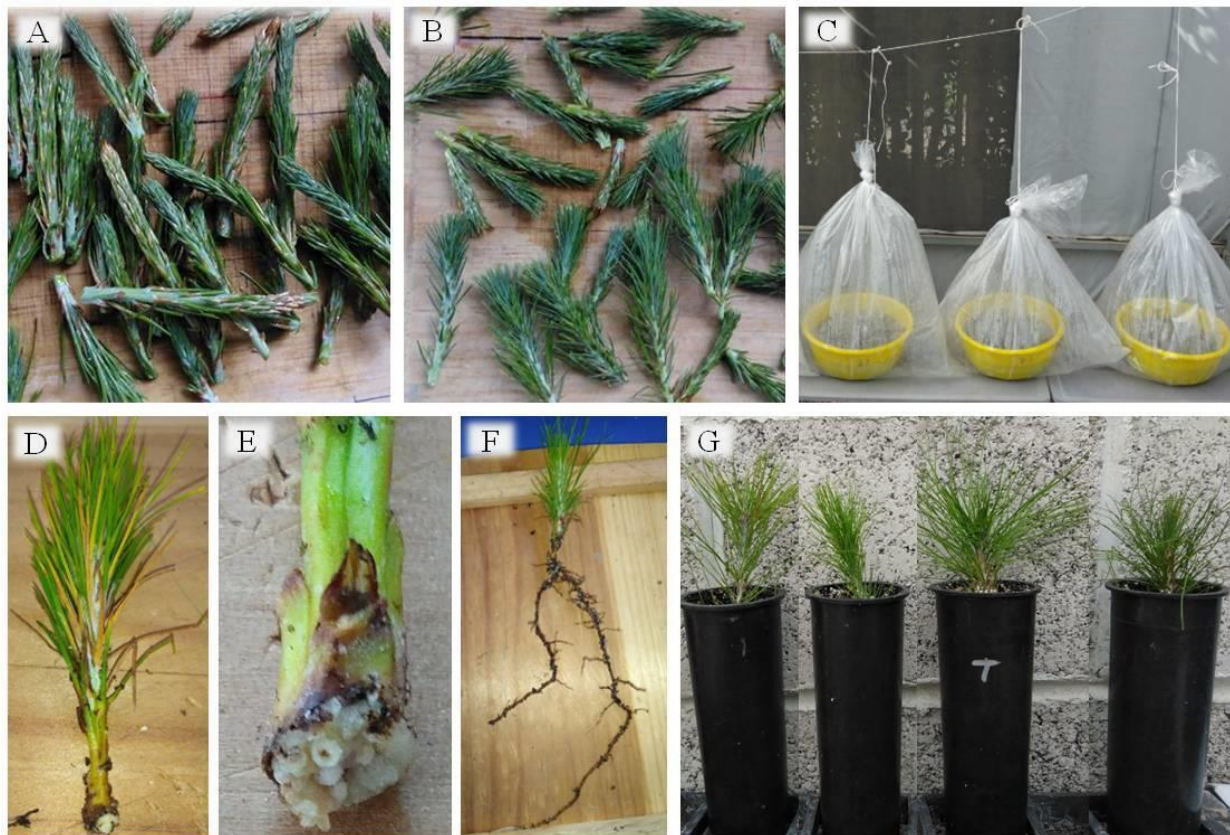


Figura 3.1. Producción y enraizamiento de brotes a partir de plantas madre de *P. patula*. A: brotes de plantas madre a partir de injertos; B: brotes de plántula no injertada; C: cámaras de enraizamiento; D y E: callo de brotes a partir de injerto; F y G: enraizamiento y aclimatación de brotes de planta no injertada.

Cada estaca tuvo una longitud de 5 cm, la cual se ajustó con un corte de 45° en su base. En la zona expuesta por el corte se aplicó la auxina Ácido indol-3-butírico (AIB) en polvo a una

concentración de 5,000 ppm Radix[®]. Posteriormente, las estacas fueron enterradas en el sustrato a una profundidad de 1-1.5 cm desde su base, haciendo previamente el hueco y al final compactando el sustrato en la base de la estaca. Se formaron filas distanciadas cada 5 cm.

El sustrato para enraizamiento fue de una mezcla de perlita y turba de musgo (Peat moss) en proporción 3:1, respectivamente. Se utilizaron 8 L de esta mezcla por cámara de enraizamiento. El sustrato se saturó con 3.7 L de agua purificada por cámara. Cada cámara estuvo conformada con contenedores de plástico redondo de 36 cm de diámetro y 15 cm de altura con orificios en la base y desinfectadas con sales cuaternarias de amonio (Pursue[®]) 10 ml L⁻¹.

Las cámaras fueron cubiertas con bolsas de plástico transparente de 0.8 x 1.2 m para mantener la humedad ambiental y para evitar problemas fitosanitarios se asperjó el interior con una solución de agua y sales cuaternarias de amonio 3 ml L⁻¹. Las cámaras con las estacas establecidas se mantuvieron en condiciones de invernadero durante seis semanas (Figura 3.1 C). Las estacas que desarrollaron raíces adventicias se pasaron a tubetes individuales de 320 ml en condiciones de invernadero para su aclimatación (Figura 3.1 G).

3.4.4. Diseño experimental y análisis de datos

Se aplicó un diseño experimental completamente al azar. Para la etapa de inducción de brotes fueron seis bloques y cuatro para la etapa de enraizamiento. Se establecieron cinco tratamientos, evaluando las plantas madre de injertos de cuatro genotipos superiores (T1: G105, T2: G106, T3: G114 y T4: G115) y planta no injertada a partir de semilla (T5). En la primera etapa, la unidad experimental constó de cinco injertos o plantas, respectivamente y en la etapa de enraizamiento de 5 estacas.

Las variables evaluadas en la inducción de brotes fueron: plantas madre que emitieron brotes adventicios (%) a la semana siete y 16; número, longitud (cm) y diámetro (mm) de los brotes solamente a la semana 16. Semanalmente se registró la respuesta en la formación de los brotes para describir su desarrollo fenológico. Las variables evaluadas en el enraizamiento de estacas fueron: estacas vivas (%) y estacas enraizadas (%) a los tres meses de haberse puesto en las cámaras de enraizamiento.

Se realizó un análisis de varianza a los datos de las variables evaluadas en cada una de las dos etapas (inducción de brotes y enraizamiento), correspondientes a los cinco tratamientos. Posteriormente, a las variables que presentaron diferencia estadística se les aplicó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey ($p \leq 0.05$), mediante el procedimiento Mixed del paquete Statistical Analysis System versión 9.4 (SAS, 2013).

Los datos de la variable de número de brotes y las evaluadas en porcentaje al no cumplir con el supuesto de normalidad se transformaron con la función $[T = \log_{10}(Y)]$ y $[T = \arcseno(\sqrt{Y})]$, respectivamente antes de realizar el análisis de varianza y prueba de Tukey, posteriormente se retransformaron a las unidades originales con la función $[Y = 10^T]$ y $[Y = 100 \text{ seno}^2(T)]$, respectivamente. (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022). Se utilizó el mismo modelo para las dos etapas del experimento:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

Donde: $i = 1, 2, \dots, t$, $j = 1, 2, \dots, r$: t = número de tratamientos, j = número de bloques = número de repeticiones; Y_{ij} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición j del tratamiento i ; μ = media general; τ_i = efecto del tratamiento i ; B_j = efecto del bloque j ; ϵ_{ij} = error experimental $i = T1, T2, T3, T4$ y $T5$; $j = 1, 2, 3, \dots$ repeticiones.

3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos para todas las variables evaluadas (Cuadro 3.1).

Cuadro 3.1. Valores de significancia generados en el análisis de varianza del porcentaje de plantas madre que formaron brotes a las 7 y 16 semanas, número de brotes promedio por planta y tamaño de los brotes [longitud (cm) y diámetro (mm)] a la semana 16 en las plantas madre de *Pinus patula* podadas y sujetas a los tratamientos establecidos.

Fuente de variación	Brotes (%) a la semana		Número de brotes/planta	Tamaño de brotes	
	7	16		Longitud	Diámetro
Bloque	0.1723	0.7778	0.2853	0.3065	0.1333
Tratamiento	0.0023	0.0159	0.0001	0.0001	0.0001

3.5.1. Formación de brotes

En la evaluación a la semana siete se observó que el inicio de la brotación no fue homogéneo entre genotipos de planta injertada, lo que dificultó cosechar los brotes en una sola fecha. El 45.8% de las plantas madre de injerto iniciaron la formación de brotes adventicios entre las primeras 7 semanas. Las plantas madre del T3: G114, produjeron diferencias de más del 20 a 40% de brotes que el de las otras plantas injertadas, pero fue similar al de las plantas madre no injertadas (T5), misma capacidad de respuesta a la poda (Cuadro 3.2).

Cuadro 3.2. Valores medios y error estándar (\pm) del porcentaje de plantas madre que formaron brotes a las 7 y 16 semanas, número de brotes por planta y tamaño de los brotes [longitud (cm) y diámetro (mm)] en las plantas madre de *Pinus patula* podadas y sujetas a los tratamientos establecidos.

Tratamiento	Brotes (%) a la semana		Número de brotes/planta	Tamaño de brotes	
	7	16		Longitud	Diámetro
T1	46.7 \pm 8.4 b	83.3 \pm 10.9 ab	2.3 \pm 0.1 b	5.5 \pm 0.6 ab	4.2 \pm 0.4 bc
T2	36.7 \pm 9.5 bc	70.0 \pm 11.2 b	1.9 \pm 0.2 b	5.5 \pm 0.5 ab	5.1 \pm 0.2 a
T3	70.0 \pm 8.6 a	96.7 \pm 3.3 a	2.7 \pm 0.3 b	6.0 \pm 0.3 a	3.8 \pm 0.1 cd
T4	30.0 \pm 6.8 c	96.7 \pm 3.3 a	2.6 \pm 0.2 b	4.0 \pm 0.2 bc	4.8 \pm 0.2 ab
T5	70.0 \pm 6.8 a	96.7 \pm 3.3 a	7.5 \pm 0.9 a	2.6 \pm 0.1 c	3.0 \pm 0.1 d

Medias con letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). T1: G105; T2: G106; T3: G114; T4: G115; T5: planta no injertada.

De manera similar a nuestros resultados, en plantas madre de *P. taeda* a partir de semilla las diferencias genéticas entre familias fueron evidentes en la formación de brotes (Rowe *et al.*, 2002). En *P. jaliscana* encontraron gran variación en la producción de brotes de acuerdo al genotipo de la planta madre (Aparicio-Rentería *et al.*, 2006). Esta variación responde al factor genético, ya que hay genotipos con mayor capacidad de brotación que otros dentro de una misma especie (Rezende *et al.*, 2014). También se ha señalado que influyen otros factores como la altura del tallo en la que se realiza la poda, la nutrición, la edad, la fecha y la intensidad de poda, el balance hormonal de la planta madre, la luz, la temperatura y la humedad (Rowe *et al.*, 2002; Cuevas-Cruz *et al.*, 2015; Escamilla-Hernández *et al.*, 2020).

El estímulo para la formación de brotes adventicios se da en respuesta a factores de estrés como defoliación, poda, fuego y sequía (Jiménez-Casas y Zwiazek, 2014). Al eliminar el ápice de la planta madre por medio de la poda, se pierde dominancia apical y las yemas laterales pueden ser liberadas de la dormancia por la reducción en los niveles de auxina, las citocininas producidas en las raíces se transportan hacia arriba y pueden actuar en las yemas para promover su desarrollo (Ning *et al.*, 2013; Read y Bavougian, 2013). Este proceso fisiológico se da como respuesta de la planta para mantener una mayor biomasa viva (Smith *et al.*, 2018).

Para la evaluación final (semana 16) presentaron diferencias de más de 27% los tratamientos T3, T4 y T5 que desarrollaron brotes adventicios respecto al T2 (Cuadro 3.1). La mayoría de las plantas madre a partir de injerto lograron formar brotes (87%), así como la planta no injertada (97%) (Cuadro 3.2).

Del 70-97% de las plantas madre, a partir de injerto, formaron brotes a pesar de que las púas injertadas provienen de árboles de 11 y 15 años de edad con producción de estructuras reproductivas. A la fecha no se han documentado datos sobre inducción de brotes en plantas madre injertadas (con púas de árboles adultos) en especies de pino. En general, los estudios se han enfocado en plántulas menores de dos años y producidas con semilla, como en *Pinus leiophylla* (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015), *P. radiata*, *P. taeda* (Wu, 2019), *P. hartwegii* (Rivera *et al.*, 2021) y *P. patula* (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022).

Para árboles de mayor edad se ha reportado la inducción de brotes adventicios con árboles del híbrido *Pinus elliottii* var. *elliottii* x *P. caribaea* var. *hondurensis* de cuatro años de edad (Cabrera *et al.*, 2022). Es difícil que en coníferas adultas se produzcan brotes adventicios (Wendling *et al.*, 2014), debido a la transición de la fase juvenil a la madura que trae cambios progresivos en la capacidad de desarrollarlos (Hartmann *et al.*, 2014).

Solo algunas coníferas como *P. leiophylla* presentan capacidad de rebrote en etapa adulta (Jiménez-Casas y Zwiazek, 2014). Posiblemente al injertar las púas de árboles adultos sobre patrones jóvenes se favoreció la formación de brotes. Wendling *et al.* (2014) indicaron que el rebrote es una característica de plántulas juveniles que se confiere del patrón a la púa al injertar. En este estudio se demuestra que pueden establecerse plantas madres injertadas de árboles adultos de *P. patula* con capacidad de producir brotes.

3.5.2. Número de brotes

Se presentó diferencia significativa en el número de brotes adventicios a la semana 16 (Cuadro 3.1). El testigo mostró el valor más alto con 7.5 brotes en promedio por planta madre y tuvo diferencias con los otros cuatro tratamientos correspondientes a plantas injertadas, que emitieron entre 1.9 y 2.7 brotes por planta madre (Cuadro 3.2). El número de brotes se vio afectado por el origen de la planta madre (injerto). Sin embargo, el genotipo dentro de este grupo no tuvo efecto. En contraste, plántulas de 18 meses de *P. jaliscana* sí presentaron variación en el número de brotes (0 a 27) entre genotipos (Aparicio-Rentería *et al.*, 2006).

En promedio se formaron 2.4 brotes por planta madre a partir de injertos. Wendling *et al.* (2015) señalaron que la baja productividad inicial es común por la adaptación del rameto al sistema de manejo como planta madre. Hernández y Rubilar (2012) obtuvieron entre 4 y 10 brotes totales por planta madre de tres años de edad en *P. radiata* originadas de semilla. El mayor número de brotes en general, se formó en las primeras 11 semanas y después se detuvo considerablemente. El T5 produjo tres veces más brotes totales que las plantas madre a partir de injerto (T1-T4); el T3 (G114) y el T4 (G115) produjeron más que el T1 y T2 (Figura 3.2).

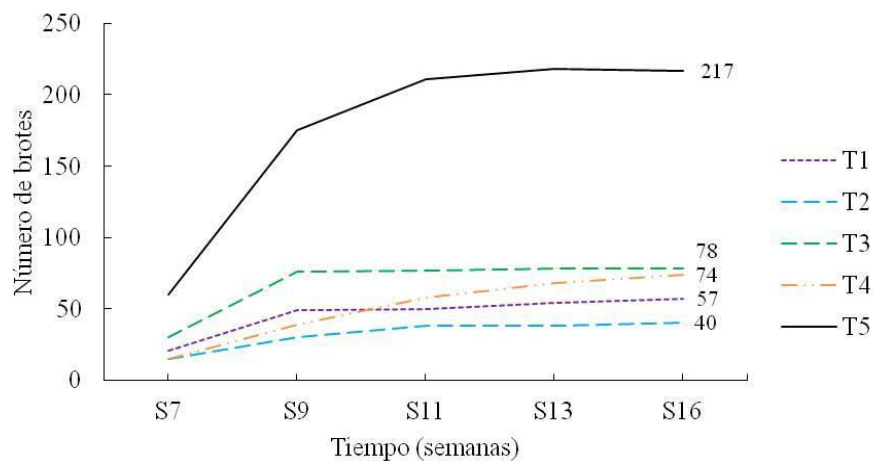


Figura 3.2. Número total de brotes por tratamiento producidos entre la semana siete (S7) y la 16 (S16) después de la poda; cada tratamiento constituido por 30 plantas madre de *Pinus patula*. Plantas injertadas: T1 (G105), T2 (G106), T3 (G114), T4 (G115) y T5 (plantas no injertadas).

Aunque logró multiplicarse el material vegetal de los genotipos de interés, quizás sea necesario amplificar aún más el número de brotes por planta madre ya que en algunos casos las podas no son suficientes para inducir y producir la cantidad requerida (Inoti *et al.*, 2017). La fertilización

de las plantas madre podría ayudar a aumentar la producción de brotes (Martínez-Alonso *et al.*, 2012; Inoti *et al.*, 2017). Particularmente al aumentar el nitrógeno se incrementa el número de brotes por planta madre (Ford *et al.*, 2014); aunque también debe analizarse previamente el estado nutricional de la planta para detectar insuficiencias y mejorar su vigor, a mayor vigor mayor producción de brotes (Cabrera *et al.*, 2022).

La fertilización con nitrógeno en plantas madre de *P. taeda* y *P. radiata* aumentó los niveles de carbohidratos mejorando la producción de brotes (Rowe *et al.*, 2002; Hernández y Rubilar, 2012). El desarrollo y crecimiento de rebrotes depende en gran medida de las reservas de carbono existentes en los tejidos de la planta madre (Smith *et al.*, 2018).

La severidad del tipo de estrés producido a las plantas madre (poda) también puede influir en el número de brotes (Jiménez-Casas y Zwiazek, 2014). Podas constantes en plantas madre de *P. jaliscana* aumentaron progresivamente la producción de brotes (Aparicio-Rentería *et al.*, 2006); Bautista-Ojeda *et al.* (2022) podaron hasta tres veces las plantas madre de *P. patula*. Por lo tanto, para aumentar la producción de brotes puede considerarse aplicar podas frecuentes o más severas.

3.5.3. Longitud de brotes

La longitud del brote presentó diferencias significativas entre los tratamientos evaluados (Cuadro 3.1). En promedio se obtuvieron 5.3 cm de longitud del brote de plantas madre a partir de injerto y las de planta no injertada de 2.6 cm (Cuadro 3.2). En los brotes de plantas madre a partir de injerto el promedio en longitud más alto lo presentó el T3 (6.0 cm) ya que inició su formación más rápido y tuvo diferencia solo con el T4 de 2.0 cm. Martínez-Alonso *et al.* (2012) no detectaron efecto del origen genético de las plantas madre en la longitud del brote de *P. pinaster*.

El bajo crecimiento de brotes del T5 pudiera atribuirse a que distribuyeron sus recursos en un gran número de brotes afectando su crecimiento. Bautista-Ojeda *et al.* (2022) recomendaron eliminar los brotes débiles de cada planta madre de *P. patula* para reducir la variabilidad en vigor y optimizar la distribución de recursos favoreciendo el crecimiento de los remanentes.

Es importante considerar la longitud del brote de acuerdo con su objetivo final, sea púa para injerto, explante para cultivo *in vitro* o estaca para enraizamiento (Foster *et al.*, 2000; Sodr e y

Gomes, 2019). Escamilla-Hernández *et al.* (2020) recomendaron para *P. patula* una longitud del brote de 7-9 cm si va a utilizarse para enraizamiento, Rivera-Rodríguez *et al.* (2016) obtuvieron para este mismo fin brotes de 8-10 cm y Ford *et al.* (2014) de 8 cm. Los brotes del G114 (T3) son los que se acercaron más a esta longitud recomendada.

Del total de brotes formados a la semana 16 un porcentaje medio a bajo tuvo una longitud ≥ 5 cm, esto es el T1 (53), T2 (38), T3 (53), T4 (19) y T5 (3%). Esta variación dificulta tener una cosecha en una sola fecha, ya que el inicio de la formación de brotes no fue el mismo para cada genotipo. Este comportamiento también se observó entre plantas madre de un mismo genotipo y hasta dentro de una misma planta, ya que tuvieron brotes de diferentes tamaños, desde recién formados hasta los que ya habían detenido su crecimiento (Figura 3.3 E).

Para este estudio el crecimiento de los brotes fue menor al reportado en otras especies de pino de 7-12 cm (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015; Escamilla-Hernández *et al.*, 2020). Esta menor longitud puede estar relacionada a la fecha de poda a las plantas madre (octubre) cuando las plantas están en un periodo de dormancia y no hay alargamiento visible del brote ocasionado por factores ambientales y fisiológicos (Viveros-Viveros y Vargas-Hernández, 2007). Rowe *et al.* (2002) obtuvieron el mayor número de brotes con ≥ 9 cm de longitud en primavera y la menor longitud en invierno. Además de la fecha de poda, Hernández y Rubilar (2012) sugirieron desarrollar esquemas de fertilización para optimizar la elongación de los brotes ya que al aumentar la concentración de nitrógeno los brotes elongaron de 4.5 cm con 0 mg L⁻¹ hasta 8.7 cm al fertilizar con 400 mg L⁻¹. Este efecto se debió a que los niveles elevados de nitrógeno promueven una rápida división y elongación celular (Martínez-Alonso *et al.*, 2012).

3.5.4. Diámetro de brotes

Hubo diferencias para el diámetro de los brotes. En promedio el diámetro de los brotes a partir de injertos fue de 4.5 y para el T5 (planta no injertada) de 3.0 mm. El valor promedio más alto se presentó con el T2 (5.1 mm) con diferencia de 0.9, 1.3, 0.3 y 2.1 mm con el T1, T3, T4 y T5, respectivamente (Cuadro 3.2). Escamilla-Hernández *et al.* (2020) recomendaron para *P. patula* brotes con diámetro promedio de 2.5-3.0 mm para fines de enraizamiento. Los brotes del T5 tuvieron un crecimiento similar a lo reportado por estos autores, ya que ambos fueron originados de plantas de semilla. Dentro de las plantas madre a partir de injerto, los brotes del T3 tuvieron el

valor promedio más cercano al diámetro recomendado para enraizamiento. En otras especies de pino se han obtenido brotes ≤ 3 mm a partir de plantas madre: en *P. leiophylla* de 1.5 a 2.0 mm (Cuevas-Cruz *et al.*, 2015), *P. radiata* de 2.4-2.9 mm (Hernández y Rubilar, 2012) y de 2-3 mm en *P. taeda* (Foster *et al.*, 2000).

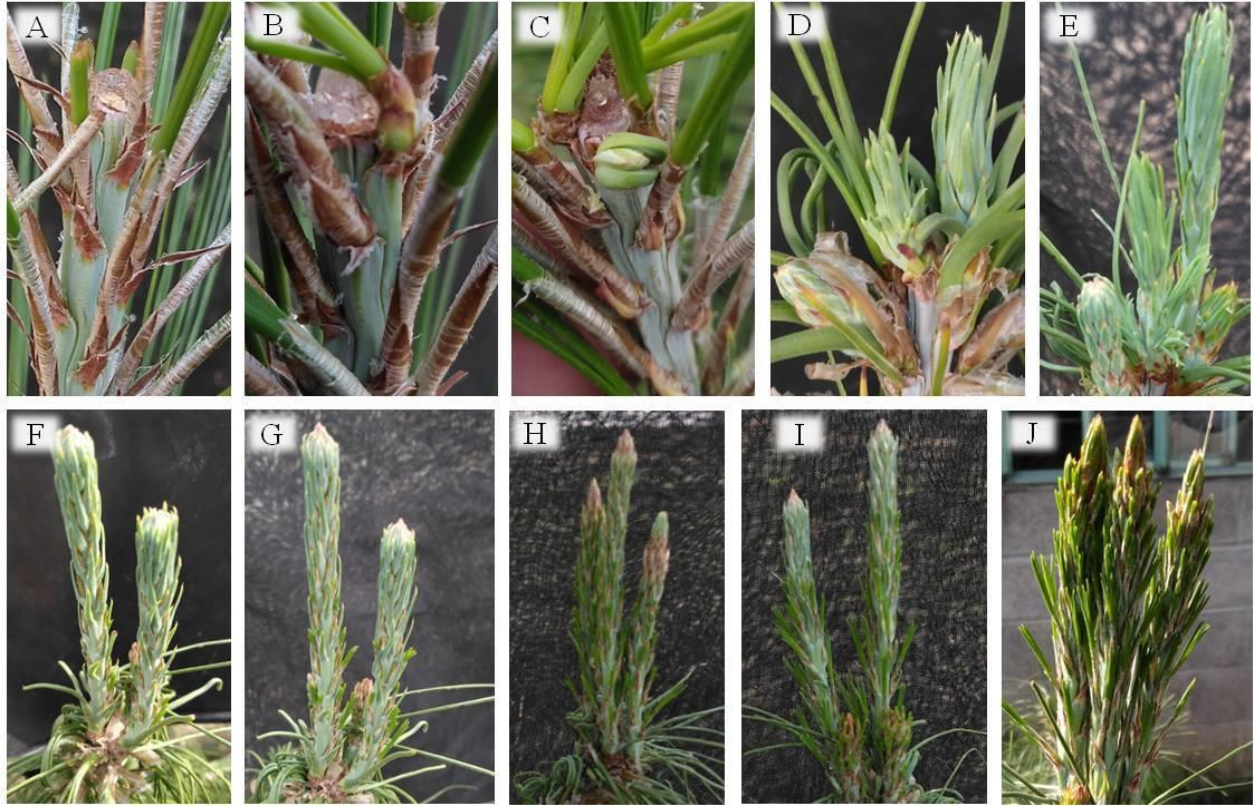


Figura 3.3. Fenología de la formación de brotes adventicios a partir de injertos manejados como plantas madre de *P. patula*. A: poda de la planta madre; B: semana 2-6 con abultamiento en la base de algunos fascículos cercanos al área de poda; C: semana siete, inicio de la brotación; D-G: semana 8-14 crecimiento en longitud de los brotes y desarrollo de hojas primarias; H-J: semana 15-16 redujeron crecimiento e iniciaron desarrollo de hojas secundarias (acículas unidas al fascículo).

Los diámetros medios de brote de las plantas madre obtenidos en este estudio de las plantas madre del T1, T2, T3 y T4, fueron superiores a los que se han reportado y quizás se deba a que son púas de árboles adultos injertadas y esta condición influyó en la formación de brotes más gruesos en comparación a los que genera la misma especie, pero en estado de plántula originada de semilla. También hay que considerar que habrá brotes de genotipos que sean morfológicamente más adecuados para enraizamiento y otros como el T2 (5.1 ± 0.2 mm) con mayor diámetro. Pocas veces se consideran las relaciones entre las características morfológicas

del brote en su enraizamiento, los estudios se han enfocado a aspectos fisiológicos, hormonales y del ambiente (Foster *et al.*, 2000).

3.5.5. Enraizamiento de brotes

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas en la supervivencia y el enraizamiento de brotes ($p \leq 0.05$) (Cuadro 3.3). A los tres meses después de establecidas las estacas, la supervivencia de los brotes procedentes de plantas madre no injertadas (T5) fue de 100% y presentó diferencias de 25 a 50% con las de plantas madre injertadas (T1, T2, T3 y T4), que en promedio fue de 63.8% (Cuadro 3.3). El T3 (G114) presentó el valor más alto de supervivencia en plantas injertadas con diferencia de 25% respecto al T1 (G105).

Cuadro 3.3. Valores medios y error estándar (\pm) de los porcentajes de supervivencia y enraizamiento de los brotes para los tratamientos evaluados en el experimento de enraizamiento de estacas obtenidas de plantas madre de *Pinus patula*.

Tratamiento	Supervivencia (%)	Brotos enraizados (%)
	0.0449 [†]	0.0001 [†]
T1	50.0 \pm 10.0 c	0.0 \pm 0.0 b
T2	65.0 \pm 9.6 bc	0.0 \pm 0.0 b
T3	75.0 \pm 12.6 b	0.0 \pm 0.0 b
T4	65.0 \pm 17.1 bc	0.0 \pm 0.0 b
T5	100.0 \pm 0.0 a	20.0 \pm 0.0 a

Diferencias estadísticas con $^{\dagger}p \leq 0.05$. Medias con letras diferentes en cada columna son estadísticamente diferentes (Tukey, $p \leq 0.05$). Plantas madre de injerto: T1 (G105), T2 (G106), T3 (G114), T4 (G115), T5 (planta no injertada).

La mejor respuesta en la supervivencia de las estacas del G114, quizás sea resultado de la capacidad específica de cada genotipo de mantener vivas las estacas bajo estas condiciones experimentales (Medina *et al.*, 2007). No hay información acerca de la supervivencia de estacas de plantas madre a partir de injerto en especies del género *Pinus*, solamente existen antecedentes de estacas a partir de plántulas menores de dos años originadas de semilla. Escamilla-Hernández *et al.* (2020) y Rivera-Rodríguez *et al.* (2016) reportaron supervivencia $\geq 90\%$ de estacas de *P. patula* de 3-5 meses después de ponerlas a enraizar. Estos resultados son similares a los obtenidos en este estudio por el T5 por tener mismo origen (plántulas de semilla).

Se detectaron diferencias en el porcentaje de estacas enraizadas (Cuadro 3.3). El 20% de las estacas a partir de plántula no injertada correspondientes al T5 lograron desarrollar raíces adventicias con longitud de raíz primaria de 13.9 ± 2.6 cm y 4.8 ± 1.3 en raíces secundarias promedio (Figura 3.1 F). Ninguno de los cuatro genotipos evaluados logró desarrollar raíces (Cuadro 3.3). Solo se tienen antecedentes de enraizamiento de estacas de plántulas originadas de semilla. Los resultados obtenidos por el T5 son similares a lo reportado por Rivera-Rodríguez *et al.* (2016) que lograron enraizar brotes de plantas madre de *P. patula* entre 10 y 35%. Para la misma especie recientemente se han reportado valores más altos de enraizamiento entre 42 y 77% (Escamilla-Hernández *et al.*, 2020), hasta 99% (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022).

Las estacas a partir de injerto que permanecieron vivas a los tres meses solo formaron un abultamiento (callo) en la base del tallo de la estaca resultado de la división celular (Figura 3.1 D y E) (Hartmann *et al.*, 2014). La mezcla y proporción de sustrato utilizada para este estudio perlita y turba (proporción 3:1) incrementa la aireación y se ha relacionado con la formación de callo, como se demostró en estacas de *Taxodium distichum* (L.) Rich. y *P. patula* (King *et al.*, 2011; Escamilla-Hernández *et al.*, 2020).

El factor de mayor influencia en el nulo enraizamiento de las estacas de injerto se atribuye a la edad de los árboles originales (11 y 15 años), que ya se encontraban en la etapa de madurez fisiológica con la producción de estructuras reproductivas. La capacidad para formar raíces tiende a disminuir con la edad debido al aumento de los inhibidores del enraizamiento (Inoti *et al.*, 2017). Aunque se esperaba que al injertar las yemas de árboles adultos sobre patrones jóvenes pudieran inducirse características juveniles como la capacidad de formar y desarrollar raíces adventicias; sin embargo, esto no sucedió. Hartmann *et al.* (2014) y Wendling *et al.* (2014) argumentaron que la talla más pequeña, complejidad menor y cerca del sistema de raíces, pudieran producir brotes más vigorosos y menos lignificados con mayor capacidad de enraizamiento.

Si bien, los brotes obtenidos de injerto son morfológicamente similares a los del testigo (Figura 3.1 A y B), solo los de plántula no injertada desarrollaron raíces. Esto indica que existen otros factores como hormonales, nutrimentales o ambientales que están impidiendo aún su enraizamiento (da Costa *et al.*, 2013; Inoti *et al.*, 2017).

Las auxinas juegan un papel central en el enraizamiento adventicio y aunque se aplicaron de forma exógena (5,000 ppm) no se logró inducir su formación. Una alternativa para tratar de solucionar este problema sería haciendo más ciclos de injerto previos (Read y Bavougian, 2013). Se ha documentado que el injerto en serie es el método más consistente y utilizado para restaurar gradualmente características juveniles en especies forestales adultas por el recurrente injerto de púas sobre patrones juveniles (Wendling *et al.*, 2014). A través de injertos sucesivos se ha podido obtener enraizamiento de brotes de árboles adultos y el número de ciclos de injerto ha variado (2 a 6) dependiendo de la especie, pero fueron suficientes tres ciclos para obtener brotes capaces de formar raíces en *Pinus oocarpa* Schiede ex Schltdl. y *P. caribaea* Morelet (Wendling *et al.*, 2014; Santin *et al.*, 2015).

3.6. CONCLUSIONES

Las plantas madre de *Pinus patula* injertadas y podadas tienen la capacidad de formar y desarrollar brotes adventicios como la planta no injertada. Sin embargo, los brotes no logran emitir raíces adventicias.

El factor genotipo influye en las características morfológicas de los brotes adventicios; los brotes de las plantas madre de un genotipo presentaron características morfológicas similares a las recomendadas para enraizamiento de estacas para esta especie.

CAPÍTULO IV. COMPATIBILIDAD DE PÚAS DE *Pinus patula* SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM., INJERTADAS EN PATRONES DE SIETE ESPECIES DE PINO

4.1. RESUMEN

Los injertos en patrones de especies diferentes a la especie de la púa pueden conferir mayor prendimiento, supervivencia o crecimiento en campo. El objetivo fue evaluar la compatibilidad de injertos de *Pinus patula* sobre patrones de siete especies de pino esperando mejores resultados sobre patrones filogenéticamente más relacionados a la púa. Se injertaron púas de *P. patula* sobre patrones de *P. greggii*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. cembroides*, *P. ayacahuite*, *P. hartwegii* y *P. patula* (testigo). Un mes después del injertado se evaluó el prendimiento, al mes seis el crecimiento en longitud y de acículas del injerto y a los ocho meses la supervivencia. Los siete tratamientos se establecieron en un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. El análisis de varianza detectó diferencias para todas las variables. Se obtuvo mayor prendimiento inicial en patrones de *P. ayacahuite* (80%), *P. patula* (70%) y *P. teocote* (70%). A los ocho meses la mayor supervivencia fue en patrones de *P. patula* y *P. teocote* ambas con 35%. El mayor crecimiento del injerto ocurrió en patrones de *P. patula* (13 cm), y éste superó al de los injertos sobre *P. pseudostrobus*, *P. ayacahuite* y *P. hartwegii*, por 30, 78 y 90%, respectivamente. Los injertos con patrones de *P. greggii* presentaron el mayor crecimiento de acículas (29.9 cm). El prendimiento varió con la especie de patrón, siendo cero para *P. cembroides*. La supervivencia y crecimiento del injerto se favoreció en patrones filogenéticamente más cercanos y el crecimiento de acículas varió respecto a la especie del patrón.

Palabras clave: huerto semillero, injerto interespecífico, patrón, relación filogenética, resistencia a sequía.

**COMPATIBILITY OF SCIONS OF *Pinus patula* SCHIEDE EX SCHLTDL. et CHAM.,
GRAFTED ON SEVEN PINE SPECIES ROOTSTOCKS**

4.2. ABSTRACT

Grafts on rootstocks from species other than that of the scion can confer a higher success, survival, or field performance. The aim was to evaluate the compatibility of *Pinus patula* grafts on seven pine species expecting better results on rootstocks phylogenetically more related to the scion. *P. patula* scions were grafted on *P. greggii*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. cembroides*, *P. ayacahuite*, *P. hartwegii* and *P. patula* (control) rootstocks. One month from establishment, we evaluated graft success, at the month six, we assessed graft length growth and graft needles, and at month eight, we evaluated survival. The seven treatments were established according to a complete random block design with four replicates. The variance analysis detected differences for all the variables. The higher initial success was obtained on *P. ayacahuite* (80%), *P. patula* (70%) and *P. teocote* (70%) rootstocks. At month eight, the highest survival was on *P. patula* and *P. teocote* rootstocks, both with 35%. The highest graft growth occurred on *P. patula* rootstocks, which overpassed by 30, 78 and 90 %, that of grafts on *P. pseudostrobus*, *P. ayacahuite* and *P. hartwegii*, respectively. The grafts on *P. greggii* rootstocks showed the highest needle growth (29.9 cm). Success varied with rootstock species, being zero for *P. cembroides*. Graft survival and graft growth were favored on rootstocks phylogenetically closer to *P. patula* and needle growth varied depending of the rootstock species.

Keywords: drought resistance, interspecific graft, phylogenetic relationship, rootstock, seed orchard.

4.3. INTRODUCCIÓN

Un injerto es la unión entre dos órganos de plantas de origen diferente que interactúan entre sí y continúan su crecimiento y desarrollo como una sola planta funcional. Está integrado por la púa (parte aérea) y el patrón (sistema de raíces) (Pérez-Luna *et al.*, 2020a). Las partes del injerto pueden ser de la misma especie y variedad (intraespecíficos e intravarietales) o de diferentes (interespecíficos e intervarietales). Los injertos interespecíficos se han utilizado con gran éxito para aumentar la productividad y resistencia a factores adversos en la agricultura, fruticultura y horticultura (Warschefsky *et al.*, 2016; Castro-Garibay *et al.*, 2017), pero también presentan potencial para ser utilizados en la silvicultura (Han *et al.*, 2019).

Diversos autores señalan que la afinidad taxonómica de las especies en injertos intraespecíficos tiene mayor compatibilidad debido a las similitudes anatómicas, fisiológicas y bioquímicas entre las partes del injerto (Goldschmidt, 2014; Melnyk, 2017; Pérez-Luna *et al.*, 2020a). Suele pensarse que por usar plantas de la misma especie la tasa de prendimiento del injerto será más alta (Castro-Garibay *et al.*, 2017).

Sin embargo, se han obtenido resultados variables en injertos interespecíficos que han presentado compatibilidad alta, media y baja (Melnyk, 2017). Solorio-Barragán *et al.* (2021) encontraron 80% de supervivencia al injertar yemas de *Pinus rzedowskii* Madrigal & M. Caball. sobre patrones de *Pinus pinceana* Gordon & Glend., 5% menor que al injertar en su misma especie. Pérez-Luna *et al.* (2020b) injertaron *Pinus engelmannii* Carr. con la misma especie y con el híbrido *P. engelmannii* x *P. arizonica* Engelm. var. *arizonica*, y en ese caso, la supervivencia del híbrido fue mayor al 58% respecto a los injertos de la misma especie. Guadaño *et al.* (2016) sugirieron injertar *Pinus pinea* L. en *Pinus halepensis* Mill. por su mayor resistencia a sequía, pero disminuyó el prendimiento hasta 40% y su crecimiento en campo fue menor que al injertar sobre su misma especie. En otro estudio, púas de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. fueron injertadas en dos diferentes especies de pino, con mejores resultados sobre patrones de *P. douglasiana* Martínez (Villaseñor y Carrera, 1980).

La compatibilidad del injerto entre diferentes especies, así como las características y el grado en que influye el patrón en el desempeño de la púa han sido poco exploradas (Han *et al.*, 2019). Con este tipo de injertos puede incrementarse la productividad, la capacidad de adaptación a

ambientes diferentes, la resistencia a plagas y enfermedades, y el estrés por factores abióticos (sequía, salinidad, exceso o déficit hídrico), acelerar o aumentar la fructificación, mejorar la compatibilidad del injerto o para mantener un tamaño más pequeño que favorezca la cosecha de conos en huertos semilleros asexuales (Castro-Garibay *et al.*, 2017; Han *et al.*, 2019; Solorio-Barragán *et al.*, 2021).

En México existe gran potencial en injertos para buscar combinaciones favorables y mejorar la compatibilidad entre especies del género *Pinus*, ya que se distribuyen 49 (40%) de las aproximadamente 120 especies en el mundo (Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014).

Injertar púas de genotipos superiores de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. var. *patula* en patrones de otras especies de pino ayudaría a incrementar el potencial productivo de la especie al poder establecer huertos semilleros asexuales en los programas de mejoramiento genético. Un problema podría ser la compatibilidad entre especies, por lo que es necesario primero investigar al respecto. Este trabajo plantea estudiar la compatibilidad de *P. patula* (púa) con patrones de *P. patula*, *P. greggii* var. *australis* Donahue et López, *P. teocote* Schiede ex Schltdl. et Cham., *P. pseudostrobus* Lindl., *P. cembroides* Zucc., *Pinus ayacahuite* Ehren. y *P. hartwegii* Lindl. Las primeras tres especies, pertenecen a la subsección *Oocarpae* y *P. pseudostrobus* y *P. hartwegii* a la subsección *Ponderosae* del subgénero *Pinus*. *P. ayacahuite* y *P. cembroides* son más alejadas taxonómicamente (subgénero *Strobus*) a la especie de la púa (Gernandt *et al.*, 2005; Lira, 2020). La selección de los patrones se basó en el uso de especies contrastantes respecto a la cercanía taxonómica con la especie de púa utilizada (*P. patula*).

El objetivo del estudio fue evaluar la compatibilidad inicial del injerto de *P. patula* sobre patrones de siete diferentes especies de pino para identificar que patrón es más compatible en el prendimiento, supervivencia y crecimiento en longitud de la púa y de las acículas del injerto. La premisa es que las especies más cercanas taxonómicamente presenten mayor compatibilidad inicial.

4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

El experimento se estableció en el Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado en los 19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO a 2,249 m de altitud. Cuatro meses antes de realizar los injertos, las plantas a utilizarse como patrón de las siete especies se trasplantaron a envase de

plástico con capacidad de 1 L, en un medio de crecimiento con la mezcla base de turba de musgo, perlita y vermiculita (60-20-20, respectivamente) con fertilizante de lenta liberación Multicote® 18-6-12 + 2MgO + ME de ocho meses a dosis de 8 g L⁻¹.

El riego de la planta patrón se aplicó en promedio tres veces por semana con regadera manual, ajustando el pH del agua a 5.7 con ácido fosfórico, adicionado con fertilizante soluble Peters Profesional® 20-20-20, a razón de 1 g L⁻¹ una vez por semana. Las plantas patrón tenían entre 18 y 24 meses de edad al momento de injertar y cada especie con características morfológicas particulares (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Procedencia, edad y características morfológicas de las especies de pino utilizadas como plantas patrón en injertos interespecíficos de *Pinus patula*.

Especie de patrón	Edad (meses)	Procedencia	Altura (cm)	Diámetro (mm)
<i>Pinus patula</i>	18	Chignahuapan, Puebla	58.7 ± 1.1	7.1 ± 0.2
<i>Pinus greggii</i>	18	Chignahuapan, Puebla	60.0 ± 1.3	7.3 ± 0.5
<i>Pinus teocote</i>	18	Acaxochitlán, Hidalgo	43.6 ± 1.0	5.3 ± 0.1
<i>Pinus pseudostrobus</i>	24	Tulancingo, Hidalgo	35.4 ± 1.0	7.7 ± 0.5
<i>Pinus cembroides</i>	24	Zimapán, Hidalgo	22.3 ± 0.5	7.9 ± 0.3
<i>Pinus ayacahuite</i>	24	Huayacocotla, Veracruz	51.8 ± 2.5	8.4 ± 0.3
<i>Pinus hartwegii</i>	24	Cofre de Perote, Veracruz	24.6 ± 1.1	9.8 ± 0.4

En marzo de 2021 se recolectaron yemas (púas) de un solo árbol superior de *Pinus patula* (G40) de 16 años de edad, seleccionado en 2018 por superioridad en altura (16.9 m), diámetro normal (26.8 cm) y rectitud de fuste dentro del huerto semillero sexual depurado, ubicado en el ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, de Chignahuapan, Puebla en los 19° 57' 36.09'' LN y 98° 06' 18.92'' LO a 2,592 m de altitud (Figura 4.1 A). El criterio para usar púas de un solo árbol fue para evitar la influencia del factor genotipo en el experimento. Al momento de la recolecta, las yemas estaban en crecimiento activo, vigorosas y libres de plagas y enfermedades aparentes, con longitud y diámetro promedio de 20.0 cm y 4.7 mm, respectivamente, pero aun sin formar acículas (Figura 4.1 B).

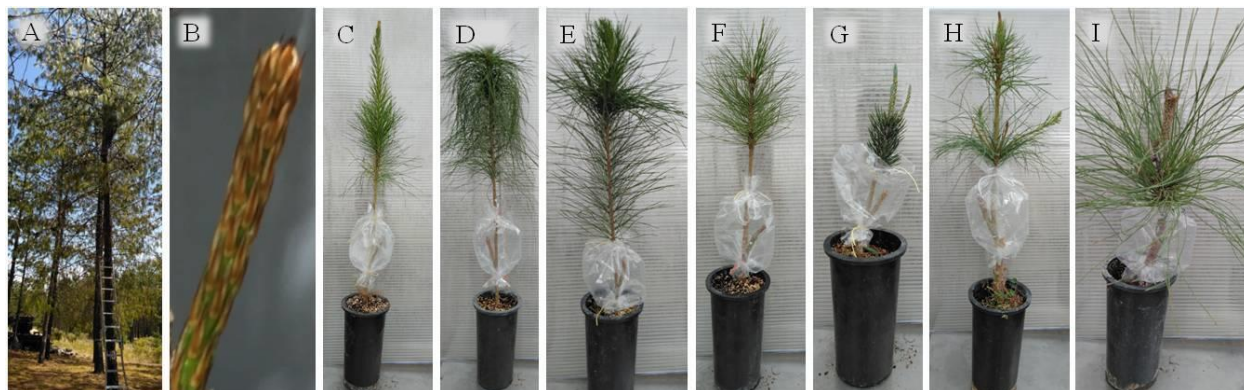


Figura 4.1. Injertos interespecíficos de *Pinus patula*. A: árbol donador de púas de *Pinus patula* G40; B: yemas utilizadas como púas para los injertos; injertos sobre patrones de diferentes especies del género *Pinus*: C: *P. patula*; D: *P. greggii*; E: *P. teocote*; F: *P. pseudostrobus*; G: *P. cembroides*; H: *P. ayacahuite*; I: *P. hartwegii*.

Las yemas fueron recolectadas, de manera indistinta, de cualquier parte de la copa del árbol mediante tijeras con extensión. Una vez teniendo las yemas a pie del árbol, se humedecieron, envolvieron en papel periódico y guardaron en bolsas plásticas. Enseguida, se transportaron dentro de una nevera con hielo a las instalaciones del Colegio de Postgraduados, donde se mantuvieron en refrigeración a 4 °C. Los injertos se realizaron al día siguiente de su recolecta. Antes de injertar, las yemas se lavaron con jabón líquido e hipoclorito de sodio a razón de 1 ml L⁻¹; posteriormente, se sumergieron en solución de agua con fungicida Captan 50[®] a dosis de 1.5 g L⁻¹ durante 10 min; finalmente, se pusieron en la hielera para mantenerlas frescas e hidratadas durante el proceso de injertado.

Las yemas o púas fueron ajustadas a una longitud de 7 cm mediante un corte en la base. En todos los casos la técnica utilizada fue el injerto lateral. Primero se realizó la hendidura en el tallo del patrón; con cúter se hizo un corte de 2 cm de longitud y 80° de inclinación a la altura de 5 a 10 cm a partir de la base del tallo del patrón, dependiendo de la morfología de la planta, ya que variaba de acuerdo con la especie de patrón (Figura 4.1 C-I). Después, a la púa se le hicieron dos cortes con bisturí y navaja del número 12 para darle forma de cuña en la parte basal exponiendo dos planos del cambium. Posteriormente, se hizo coincidir el cambium de ambas partes al insertar la púa en la hendidura del patrón. Enseguida, para sellar la zona injertada se colocó una tira de plástico (“hule cristal delgado” de 1 cm de ancho y 50 µm de grosor) con varias vueltas alrededor de la zona. Finalmente, una bolsa de polietileno transparente (15 x 25 cm) fue colocada

sobre el injerto para evitar su deshidratación, sujetándola por la parte superior e inferior (Figura 4.1 C-I).

Las actividades de manejo post-injertación incluyeron: la apertura de la bolsa de forma paulatina entre la tercera y quinta semana; el plástico en el punto de unión se quitó a los dos meses y medio (cuando se observó la cicatrización completa); al observar el desarrollo de acículas en la púa injertada, se inició con la poda (eliminación) de la parte aérea del patrón en tres etapas (2, 3 y 4 meses después de injertar), eliminando aproximadamente un tercio de la parte aérea en cada fecha, hasta dejar solo la yema injertada como líder de la planta. Los injertos se mantuvieron bajo malla sombra aluminet al 50% con temperatura promedio de 19.5 ± 0.5 , máxima de 27.4 ± 0.3 y mínima de 11.9 ± 0.5 °C, humedad relativa promedio de 48.7 ± 1.3 , máxima de 67.1 ± 2 y mínima de $32.5 \pm 1.2\%$. La temperatura y humedad relativa se monitoreó con un sensor HOBO®. El riego y fertilización continuaron con el mismo manejo aplicado durante la producción de la planta patrón.

El experimento se estableció con un diseño en bloques completos al azar con cuatro repeticiones. En cada bloque se establecieron siete tratamientos correspondientes a las siete especies de patrón utilizadas (T1: *P. patula*, T2: *P. greggii*, T3: *P. teocote*, T4: *P. pseudostrobis*, T5: *P. cembroides*, T6: *P. ayacahuite* y T7: *P. hartwegii*) tomando a los injertos con patrones de *P. patula* como testigo. La unidad experimental constó de 5 injertos, realizando 140 injertos en total. Las variables evaluadas fueron: 1) prendimiento (%) a los 30 días; 2) supervivencia (%) a los ocho meses después de injertar, considerando las púas vigorosas, turgentes y con coloración verde característico de yema viva. Las púas color café, deshidratadas, sin turgencia y vigor, se consideraron como “no prendidas o muertas”; 3) crecimiento en longitud del injerto (cm), ésta se obtuvo con la diferencia entre la longitud inicial de la púa (7 cm) y su longitud a los seis meses después del injertado; 4) para la misma fecha se evaluó la longitud de acículas (cm), la cual se midió a la mitad del follaje que había desarrollado la púa injertada. De cada injerto se seleccionaron cuatro acículas cubriendo los cuatro puntos cardinales y se midió su longitud desde la unión del fascículo en el tallo principal hasta la punta de la acícula, y se obtuvo un promedio por injerto.

Se realizó un análisis de varianza para detectar diferencias estadísticas entre tratamientos y posteriormente la prueba de comparación de medias de Tukey, mediante el procedimiento Mixed

del paquete Statistical Analysis System versión 9.4 (SAS, 2013). Los datos de las variables evaluadas en porcentaje, al no cumplir con el supuesto de normalidad, se transformaron con la función $[T = \arccos(\sqrt{Y})]$ antes de realizar el análisis de varianza y posteriormente se retransformaron a las unidades originales con la función $[Y = 100 \text{ seno}^2(T)]$ (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

Donde: $i = 1, 2, \dots, t$, $j = 1, 2, \dots, r$: t = número de tratamientos, j = número de bloques = número de repeticiones; Y_{ij} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición j del tratamiento i ; μ = media general; τ_i = efecto del tratamiento i ; B_j = efecto del bloque j ; ϵ_{ij} = error experimental $i = T1, T2, T3, \dots$; $j = 1, 2, 3, \dots$ repeticiones.

4.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En todo el experimento se obtuvo 45% de prendimiento inicial y la supervivencia se redujo a 22.5% al momento de la evaluación final. Las púas injertadas tuvieron un crecimiento en longitud y de acículas de 2.1 y 8.7 cm, respectivamente. El análisis de varianza detectó diferencias significativas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos para todas las variables, debido a la diversidad entre las siete especies de patrón probadas (Cuadro 4.2).

Cuadro 4.2. Valores de significancia de los resultados del análisis de varianza en el experimento de púas de *Pinus patula* injertadas en patrones de siete diferentes especies de pino, evaluando el prendimiento a los 30 días, supervivencia a los ocho meses, la elongación del brote y longitud de acículas a los seis meses después del injertado.

Fuente de variación	Prendimiento (%)	Supervivencia (%)	Crecimiento del injerto (cm)	Longitud de acículas (cm)
Bloque	0.7715	0.4155	0.4970	0.0559
Tratamiento	0.0037	0.0001	0.0001	0.0001

4.5.1. Prendimiento y supervivencia

El mayor porcentaje de prendimiento se obtuvo con los patrones de *P. ayacahuite*, *P. patula* y *P. teocote* con más del 65% a los 30 días después del injertado; los patrones de *P. ayacahuite* sobresalieron en tendencia positiva con prendimiento mayor a 10% respecto a los injertos en *P. patula* y *P. teocote* (Cuadro 4.3). Estos tres tratamientos contrastan con *P. cembroides*, que fue el único con el que no hubo prendimiento (Cuadro 4.3). Este tipo de variación en el porcentaje de

prendimiento también se observó cuando se injertaron púas de *P. patula* sobre patrones de su misma especie, en *P. douglasiana* y *P. pseudostrobus*, pues presentaron prendimiento de 88, 51 y 32%, respectivamente (Villaseñor y Carrera, 1980).

Cuadro 4.3. Valores medios y error estándar (\pm) de los tratamientos probados en el experimento de púas de *Pinus patula* injertadas en patrones de siete diferentes especies de pino, evaluando el prendimiento a los 30 días, supervivencia a los ocho meses y crecimiento en longitud y longitud de acículas a los seis meses después del injertado.

Tratamiento	Prendimiento (%)	Supervivencia (%)	Crecimiento del injerto (cm)	Longitud de acículas (cm)
<i>P. patula</i>	70 \pm 12.9 a	35 \pm 5.0 a	13 \pm 1.7 a	21.4 \pm 0.4 b
<i>P. greggii</i>	50 \pm 5.8 ab	30 \pm 5.8 a	9.3 \pm 0.1 ab	29.9 \pm 1.2 a
<i>P. teocote</i>	70 \pm 19.1 a	35 \pm 5.0 a	9.5 \pm 0.7 ab	21.9 \pm 1.5 b
<i>P. pseudostrobus</i>	25 \pm 5.0 ab	15 \pm 5.0 ab	9.1 \pm 0.4 b	22.5 \pm 0.6 b
<i>P. cembroides</i>	0.0 \pm 0.0 b	0.0 \pm 0.0 b	-	-
<i>P. ayacahuite</i>	80 \pm 20.0 a	5 \pm 5.0 b	2.8 \pm 0.5 c	11.9 \pm 0.3 c
<i>P. hartwegii</i>	20 \pm 14.1 ab	15 \pm 5.0 ab	1.3 \pm 0.4 c	8.1 \pm 2.9 c
Promedio	45 \pm 8.5	22.5 \pm 4.6	7.5 \pm 1.5	19.3 \pm 1.6

Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas entre tratamientos (Tukey, $p \leq 0.05$).

A los 60 días después de injertar se presentó la mayor mortalidad de injertos, atribuyéndose tanto a una posible incompatibilidad fisiológica y anatómica por las diferencias entre la especie de patrón con la púa, así como a factores ambientales, pues se observó exceso de humedad dentro de la bolsa que cubría al injerto, producto de lluvias atípicas abundantes en la zona, lo cual generó problemas fitosanitarios (pudrición) en el punto de unión del injerto.

Después de este periodo se mantuvo relativamente constante la supervivencia. Barrera-Ramírez *et al.* (2020) encontraron que el mayor porcentaje de mortalidad en injertos de *P. pseudostrobus* (Mirov) Harrison var. *oaxacana*, se presentó en los primeros 40 días. Así mismo, Pérez-Luna *et al.* (2020b) observaron la estabilización de la supervivencia de injertos de *P. engelmannii* x *P. arizonica* var. *arizonica* sobre patrones de *P. engelmannii* a los 60 días posteriores al injertado. Los factores ambientales son decisivos en el periodo de prendimiento del injerto. Aparicio-Rentería *et al.* (2013) reportaron la reducción en la supervivencia de 100 a 35% a los cinco meses después de injertar por eventos climáticos extremos: temperaturas altas, lluvias

abundantes, granizo y heladas, por lo que requiere contar con infraestructura especial para producción de injertos: vivero cubierto con malla sombra y además otro techo retráctil de plástico de invernadero para protegerlos de lluvia, granizo y mantener la temperatura adecuada, mediante la apertura o cierre del techo plástico, dependiendo de las condiciones ambientales. Pérez-Luna *et al.* (2021) recomiendan la implementación de sistemas de aire acondicionado de ser necesario.

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) entre los tratamientos probados en la supervivencia de los injertos a los ocho meses posteriores al injertado (Cuadro 4.2). El porcentaje de supervivencia de los injertos prendidos se redujo de forma variable de acuerdo con la especie de patrón. *P. ayacahuite* fue el que presentó mayor mortalidad (94%), a diferencia de *P. hartwegii* (25%), *P. greggii* y *P. pseudostrobus* ambos con 40%, que mostraron ser menos susceptibles a los factores que influyeron en la mortalidad de los injertos en este periodo de tiempo (Cuadro 4.3).

Los injertos de *P. patula* sobre patrones de su misma especie fue de los tratamientos con el valor más alto de supervivencia. En injertos intraespecíficos generalmente se espera mayor compatibilidad por la afinidad taxonómica (Goldschmidt, 2014), ya que la estructura genética es similar entre los componentes del injerto (Darikova *et al.*, 2011). Villaseñor y Carrera (1980) reportaron la mayor supervivencia a los 100 días en injertos de *P. patula* sobre su misma especie (85%) en comparación con patrones de *P. pseudostrobus* y *P. douglasiana* en los que se presentó menor supervivencia (59 y 28%, respectivamente). Solorio-Barragán *et al.* (2021) injertaron *P. rzedowskii* sobre cinco especies de patrón, logrando la mayor supervivencia también en injertos intraespecíficos.

Los injertos sobre patrones de diferente especie a la de la púa con mayor supervivencia se presentaron en *P. teocote* y *P. greggii*. Gernandt *et al.* (2005) realizaron reconstrucciones filogenéticas con datos moleculares de regiones de ADN de cloroplastos y núcleo, ubicando a *P. patula* en la misma subsección que *P. teocote* y *P. greggii*, por lo que dichas especies están relacionadas filogenéticamente. Bajo el supuesto de que las características anatómicas probablemente han evolucionado de manera similar en especies filogenéticamente cercanas puede sustentarse la posibilidad de obtener injertos compatibles con estas dos especies de pino utilizadas como plantas patrón para púas de *P. patula* (Solorio-Barragán *et al.*, 2021). Mientras

que las partes del injerto sean más cercanas filogenéticamente tendrán menores diferencias anatómicas, morfológicas y fisiológicas (Darikova *et al.*, 2011). Solorio-Barragán *et al.* (2021) encontraron alta compatibilidad al injertar púas de *P. rzedowskii* sobre *P. pinceana* Gordon & Glend., ambas especies pertenecen a la subsección *Cembroides*.

La precocidad en la floración, las altas tasas de crecimiento en altura y diámetro, con potencial para adaptarse a condiciones limitantes de humedad y suelos pobres son algunas características que pudieran aprovecharse de *P. greggii* como planta patrón al injertarle púas de *P. patula* (Ruiz-Farfán *et al.*, 2015). Por otro lado *P. teocote* es otra alternativa que puede utilizarse como patrón para *P. patula*, pues es una de las especies de pino con más amplia distribución en México y podría conferir resistencia a déficit de agua o tolerancia a suelos poco fértiles, además de tener capacidad de respuesta cuando son cortados, lo que pudiera favorecer el porcentaje de prendimiento, por lo cual se ha sugerido como posible patrón para *P. patula* por la forma circular y continua de su cambium vascular (Gernandt y Pérez-de la Rosa, 2014; Castro-Garibay *et al.*, 2017). No se ha documentado información sobre injertos de *P. patula* sobre estas dos especies de patrón, lo cual hace necesario el realizar ensayos en campo para determinar en qué grado las características de interés de los patrones influyen en la púa injertada por medio de su interacción, pues el conocimiento sobre este tema es limitado (Han *et al.*, 2019).

Se han realizado estudios de combinaciones púa-patrón utilizando patrones mejor adaptados a condiciones de sequía, con el objetivo de incrementar la eficiencia del aprovechamiento de agua y nutrimentos del suelo (Choi *et al.*, 2020). Esta combinación puede modificar la densidad o diámetro de los vasos o traqueidas del xilema para aumentar la conductividad hidráulica y también cambiar la extensión horizontal y lateral del sistema de raíces para mejorar la disponibilidad de agua (Han *et al.*, 2019). Guadaño *et al.* (2016) injertaron *Pinus pinea* L. sobre *Pinus halepensis* Mill. por su mayor resistencia a sequía y suelos calizos. Han *et al.* (2019) injertaron *Populus cathayana* Rehder en patrones de *Populus deltoides* Bart. ex Marsh con más resistencia a sequía con resultados favorables.

Por otro lado, con patrones de *P. pseudostrobus* y *P. hartwegii* se presentó supervivencia baja (ambas 15%). Aunque hubo poca compatibilidad con estas especies de patrón, es importante señalar que sí se logró obtener injertos funcionales. Estos resultados quizás se deban a que, aunque pertenecen al mismo subgénero (*Pinus*) son de diferente subsección (*Ponderosae*)

(Gernandt *et al.*, 2005). De manera similar Solorio-Barragán *et al.* (2021) encontraron compatibilidad, aunque mayor supervivencia (50%) al injertar púas de *P. rzedowskii* sobre patrones de *P. ayacahuite* var. *veitchii*, especies de pino clasificadas en el mismo subgénero, pero diferente subsección.

Se ha documentado supervivencia de 35% a los 93 días de injertar *P. patula* sobre *P. pseudostrobus* (Villaseñor y Carrera, 1980). En injertos intraespecíficos de *P. pseudostrobus* la supervivencia también ha sido baja a los 90 días (20.5%) (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020), efecto que también fue observado en injertos intraespecíficos de *P. engelmannii* (13.3%) (Pérez-Luna *et al.*, 2020b). Lo anterior manifiesta que pudiera haber mayor dificultad de prendimiento en ciertas especies de pino, quizás por factores relacionados con las características del cambium y de sus estructuras de conducción internas (Castro-Garibay *et al.*, 2017; Pérez-Luna *et al.*, 2019).

Al final de la evaluación, la menor supervivencia se presentó con patrones de *P. ayacahuite*; y sobre patrones de *P. cembroides* no hubo compatibilidad. Probablemente de los principales factores que influyeron en este resultado, es que ambas especies de patrón son las más alejadas taxonómicamente a *P. patula* ya que pertenecen a otro subgénero (*Strobus*) (Gernandt *et al.*, 2005). Posiblemente las características anatómicas, morfológicas y fisiológicas fueron distintas e impidieron la unión exitosa entre los tejidos de la púa y los del patrón (Darikova *et al.*, 2011).

4.5.2. Crecimiento del injerto

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas ($p \leq 0.05$) en el crecimiento del injerto a los seis meses (Cuadro 4.2). Hartmann *et al.* (2014) indicaron que la púa reanuda exitosamente su crecimiento y desarrollo cuando la conexión vascular se establece para que ésta pueda obtener agua y nutrimentos. El valor promedio más alto fue sobre patrones de su misma especie (13 cm) y presentó diferencias de menor crecimiento con *P. pseudostrobus*, *P. ayacahuite* y *P. hartwegii* de 30, 78 y 90%, respectivamente (Cuadro 4.3). Estos resultados coinciden con los reportes en injertos intraespecíficos donde generalmente se ha obtenido mejor respuesta por la afinidad anatómica e histológica de las partes del injerto (Castro-Garibay *et al.*, 2017).

Los patrones de *P. patula*, aunque tuvieron un valor mayor en comparación con *P. greggii* y *P. teocote* no presentaron diferencias estadísticas con ellos, pues los tres estuvieron en el rango de diferencia en crecimiento de 3.7 cm. La cercanía taxonómica de estas dos especies con *P. patula*

(misma subsección) pudiera estar relacionada con el crecimiento similar obtenido (Gernandt *et al.*, 2005). Dado que las evaluaciones en este estudio se limitaron a la etapa de vivero, es necesario evaluar el desempeño en crecimiento de estas combinaciones de injerto púa-patrón después de varios años para determinar si los contrastes encontrados son permanentes y descartar la incompatibilidad tardía en los rametos.

Pinus pseudostrobus es una especie con crecimiento relativamente rápido y se asocia con el rango de distribución natural de *P. patula* (Perry, 1991). Sin embargo, los injertos con patrones de *P. pseudostrobus* presentaron menor crecimiento que sobre su misma especie (*P. patula*). Un ejemplo de la aplicación de injertos interespecíficos es el uso de portainjertos enanizantes (Gautier *et al.*, 2019). El crecimiento restringido puede aprovecharse para mantener injertos a altura baja en los huertos semilleros asexuales y facilitar su manejo y cosecha de conos (Jayawickrama *et al.*, 1991). Castro-Garibay *et al.* (2017) mencionaron que al injertar *P. patula* sobre *P. radiata* tuvieron menor crecimiento, pero sin reducir la producción de estróbilos, lo cual es favorable en el manejo de huertos semilleros.

En *P. ayacahuite* y *P. hartwegii* no hubo respuesta favorable en el crecimiento del injerto (< 3 cm) (Cuadro 4.3). Particularmente en *P. hartwegii* su hábito de crecimiento pudo haber influido en esta respuesta, pues es una de las especies de pino que menores incrementos presenta y habita en ecosistemas subalpinos a partir de 3,000 m de altura (Manzanilla-Quiñones *et al.*, 2019). Su crecimiento está limitado principalmente por las condiciones ambientales predominantes en dichas zonas (bajas temperaturas y escasa precipitación); además, después de la germinación las plántulas presentan estado cespitoso, por lo cual suspenden su crecimiento en altura e inician un letargo aparente entre dos y seis años; esto pudo haber influido sobre el hábito de crecimiento de la púa de *P. patula* injertada (González-Rosales y Rodríguez-Trejo, 2004; Rivera *et al.*, 2021).

4.5.3. Longitud de acículas

Se presentaron diferencias ($p \leq 0.05$) en el crecimiento promedio de las acículas (Cuadro 4.2). Pudo identificarse la influencia que ejerce la especie de patrón sobre el hábito de crecimiento de las acículas del injerto debido a que las púas provienen de un solo genotipo. El uso de diferentes patrones puede conferir diferencias en el fenotipo o arquitectura de la púa (Gautier *et al.*, 2019; Han *et al.*, 2019). El desarrollo de acículas es un indicativo del prendimiento del injerto. Al

formar un xilema funcional se inicia el crecimiento de estas estructuras debido a la gran demanda de agua que involucra este proceso (Guadaño *et al.*, 2016). Además, estos órganos son los encargados de realizar los procesos de fotosíntesis y transpiración requeridos por la nueva planta (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

Los injertos con patrones de *P. greggii* presentaron el mayor crecimiento de acículas (29.9 cm) y tuvieron diferencias de menor longitud con *P. patula*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. ayacahuite* y *P. hartwegii* de 28, 27, 25, 60 y 73%, respectivamente (Cuadro 4.3). En general acículas más grandes presentan mayor área fotosintética y aumentan la productividad que está relacionada con el crecimiento de las plantas (He *et al.*, 2020). Quizás por esta razón los injertos sobre patrones de *P. hartwegii* y *P. ayacahuite* con el menor crecimiento de acículas, también presentaron el menor crecimiento en longitud del injerto (Figura 4.2). Los portainjertos también pueden alterar la tasa de fotosíntesis y conductancia en los estomas de la púa injertada (Alsina *et al.*, 2011; Han *et al.*, 2019).



Figura 4.2. Injertos interespecíficos prendidos de ocho meses después de haber injertado púas de *Pinus patula* sobre siete diferentes especies del género *Pinus*. A: *P. patula*; B: *P. greggii*; C: *P. teocote*; D: *P. pseudostrobus*; E: *P. ayacahuite*; F: *P. hartwegii*.

La combinación de púa de *P. patula* sobre *P. greggii* como patrón generó acículas más grandes (29.9 cm) que lo reportado para ambas especies. *P. greggii* desarrolla acículas de longitud (10-15 cm) y *P. patula* (15-25 cm) en árboles adultos sin injertar (Perry, 1991).

De acuerdo con la especie de patrón de referencia o testigo (*P. patula*), los injertos con patrones de *P. teocote* y *P. pseudostrobus* no presentaron diferencias de crecimiento de acículas entre las tres especies (21.4-22.5 cm) (Cuadro 4.3). Sin embargo, solamente sobre *P. greggii* desarrollaron

acículas más grandes con diferencia estadística, y sobre *P. ayacahuite* y *P. hartwegii* un crecimiento menor (Figura 4.2 E y F).

La longitud de acículas en plantas sin injertar de *P. ayacahuite* (10-18 cm) y *P. hartwegii* (8-16 cm), es menor que para *P. patula* en estado adulto de árboles sin injertar (Perry, 1991). Estas diferencias morfológicas en la longitud de las acículas deben relacionarse con que estas dos especies de patrón están alejadas filogenéticamente de *P. patula* y presentan diferentes hábitos de crecimiento bajo el supuesto de haber evolucionado separadas (Gernandt *et al.*, 2005). Este mismo hábito de crecimiento se observó en las púas injertadas de *P. patula* sobre patrones de estas dos especies, al desarrollar acículas de menor longitud que sobre patrones de su misma especie. Se detectó que estas dos especies de patrón ejercieron influencia más fuerte en el crecimiento promedio de las acículas que la púa.

El estado cespitoso de *P. hartwegii*, también pudo ser la causa de menor longitud en las acículas que desarrollaron las púas de *P. patula* injertadas sobre esta especie (González-Rosales y Rodríguez-Trejo, 2004). Melnyk (2017) sugirió seleccionar el patrón correcto que influya en el tamaño deseado y vigor del injerto, ya que el portainjerto ejerce un importante control sobre la púa.

4.6. CONCLUSIONES

La compatibilidad entre las siete especies de patrón de pino probadas fue variable.

Las especies de patrón filogenéticamente más cercanas a *Pinus patula* presentan mayor supervivencia del injerto.

Las especies de patrón influyen en el crecimiento de la púa de *Pinus patula* injertada, favoreciéndolo cuando la púa se injerta sobre su misma especie.

Las diferentes especies de patrón afectan de manera particular el hábito de crecimiento de acículas en las púas injertadas de *P. patula*.

CAPÍTULO V. INJERTOS INTERESPECÍFICOS DE *Pinus patula* SOBRE PATRONES DE *Pinus greggii* A TRES ALTURAS DE INJERTADO

5.1. RESUMEN

En injertos interespecíficos, los patrones presentan potencial para incrementar la productividad o conferir resistencia a algún estrés abiótico y la altura de injertado puede llegar a influir en el éxito y crecimiento del injerto. El objetivo fue evaluar la compatibilidad del injerto entre púas de *Pinus patula* obtenidas de plantas madre sobre patrones de *Pinus greggii* a tres alturas de injertado. Las plantas donadoras de púas fueron injertos de 13 meses del genotipo superior de *P. patula* (clon G114) podadas para generar brotes y ser utilizados como púas en un segundo ciclo de injerto. Las púas se injertaron sobre patrones de su misma especie y de *P. greggii* a tres diferentes alturas a partir de la base del tallo del patrón (5, 15 y 20 cm). El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con arreglo factorial y cuatro repeticiones. Se evaluó el prendimiento, la supervivencia, el crecimiento en longitud y el diámetro de la púa y la longitud de acículas. El prendimiento fue de 98% y la supervivencia a los 10 meses de 93%; los injertos crecieron en longitud 37.7 cm en promedio, independientemente de la especie de patrón evaluada. Los injertos sobre *P. greggii* superaron por 0.3 mm el incremento en diámetro a aquellos sobre *P. patula*. Las púas injertadas a 15 y 20 cm superaron en promedio por 10 cm a las injertadas a 5 cm y el incremento en diámetro también se favoreció al injertar más cerca del ápice. Las púas de *P. patula* muestran alta compatibilidad y se favorece su crecimiento con patrones de *P. greggii*; al injertar la púa más cerca del ápice del patrón aumenta el crecimiento del injerto. Por lo anterior, pudiera recomendarse injertos interespecíficos de *P. patula* en *P. greggii* y hacer el injerto cerca del ápice del patrón por los resultados obtenidos y las ventajas que pudiera implicar el uso de esta última especie de patrón para atribuir resistencia a algún estrés abiótico en el sitio de plantación.

Palabras clave: altura de injerto, clon, injertos interespecíficos, planta madre.

INTERSPECIFIC GRAFTS OF *Pinus patula* ON *Pinus greggii* ROOTSTOCKS AT THREE GRAFTING HEIGHTS

5.2. ABSTRACT

In interspecific grafts, rootstocks have potential to increase productivity or confer resistance to some abiotic stresses, while grafting height can influence graft success and growth. The aim of this study was to evaluate the graft compatibility between scions of *Pinus patula* obtained from mother plants on *Pinus greggii* rootstocks at three grafting heights. The scion donor plants were grafts of 13 months of age from the superior genotype of *P. patula* (G114 clone) that were pruned to generate sprouts to be used as scions in a second graft cycle. Scions were grafted on rootstocks of both species on *P. patula* and *P. greggii* at three different heights from the rootstock base (5, 15 and 20 cm). The experiment was established in a complete randomized design with factorial array and four replicates. Success, survival, length and diameter growth of the scion, and needle length were evaluated. The success was 98% and the survival at month 10 was 93%; length growth of the grafts was 37.7 cm in average, regardless of the rootstock species. The grafts on *P. greggii* exceeded 0.3 mm the diameter increase over those on *P. patula*. The grafted scions at 15 and 20 cm overpassed by 10 cm in average those grafted at 5 cm and the scion increase in diameter also was benefited from grafting closer to the rootstock tip. *P. patula* scions showed high compatibility and growth was favored by *P. greggii* rootstocks; when grafting the scion closer to the tip of the rootstock the graft growth increased. Therefore, interspecific grafts of *P. patula* on *P. greggii* and as well as grafting near the rootstock tip is recommended because of the results obtained and the advantages the use of this rootstock species may implicate to attribute resistance to some abiotic stress at the planting site.

Keywords: clone, graft height, interspecific grafts, mother plant.

5.3. INTRODUCCIÓN

Pinus patula Schiede ex Schltdl. et Cham. var. *patula* es una de las especies subtropicales más plantadas en el mundo por su alto potencial productivo (Vargas-Hernández y Vargas-Abonce, 2016). Se distribuye en áreas con temperatura y precipitación media anual de 10 a 16 °C y de 1,000 a 1,500 mm, respectivamente. Se desarrolla óptimamente en sitios con humedad abundante disponible todo el año, en suelos ácidos, profundos y con altos contenidos de materia orgánica (Velázquez *et al.*, 2004). Existe el interés creciente en México y otros países en el mejoramiento genético de la especie que contempla el establecimiento de huertos semilleros asexuales (HSA) a partir de árboles superiores para obtener semilla genéticamente mejorada (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013). Sin embargo, debido al calentamiento global que altera los patrones de temperatura y precipitación, las áreas con déficit de humedad cada vez son más frecuentes, pudiéndose reducir el hábitat adecuado para *P. patula* de 3 a 39% para el año 2050 (van Zonneveld *et al.*, 2009; Han *et al.*, 2019). Dado que las especies de árboles se componen de una serie de poblaciones genéticamente adaptadas al clima local, éstas podrían verse sometidas a estrés y será necesario la adaptación a nuevas condiciones (Sáenz-Romero *et al.*, 2011). Por lo tanto, deben desarrollarse alternativas para establecer esta especie en áreas con déficit de humedad y tratando de mantener su productividad.

Los injertos unen dos genotipos independientes (púa y patrón) que fueron seleccionados para combinar sus características en una sola planta (Kita *et al.*, 2018; Gautier *et al.*, 2019). Han sido ampliamente usados para incrementar la productividad y/o mejorar la resistencia a enfermedades y estrés abiótico como la salinidad, la sequía o las temperaturas no óptimas (Wang *et al.*, 2016). Seleccionando un patrón apropiado, el injerto puede incrementar la eficiencia del uso de los recursos disponibles de agua y nutrimentos (Choi *et al.*, 2020), así como modificar procesos fisiológicos como la fotosíntesis y conductividad hidráulica y morfológicos como extensión lateral y horizontal de raíces (Han *et al.*, 2019).

Con el uso de portainjertos adaptados a condiciones adversas puede ayudarse a la púa a presentar un crecimiento normal aún bajo déficit de agua e incrementar la productividad de la planta injertada en ambientes donde su rendimiento estaría restringido (Dadashpour *et al.*, 2017). Al injertar púas de *Populus cathayana* Rehder con poca resistencia a sequía sobre patrones de *Populus deltoides* Bart. ex Marsh (más resistente a sequía), los árboles compuestos mostraron

resistencia al déficit de agua, con mayor crecimiento del tallo (Han *et al.*, 2019). En Corea se han utilizado portainjertos tolerantes a sequía para la producción de *Malus domestica* Borkh en áreas con baja precipitación (Choi *et al.*, 2020).

Pinus greggii Engelm. ex Parl. es endémico de México, se distribuye en poblaciones aisladas a lo largo de la Serra Madre Oriental en zonas semiáridas y a veces semitropicales; la variedad *Pinus greggii* var. *australis* Donahue *et* López habita en la región sur del área de distribución de la especie (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005). Se ha utilizado en reforestaciones para recuperación de suelos degradados y en plantaciones comerciales en sitios marginales donde no se desarrollan otras especies de pino, ya que tiene capacidad de adaptarse a condiciones limitantes de humedad, suelos pedregosos y pobres en materia orgánica (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005).

Estas características hacen a *P. greggii* una especie con potencial para ser utilizada como planta patrón y conferir características de resistencia a sequía a *P. patula* en áreas con déficit de humedad (Castro-Garibay *et al.*, 2017). Ambos pinos son taxonómicamente cercanos y pertenecen a la subsección *Oocarpae* (Lira, 2020). Sin embargo, primero es necesario evaluar la compatibilidad inicial entre estas dos especies al unirse en un injerto e interactuar como una sola planta.

Por otro lado, se ha determinado que la altura donde se injerta la púa en el patrón es un factor que ejerce efecto sobre el funcionamiento y crecimiento del injerto (Aboutalebi y Hassanzadeh, 2012). Un estudio demostró que el crecimiento es mejor al injertar púas de *Malus x domestica* Borkh más cerca del ápice del tallo del patrón (Karlidag *et al.*, 2016). Sin embargo, Barrera-Ramírez *et al.* (2020) obtuvieron el mayor crecimiento en injertos de *Pinus pseudostrobus* (Mirov) Harrison var. *oaxacana*, cuando el injerto de la púa estuvo más cerca del sistema de raíces. Por lo tanto, estas variaciones sugieren evaluar la altura óptima de injertado que favorezca el éxito y crecimiento de la púa injertada para cada especie en particular.

Además de la especie de patrón y la altura del injerto, otro aspecto a considerar es el origen del material vegetal utilizado como púa. El uso de plantas madre es una alternativa para obtener púas con mayor probabilidad de prendimiento y multiplicar a mayor escala por medio de injerto (Wendling *et al.*, 2014). Mediante podas a las plantas madre se estimula la formación de brotes

adventicios con características juveniles con mayor capacidad de éxito en siguientes ciclos de injerto (Sodré y Gomes, 2019; Riov *et al.*, 2020).

El objetivo del estudio fue evaluar el prendimiento, la supervivencia y el crecimiento en el segundo ciclo de injerto de púas de un genotipo superior de *Pinus patula* sobre patrones de *Pinus greggii* y *P. patula*; así como evaluar el efecto de tres alturas de injertado. Se espera que los injertos interespecíficos probablemente tendrán alta compatibilidad por ser especies cercanas taxonómicamente y por injertar más cerca del ápice del tallo del patrón favorezca el éxito y crecimiento del injerto.

5.4. MATERIALES Y MÉTODOS

5.4.1. Producción de plantas madre

De un huerto semillero sexual depurado, ubicado en los 19° 57' 36.09'' LN y 98° 06' 18.92'' LO a 2,592 m de altitud en el ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, Chignahuapan, Puebla, se seleccionó un genotipo superior de *Pinus patula* (G114) que mostró superioridad en altura, diámetro normal y rectitud del fuste dentro de esta plantación.

Los patrones utilizados para los injertos que dieron origen a las plantas madre fueron de la misma especie (*P. patula*). En el vivero del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo (19° 27' 34.8'' LN y 98° 54' 15.8'' LO a 2,249 m de altitud), se produjeron los patrones en envase de plástico de 1 L, utilizando como sustrato la mezcla base de turba de musgo, perlita y vermiculita (60-20-20%, respectivamente), incluyendo 8 g L⁻¹ de fertilizante de liberación lenta de ocho meses Multicote® (18-6-12 + 2MgO + microelementos). El riego de la planta patrón se aplicó de dos a tres veces por semana con regadera manual, ajustando el pH del agua a 5.7 con ácido fosfórico, adicionado con fertilizante soluble Peters Profesional® (20-20-20), a razón de 1 g L⁻¹ una vez por semana. En estas condiciones se mantuvieron durante 18 meses, edad a la que se injertaron.

Por otro lado, las yemas del árbol superior seleccionado que dieron origen a las plantas madre se recolectaron en abril de 2020, cuando se presenta el principal alargamiento del brote. Las yemas fueron trasladadas al Colegio de Postgraduados donde se mantuvieron a 4 °C. Al día siguiente se injertaron 80 yemas sobre la planta patrón producida mediante la técnica de injerto lateral, la cual

se realizó a 10 cm de la base en el tallo principal del patrón. El 73% de los injertos hechos tuvieron prendimiento a los dos meses del injertado y a los 12 meses permanecieron vivos 66% (52 injertos). En el vivero, los injertos prendidos se mantuvieron en el mismo contenedor y solamente con malla sombra a los lados. El riego y fertilización se aplicaron de manera similar a la producción de planta patrón.

5.4.2. Poda de plantas madre y desarrollo de brotes adventicios

En octubre de 2020, se seleccionaron 50 injertos prendidos (rametos del G114) para ser manejados como plantas madre, a los cuales se les aplicaron dos podas. La primera a los seis meses después del injertado, produciendo brotes adventicios que fueron cosechados dejando uno como líder. Después de siete meses (mayo de 2021) se les aplicó la segunda poda, eliminando 2 cm del ápice del tallo líder de cada planta, con el fin de estimular la formación de brotes adventicios y convertir las plantas injertadas en plantas madre donadoras de púas para injerto (Figura 5.1 A).

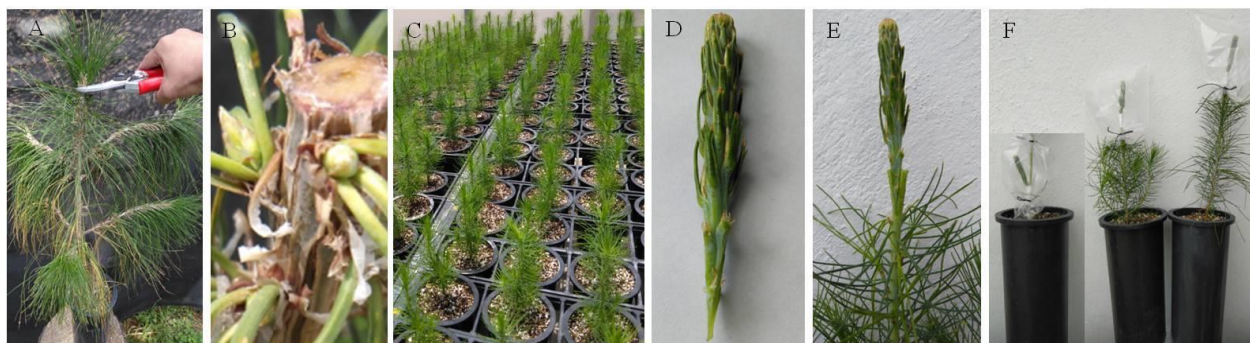


Figura 5.1. Plantas madre para la producción de brotes adventicios utilizados como púas en injertos interespecíficos de *Pinus patula* sobre patrones de *Pinus greggii*. A: poda de plantas madre de *P. patula*; B: formación de brotes adventicios; C: planta patrón de *P. patula* y *P. greggii*; D: brotes utilizados como púas; E: acoplamiento púa-patrón en injerto de hendidura; F: púas injertadas a tres diferentes alturas de la base del tallo del patrón (5, 15 y 20 cm).

Las plantas madre se mantuvieron en las mismas condiciones de riego, fertilización y manejo durante la formación y desarrollo de los brotes. Un mes después de la segunda poda se observó el inicio de la formación de los brotes adventicios en la base de algunos fascículos cercanos al área de poda (Figura 5.1 B). El desarrollo de los brotes tardó aproximadamente otros dos meses después de haberse formado.

5.4.3. Segundo ciclo de injerto

La planta patrón utilizada para este experimento estuvo constituida por dos especies: *Pinus patula* y *Pinus greggii*. Ambas se pusieron a germinar en febrero de 2021 en el vivero forestal del ejido Peñuelas Pueblo Nuevo, municipio de Chignahuapan, Puebla. En julio de 2021 las plántulas se trasladaron al vivero del Colegio de Postgraduados y trasplantaron a tubete de 1 L con la mezcla base igual a la de las plantas madre, previamente descrita. Al momento de realizar los injertos, la planta patrón tenía seis meses de edad con altura promedio de 21.9 y 23.1 cm y diámetro de 3.3 y 4.1 mm en *P. patula* y *P. greggii*, respectivamente (Figura 5.1 C).

El experimento se estableció en el vivero forestal del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, mismo lugar donde se manejaron las plantas madre. El 3 de agosto de 2021 se cosecharon los brotes haciendo la disección de las plantas madre con bisturí y navaja del número 21. Esta actividad se llevó a cabo por la mañana para evitar estrés por deshidratación en los brotes recién cosechados. Antes de ser injertados, las varetas se lavaron con agua, jabón líquido e hipoclorito de sodio 1 ml L⁻¹. Enseguida, se sumergieron en una solución de agua y fungicida en polvo Captan 50[®] 1.5 g L⁻¹ durante 20 min. Finalmente, los brotes fueron cortados a 6 cm de longitud para tener un tamaño homogéneo de púa (Figura 5.1 D).

El mismo día que se cosecharon los brotes de las plantas madre del clon G114 se injertaron sobre las dos especies de patrón a evaluar (*P. patula* y *P. greggii*) a tres diferentes alturas (5, 15 y 20 cm) a partir de la base del tallo principal del patrón. Se utilizó el injerto de hendidura. En esta técnica se hace un corte en forma de bisel en la base del brote con dos planos expuestos del cambium (Figura 5.1 D) y un corte en el patrón dejando también dos planos expuestos para colocar la púa en la hendidura del patrón (Figura 5.1 E). Enseguida se colocó cinta plástica de teflón (Truper[®] de 12.7 mm de ancho y 75 µm de grosor) en el punto de unión para sellar esta área; finalmente se le colocó una bolsa de polietileno transparente de 20.5 x 12 cm y 30 µm de grosor para evitar la deshidratación del injerto (Figura 5.1 F).

Los injertos se mantuvieron bajo malla sombra al 50% durante el prendimiento (dos meses). La apertura de la bolsa se inició a partir de la tercera semana cortando una esquina superior, a la siguiente semana la otra esquina, la siguiente semana toda la parte superior y finalmente se quitó

completamente en la sexta semana. En todos los injertos se quitó la cinta teflón a los dos meses, una vez realizada la cicatrización de las heridas producidas por el injertado (Figura 5.2 B).

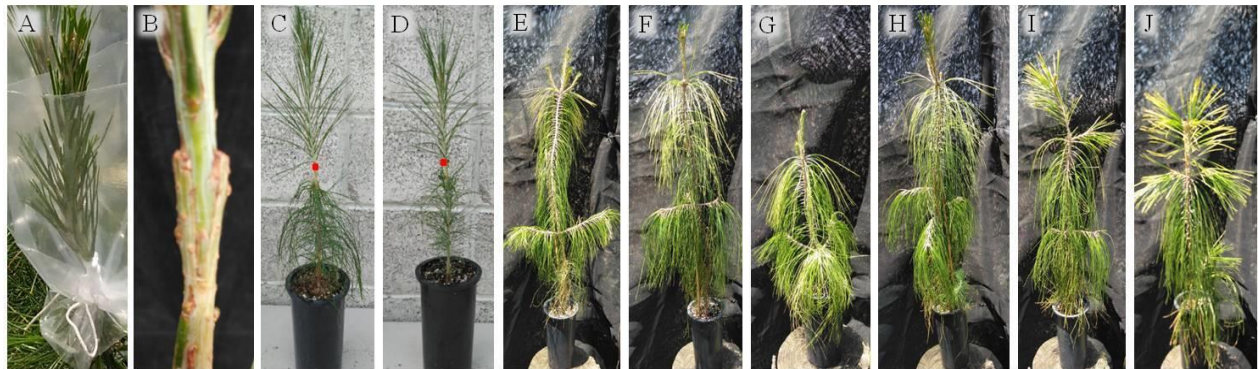


Figura 5.2. Injertos de púas a partir de plantas madre de *Pinus patula* injertadas en patrones de *P. patula* y *Pinus greggii*. A: formación de acículas a tres semanas del injertado; B: cicatrización entre la púa y el patrón a dos meses del injertado; C y D: prendimiento de injerto sobre patrones de *P. patula* y *P. greggii*, respectivamente a los dos meses del injertado (el punto rojo es el punto de unión); E, F y G: injertos de 10 meses sobre *P. patula* injertados a 20, 15 y 5 cm de la base del tallo del patrón, respectivamente; H, I y J: injertos de 10 meses sobre *P. greggii* injertados a 20, 15 y 5 cm de la base del tallo del patrón, respectivamente.

El experimento se estableció en un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial en cuatro bloques considerados como repeticiones; los dos factores evaluados fueron: 1) La especie de la planta patrón con dos niveles (*P. patula* y *P. greggii*) y 2) La altura de injertado con tres niveles (5, 15 y 20 cm a partir de la base del tallo del patrón), generando seis tratamientos, cada tratamiento representado por cinco injertos por bloque, por lo que se realizaron un total de 120 injertos. Se evaluaron las variables de prendimiento (%) a los dos meses, la supervivencia (%) a los 10 meses, el crecimiento de la púa en longitud (cm) se evaluó en dos ocasiones correspondientes al primer y segundo ciclo de crecimiento que presentaron los injertos a los 7 y 10 meses, respectivamente (por la diferencia entre la longitud total de la púa menos la longitud al momento de ser injertada). El diámetro de la púa injertada por arriba de la unión (mm) se evaluó a los 10 meses y la longitud de acículas (cm) a los siete meses. El prendimiento se evaluó considerando como injertos prendidos a las púas vivas, turgentes y de coloración verde y como no prendidos a las púas muertas, deshidratadas y de color café. La supervivencia se evaluó a los injertos vivos y vigorosos. El crecimiento en longitud y el diámetro de la púa injertada se determinaron sacando la diferencia entre sus dimensiones iniciales al momento de injertar con la alcanzada en la toma de datos final. La longitud de acículas maduras

se midió a la mitad del follaje que había desarrollado la púa injertada en su primer ciclo de crecimiento. De cada injerto se seleccionaron cuatro fascículos cubriendo los cuatro puntos cardinales y se midió la longitud de las acículas que los integraban desde la unión del fascículo en el tallo principal hasta la punta de las acículas sacando el promedio por injerto.

A los datos obtenidos de las variables evaluadas se les aplicó el análisis de varianza con el programa estadístico (Statistical Analysis System 9.4 [SAS, 2013]) y posteriormente se hizo la comparación múltiple de medias Tukey ($p \leq 0.05$). Al no cumplir con los supuestos de normalidad, los datos de prendimiento y supervivencia se transformaron con la función [$T = \arcseno(\sqrt{Y})$] antes de realizar el análisis de varianza y posteriormente se retransformaron a las unidades originales con la función [$Y = 100 \text{ seno}^2(T)$] (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022).

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_k + E_i + A_j + EA_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Y_{ijk} = valor de la variable respuesta correspondiente a la repetición k del nivel i de E y nivel j de A ; μ = media general; β_k = efecto del bloque; E_i = efecto de la especie de patrón; A_j = efecto de la altura de injertado; EA_{ij} = interacción especie de patrón x altura de injertado; ϵ_{ijk} = error experimental $i = P. patula$ y $P. greggii$; $j = 5, 15$ y 20 cm a partir de la base del tallo del patrón; $k = 1, 2, 3$ y 4 repeticiones.

5.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de varianza detectó diferencias estadísticas por efecto de la especie de patrón sobre las variables de crecimiento de la púa en longitud a los siete meses y crecimiento en diámetro a los 10 meses. Por efecto de la altura de injertado se presentaron diferencias en casi todas las variables, excepto en el prendimiento y la supervivencia. La interacción entre factores no fue significativa para ninguna de las variables evaluadas (Cuadro 5.1).

En general, el prendimiento y supervivencia de los injertos estuvieron por arriba del 90%. Las púas tuvieron un crecimiento en longitud de 19 cm a los siete meses y en los siguientes tres meses otros 19 cm. En el diámetro del injerto y longitud de acículas se obtuvieron valores promedios de 2.5 mm y poco más de 21 cm, respectivamente (Cuadro 5.2).

Cuadro 5.1. Valores de significancia para las variables respuesta evaluadas, en diferentes especies de patrón y alturas de injertado con púas a partir de plantas madre de *P. patula*.

Fuente de variación	Prendimiento (%)	Supervivencia (%)	Púa injertada			Longitud de acículas (cm)
			Longitud *		Diámetro (mm)	
			Mes 7 (cm)	Mes 10 (cm)		
Especie de patrón (EP)	1.0000	0.6768	0.0054	0.2561	0.0435	0.0635
Altura de injertado (AInj)	0.6346	0.5925	0.0001	0.0001	0.0051	0.0001
EP x AInj	0.2756	0.1295	0.1330	0.1946	0.4609	0.2250

* 7 y 10 meses después del injertado.

5.5.1. Factor especies de patrón

Prendimiento y supervivencia

Pinus greggii como patrón tuvo respuesta similar a los patrones de *P. patula* con las púas injertadas, ambas presentaron el mismo prendimiento cercano a 100% y la supervivencia después de 10 meses mayor a 90% (Cuadro 5.2). La afinidad encontrada en la combinación de *P. patula* y *P. greggii* como púa y patrón, respectivamente, puede estar relacionada con la cercanía taxonómica entre ellas. Gernandt *et al.* (2005) realizaron reconstrucciones filogenéticas con datos moleculares de regiones de ADN de cloroplastos y núcleo, y debido a sus altas coincidencias ubicaron a *P. patula* y *P. greggii* en la misma subsección. Solorio-Barragán *et al.* (2021) evaluaron injertos interespecíficos con púas de *Pinus rzedowskii* Madrigal & M. Caball. sobre patrones de cinco especies de pino, la supervivencia a los seis meses fue de 20 a 85%, atribuyendo la variación a las diferencias filogenéticas y evolutivas entre las especies del mismo género utilizadas, pero sugieren que mientras más cercanas más exitosos. Se ha demostrado que injertos entre diferentes especies, pero del mismo género, pueden sobrevivir formando una unión efectiva (Wang *et al.*, 2016).

Cuadro 5.2. Valores medios y error estándar (\pm) para las variables respuesta evaluadas, en diferentes especies de patrón y alturas de injertado con púas a partir de plantas madre.

Fuente de variación	Prendimiento (%)	Supervivencia (%)	Púa injertada		Diámetro (mm)	Longitud de acículas (cm)
			Longitud*			
			Mes 7 (cm)	Mes 10 (cm)		
<i>Especie de patrón</i>						
<i>P. patula</i>	98.3 \pm 1.7 a	93.3 \pm 2.8 a	17.6 \pm 2.0 b	36.7 \pm 2.3 a	2.4 \pm 0.1 b	20.9 \pm 0.3 a
<i>P. greggii</i>	98.3 \pm 1.7 a	91.7 \pm 3.0 a	20.5 \pm 1.4 a	38.7 \pm 1.4 a	2.7 \pm 0.1 a	21.5 \pm 0.4 a
<i>Altura de injertado (cm)</i>						
5	100.0 \pm 0.0 a	90.0 \pm 3.3 a	12.7 \pm 1.4 c	30.5 \pm 1.4 b	2.3 \pm 0.1 b	22.8 \pm 0.3 a
15	97.5 \pm 2.5 a	92.5 \pm 3.7 a	19.1 \pm 0.9 b	40.3 \pm 1.0 a	2.6 \pm 0.1 ab	20.9 \pm 0.2 b
20	97.5 \pm 2.5 a	95.0 \pm 3.8 a	25.3 \pm 0.9 a	42.2 \pm 1.8 a	2.8 \pm 0.1 a	20.0 \pm 0.1 c
Promedio	98.3 \pm 1.2	92.5 \pm 2.0	19.0 \pm 1.2	37.7 \pm 1.3	2.5 \pm 0.1	21.2 \pm 0.3

* 7 y 10 meses después del injertado. Medias con letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticas entre los niveles de cada factor (Tukey, $p \leq 0.05$).

La compatibilidad de injertar *P. patula* sobre *P. greggii* abre la posibilidad de considerar a esta especie de patrón en estudios para evaluar si puede conferirse a la púa de *P. patula* las características de precocidad en la floración, de adaptación a condiciones limitantes de humedad, suelos pedregosos y pobres en materia orgánica (Ramírez-Herrera *et al.*, 2005; Ruiz-Farfán *et al.*, 2015).

Las áreas con déficit de humedad cada vez son más frecuentes debido al calentamiento global que altera los patrones climáticos principalmente de temperatura y precipitación, lo que puede reducir el hábitat adecuado para *P. patula* (Sáenz-Romero *et al.*, 2011). Los injertos interespecíficos en ciertos casos particulares podrían ser una alternativa para el establecimiento de huertos y plantaciones clonales bajo condiciones limitantes de humedad, donde *P. patula* por sí sola no pudiera prosperar (Dadashpour *et al.*, 2017).

En China, Han *et al.* (2019) injertaron púas de *Populus cathayana* para conferirle mayor resistencia a sequía con patrones de *Populus deltoides*. Guadaño *et al.* (2016) con el mismo propósito evaluaron los injertos de *Pinus pinea* L. en *Pinus halepensis* Mill., pero disminuyó el

prendimiento hasta 40%. En el presente estudio, al injertar *P. patula* sobre patrones de *P. greggii* no afectó el prendimiento, ya que fue igual que al injertarlo sobre su misma especie.

Es sobresaliente el alto porcentaje de prendimiento obtenido (118 injertos exitosos de 120 hechos), lo cual no es frecuente en coníferas; como en *P. pseudostrobus* $\geq 25.5\%$ y *P. patula* 35% (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020), aunque se reportó el prendimiento promedio de 70% en injertos de *P. patula* (González-Jiménez *et al.*, 2022). Después del prendimiento la supervivencia de los injertos fue superior al 90% en la evaluación de 10 meses para las dos especies de patrón evaluadas (Figura 5.2 E-J).

Generalmente en coníferas la supervivencia del injerto disminuye principalmente en los primeros meses debido a factores ambientales, de manejo o incompatibilidad fisiológica, anatómica o genética (Han *et al.*, 2019; Pérez-Luna *et al.*, 2020a). Sin embargo, en la mayoría de injertos en pino se han usado yemas de árboles adultos de campo, que son transportadas hasta la zona de injertado, que se hace al menos el día siguiente. La supervivencia disminuyó 72.1% en 90 días después del injertado en *Pinus pseudostrobus* (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020). En *Pinus engelmannii* Carr. se redujo 67 y 87% en seis meses, principalmente por altas temperaturas y baja humedad relativa (Pérez-Luna *et al.*, 2019).

El alto porcentaje de prendimiento y supervivencia obtenidos en este estudio se atribuye al origen de las púas a partir del manejo de plantas madre, independientemente de la especie de patrón evaluada. El manejo de plantas madre involucra el control óptimo del riego y la fertilización, evitando estrés de la planta donadora (Sodré y Gomes, 2019). Las condiciones de manejo proporcionan ventajas adicionales en la calidad y cantidad de los brotes producidos (Bautista-Ojeda *et al.*, 2022). Además, al haber injertado las púas del árbol adulto original sobre portainjertos jóvenes (1.5 años) para dar origen a las plantas madre, los brotes emitidos por la poda presentan ciertas características juveniles (fisiológicas, morfológicas y hormonales) que pudieron haber influido en la unión más eficiente con las dos especies de patrón evaluadas, contrariamente a lo que sucede cuando las púas provienen de árboles de campo.

El prendimiento aumenta considerablemente cuando las partes del injerto provienen de tejido joven por la capacidad de generar una rápida división y diferenciación celular (Materán *et al.*, 2008). Gautier *et al.* (2019) sugirieron que la rápida unión de los tejidos mediante la

cicatrización y reconexión vascular asegura mayor éxito en los injertos. La cicatrización se completó a los dos meses en el estudio actual (Figura 5.2 B), la unión entre los tejidos fue más rápida que en injertos con yemas provenientes de árboles adultos de campo de *P. patula* sobre patrones de ésta especie realizados de manera similar los que tardan tres meses en presentar la cicatrización completa y formación del callo (González-Jiménez *et al.*, 2022).

Recientemente en Suecia se han establecido plantas madre de plántulas de semilla menores de dos años para producir brotes con el objetivo de ser utilizados como púas para injertar en especies del género *Abies* y *Pinus* (Pérez-Luna *et al.*, 2020a). Sin embargo, a esta edad no puede probarse la superioridad genética. El sistema utilizado en este estudio sobre plantas madre originadas por injerto de un árbol superior adulto (G114) para producir brotes, y estos ser utilizados como púas en el segundo ciclo de injerto, ha sido poco documentado. Fraga *et al.* (2003) indicaron que los injertos sucesivos, pueden producir plantas fisiológica y morfológicamente juveniles adecuadas para siguientes ciclos de injertado. La talla más pequeña del injerto con características juveniles y el corto tiempo en la producción de patrones de pocos meses de haber germinado, hacen el proceso de injertado más rápido y eficiente. Lo anterior asegura altos porcentajes de prendimiento y supervivencia para la clonación a mayor escala de genotipos superiores adultos de *P. patula* por medio de injerto. Se ha logrado más del 90% de prendimiento en mini-injertos de *P. patula* utilizando púas y patrones con características juveniles (Castillo-Martínez *et al.*, 2021).

Crecimiento del injerto

A los siete meses las púas injertadas sobre patrones de *P. greggii* tuvieron crecimiento en longitud mayor a 16.5% en comparación con los injertos sobre *P. patula* (Cuadro 5.2). Esta tendencia de mayor crecimiento (5.5%) en los injertos interespecíficos continuó tres meses después, sin embargo, ya no se detectaron diferencias estadísticas entre las dos especies de patrón evaluadas. La elongación del injerto se observó en el primer y/o segundo mes después de injertar y es indicativo de la unión exitosa entre la púa y el patrón, que reactivan sus actividades fisiológicas y refleja la interacción que se está dando entre ambas (Darikova *et al.*, 2013). Quizás el proceso fisiológico de unión entre las púas de *P. patula* sobre patrones de *P. greggii* fue más rápido favoreciendo el crecimiento inicial en comparación con los injertos intraespecíficos. Mientras más rápida sea la cicatrización de los tejidos, la fisiología de la planta injertada se

reactiva permitiendo dirigir los recursos disponibles para estimular el crecimiento y desarrollo del injerto (Mng'omba, 2013; Gautier *et. al.*, 2019).

Con base en los resultados obtenidos, el crecimiento de las púas injertadas de *P. patula* no se vio afectado al utilizar *P. greggii* como patrón, con crecimiento similar en los primeros 10 meses. Será necesario evaluar el crecimiento posteriormente, para determinar si continúa dicha tendencia. En algunos casos los injertos interespecíficos han mostrado mejores resultados en el crecimiento que los injertos intraespecíficos. Púas de *Larix gmelinii* var. *japonica* Rupr. injertadas sobre el híbrido *Larix gmelinii* x *Larix kaempferi* (Lamb.) Carr. mostraron más rápido crecimiento del brote que sobre su misma especie (Kita *et al.*, 2018). En otro estudio, la combinación de *Populus cathayana* sobre *Populus deltoides* resultó con la mayor tasa de crecimiento en altura del injerto que en injertos intraespecíficos (Han *et al.*, 2019). Incluso a veces la elongación del brote de plantas injertadas ha sido similar al de plantas sin injertar como en injertos interespecíficos de *Abies* (Hinesley y Frampton, 2002).

En los primeros 10 meses después de injertar se registró el crecimiento en altura de la púa injertada cercano a 40 cm (Cuadro 5.2). El crecimiento similar de la púa en las dos especies de patrón pudiera indicar que los patrones de *P. greggii* tuvieron mejor absorción de agua y eficiencia en su uso similar que los patrones de *P. patula*. Han *et al.* (2019) sugirieron que portainjertos de *P. deltoides* podían mejorar el uso eficiente de agua en injertos bajo sequía por una mayor conductividad hidráulica. En manzana se tienen patrones para reducir o aumentar la altura del injerto, ya que el portainjerto puede cambiar el vigor y crecimiento de la púa (Aboutalebi y Hassanzadeh, 2012).

El incremento en diámetro de la púa injertada fue mayor en 0.3 mm al utilizar patrones de *P. greggii* que sobre su misma especie (Cuadro 5.2). Han *et al.* (2019) indicaron que especies de patrón con características adaptativas a déficit de humedad, como en este caso *P. greggii*, pueden llegar a modificar el diámetro o la densidad de traqueidas en el xilema e incrementar la conductividad hidráulica en la púa injertada aumentando la tasa de crecimiento en diámetro. Se ha demostrado que el crecimiento secundario responde principalmente a la disponibilidad de agua (Arzac *et al.*, 2018).

Por ello, al utilizar patrones de *P. greggii* con mayor adaptación a sequía que *P. patula* es probable que se modificaran las estructuras de conducción hidráulica para el uso más eficiente del agua, favoreciendo el crecimiento en diámetro. Ya que la capacidad que tienen las plantas para transportar el agua determina la tasa de fotosíntesis, de crecimiento y de acumulación de materia viva (Alemán-Sancheschúlz *et al.*, 2019). Con base a los resultados obtenidos, pudiera considerarse a *P. greggii* como especie de patrón promisorio para injertar *P. patula* sobre ella, al favorecer características morfológicas de la planta injertada. Sin embargo, será necesario hacer evaluaciones posteriores para determinar si la tendencia de mayor incremento en diámetro continúa a través del tiempo.

En injertos interespecíficos es difícil predecir la influencia del patrón sobre el crecimiento del injerto. Sin embargo, hay evidencias que el patrón altera la tasa de crecimiento, ya que en algunos casos causa rápido crecimiento y en otros lo reduce (Jayawickrama *et al.*, 1991). *Abies fraseri* (Pursh) Poir. se injertó en seis especies del género *Abies*, evidenciando que la especie de patrón influye en la variación del crecimiento en diámetro en la púa injertada (6.8 a 7.6 mm) (Hinesley y Frampton, 2002). Patrones de *Pinus sylvestris* L. influyeron en el diámetro de las traqueidas, área y grosor de la pared celular, así como en la producción de células en los anillos de crecimiento, favoreciendo el aumento del diámetro en el tallo de la púa injertada de *Pinus sibirica* Du Tour (Darikova *et al.*, 2013).

Los patrones de *P. greggii* no influyeron en el hábito de crecimiento de las acículas desarrolladas por la púa injertada de *P. patula*. Bajo el supuesto que las características anatómicas han evolucionado de manera similar en especies filogenéticamente cercanas, pudiera esperarse que presenten características morfológicas similares en las acículas (Gernandt *et al.*, 2005; Solorio-Barragán *et al.*, 2021). Tomando como referencia árboles adultos sin injertar, Perry (1991) describió las acículas de *P. greggii* (10-15 cm) de menor longitud que las descritas para *P. patula* (15-25 cm). Sin embargo, en este trabajo al combinar estas dos especies, *P. greggii* como patrón y *P. patula* como púa, los injertos desarrollaron acículas en promedio de 21.5 cm, dentro del rango documentado para *P. patula*. Puede esperarse que no se afecten las actividades de fotosíntesis y transpiración que llevan a cabo estas estructuras al utilizar patrones de *P. greggii*, e incluso pudieran ser más eficientes por ser una especie adaptada a sequía (Han *et al.*, 2019).

5.5.2. Factor altura de injertado en el patrón

Prendimiento y supervivencia

La altura de injertado no tuvo efecto sobre el prendimiento y supervivencia del injerto a los 2 y 10 meses con más de 97 y 90%, respectivamente (Cuadro 5.2). Estos resultados indican que pueden obtenerse altos porcentajes de prendimiento injertando las púas a 5, 15 o 20 cm a partir de la base del tallo del patrón, siempre y cuando las características morfológicas, fenológicas y fisiológicas del material vegetal (púa y patrón) sea similar al utilizado en este estudio. Resultados similares se obtuvieron al evaluar cinco diferentes alturas de injertado (4, 8, 12, 16 y 20 cm) en *Citrus aurantifolia* Swingle, las cuales no presentaron efecto sobre el prendimiento del injerto (Chalise *et al.*, 2013).

La respuesta en el prendimiento que presentó el tejido de la planta patrón al injertar la púa en ese segmento del tallo (5-20 cm) fue similar y con alta compatibilidad inicial. Los procesos que se llevan a cabo durante el prendimiento se asumen que confluyeron favorablemente casi en el 100% de los injertos hechos en las tres alturas del tallo evaluadas: activa división celular del cambium para la formación de callo por ambas partes del injerto, proliferación del callo y diferenciación a cambium que genera el nuevo xilema y floema para restablecer las conexiones vasculares (Wang *et al.*, 2016; Melnyk, 2017). Además, la reconexión de tejidos entre las partes del injerto para las tres alturas evaluadas, muestra haber sido lo suficientemente completa y funcional, para continuar vivos los injertos a través del tiempo durante los siguientes ocho meses, reflejándose en una alta supervivencia, que se redujo solamente menos de 6% durante este periodo (Cuadro 5.2).

Los patrones de seis meses de edad probablemente presentaron características fisiológicas y anatómicas internas más homogéneas a lo largo del tallo; además se ha demostrado que el tejido juvenil en pinos favorece la división y diferenciación celular (Materán *et al.*, 2008). Explantes de árboles juveniles de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schldl. et Cham. mostraron mayor diferenciación celular expresada en la respuesta organogénica, en comparación con explantes de árboles adultos en condiciones *in vitro* (González-Jiménez *et al.*, 2018). Esta respuesta en el tejido joven posiblemente favorece la unión exitosa entre las partes del injerto, particularmente en la división celular para formar callo, así como en la diferenciación para generar nuevas células

de xilema y floema a partir del cambium (Melnyk, 2017), independientemente de la altura a la cual se injertó la púa. En un estudio reciente, al realizar mini-injertos en *P. patula* con patrones de solo dos meses de haber germinado en condiciones *ex vitro* y púas obtenidas de multiplicación *in vitro* lograron obtener 93% de éxito a los dos meses de haberse injertado (Castillo-Martínez *et al.*, 2021). En otro estudio con púas de árboles de cuatro años de edad se logró el 70% de prendimiento (González-Jiménez *et al.*, 2022), en comparación con el 35% de prendimiento reportado en injertos de *P. patula* a partir de púas de árboles adultos sobre portainjertos de más de un año de edad (Aparicio-Rentería *et al.*, 2013).

Los patrones en otros estudios de injerto en pino generalmente han sido de mayor edad, entre dos y tres años. Cuanto más viejos son los órganos a injertar, mayor será la especialización biológica y genética de los tejidos celulares, lo que aumenta la dificultad de propagación vegetativa en coníferas en general (Pérez-Luna *et al.*, 2019). Las características morfológicas del patrón van cambiando conforme va aumentando la edad, el tallo va lignificando y empiezan a desarrollar corteza gruesa e incluso estas características van siendo graduales a lo largo del tallo de la base al ápice (Read y Bavougian, 2013). Algunos autores han sugerido que al injertar cerca del sistema de raíces puede favorecerse el prendimiento de la púa injertada (Wendling *et al.*, 2014; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020), pero en este estudio no presentó ventaja en las variables en comparación con las otras dos alturas de injertado evaluadas a mayor distancia de las raíces.

Crecimiento del injerto

El crecimiento en longitud de la púa injertada durante los primeros siete meses tuvo diferencias entre las tres alturas de injertado evaluadas (Cuadro 5.1). El mayor crecimiento se obtuvo injertando a 20 cm de la base del tallo del patrón con crecimiento de 25.3 cm y fue disminuyendo el tamaño de los injertos de 6.2 y 12.6 cm en los realizados a 15 y 5 cm, respectivamente (Cuadro 5.2).

En la evaluación de los 10 meses los injertos a 15 y 20 cm fueron estadísticamente iguales entre ellos con poco más de 40 cm de crecimiento en ambas alturas, los injertos realizados a 5 cm de la base tuvieron 10 cm menos de crecimiento (Cuadro 5.2). Estos resultados muestran que se favorece el crecimiento al injertar la púa más cerca de la yema terminal del patrón. De igual manera al injertar en la parte más alta del tallo del patrón favoreció el incremento en diámetro

con diferencia de hasta 0.5 mm al comparar con el injertado cerca de la base del tallo del patrón (Cuadro 5.2).

Otros estudios también indican que el crecimiento del injerto se ve favorecido al injertar más cerca de la yema terminal. Púas de *Ziziphus mauritiana* Lam. injertadas a 30 cm presentaron mayor crecimiento en altura que al injertar a 20 cm de la superficie del suelo (Aboutalebi y Hassanzadeh, 2012). En injertos de *Malus x domestica* Borkh del cultivar Stark Crimsons injertando a la mayor altura de cuatro evaluadas (15, 30, 45 y 60 cm) se obtuvo el mayor crecimiento en diámetro y altura (Karlidag *et al.*, 2016). Estos autores sugieren que las auxinas pueden ser responsables de estos efectos en el crecimiento de las plantas injertadas. Pudiera favorecerse el crecimiento de la nueva púa al sustituir a la original del patrón cuando está más cerca del ápice del brote terminal que es donde se sintetizan principalmente las auxinas. Quizás hay un gradiente en el nivel y síntesis de auxinas a lo largo del tallo, de mayor a menor del ápice a la base. Se ha comprobado que las auxinas actúan en el brote terminal para que crezca más rápido que los brotes por debajo de él, conocido este efecto como dominancia apical (Ning *et al.*, 2013).

También se ha sugerido que el efecto de mayor crecimiento al injertar más cerca del ápice puede ser resultado de que esa porción del tallo está más expuesta a los rayos solares, permitiendo que la planta dedique su energía a crecer en altura para obtener más luz y favorecer la fotosíntesis (Ning *et al.*, 2013; Karlidag *et al.*, 2016). Aunque hay que considerar que en un caso se ha favorecido el crecimiento al injertar más cerca de la base del tallo del patrón. Barrera-Ramírez *et al.* (2020) indicaron que al injertar *P. pseudostrobus* más cerca del sistema de raíces podría mejorar el suministro de nutrimentos y entonces mejorar el crecimiento.

Por otro lado, el incremento en diámetro fue favorecido al injertar la púa en la parte más alta del tallo del patrón. Darikova *et al.* (2013) indican que el crecimiento y diferenciación de células del cambium depende principalmente del balance de fitohormonas que regulan la tasa de diferenciación y expansión celular. El desarrollo y diferenciación del tejido vascular durante el crecimiento de la planta es regulado por casi todas las fitohormonas conocidas. Sin embargo, las auxinas parecen ser los principales reguladores de la diferenciación celular (Nanda y Melnyk, 2018). El cambium actúa como un meristemo vascular y durante el crecimiento secundario se divide para producir más células de xilema y floema; de este modo le permite al tallo de la planta

incrementar en diámetro (Nanda y Melnyk, 2018), y este pudiera tener mayor actividad celular en la zona más cercana al ápice del patrón, reflejándose en mayor crecimiento del diámetro.

Además de las fitohormonas, debe considerarse la anatomía interna del tejido en las tres alturas a lo largo del tallo del patrón evaluadas, ya que los factores internos relacionados con la forma del cambium, número de traqueidas por milímetro cuadrado, diámetro tangencial y radial de traqueidas en el xilema en ese segmento del tallo del patrón pudieran variar y tener un efecto diferente en el crecimiento de la púa injertada (Castro- Garibay *et al.*, 2017; Dadashpour *et al.*, 2017). Las estructuras internas en el tallo del patrón a 15 y 20 cm quizás fueron similares a las que presentaron las estructuras internas de las púas injertadas, favoreciendo la unión y el crecimiento en comparación con las encontradas a 5 cm.

Las acículas tuvieron mayor crecimiento (23 cm) al injertar cerca de la base del tallo a 5 cm con diferencia de 2 y 3 cm que al injertar a 15 y 20 cm, respectivamente (Cuadro 5.2). En las tres alturas de injertado evaluadas, las púas lograron desarrollar las acículas de forma completa y funcional. Al momento de injertar las púas solo presentaban hojas primarias por provenir de brotes adventicios generados a partir de plantas madre (Figura 5.1 C). Las púas formaron hojas secundarias rápidamente. A partir de la tercera semana del injertado se inició la formación de acículas agrupadas en fascículos (Figura 5.2 A). El crecimiento de acículas en plantas injertadas indica la reconexión vascular entre ambas partes, se reactivan sus funciones fisiológicas para continuar su crecimiento y desarrollo como planta completa constituida por dos genotipos (Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

Con base en los resultados obtenidos, puede concluirse que los injertos hechos a 5 cm de la base del tallo dirigieron sus recursos al follaje incrementando la longitud de acículas para aumentar el área fotosintética. Otra explicación del mayor crecimiento de la longitud de acículas al injertar cerca del sistema de raíces está relacionada a el flujo rápido de agua y nutrimentos de las raíces del patrón hacia el follaje de la púa injertada (Alemán-Sancheschúlz *et al.*, 2019; Barrera-Ramírez *et al.*, 2020).

5.6. CONCLUSIONES

Los patrones de *Pinus greggii* muestran alta compatibilidad, crecimiento y supervivencia con púas de *Pinus patula* con respuesta favorable en el incremento en diámetro a los 10 meses después del injertado, que al injertar *P. patula* sobre su misma especie.

La altura del injertado cerca del ápice de la yema terminal del patrón beneficia el crecimiento en altura y diámetro de la púa injertada.

Esto implica considerar el uso de este tipo de injertos interespecíficos cerca del ápice del tallo del patrón por los resultados obtenidos y por las ventajas que pudieran obtenerse al utilizar *Pinus greggii* como patrón por ser una especie más adaptada a condiciones de déficit de humedad que *P. patula*.

DISCUSIÓN GENERAL

Pinus patula es considerada de las especies de pino subtropicales más importantes económicamente por su alto potencial productivo. Se han establecido plantaciones comerciales con éxito en México y otros países, lo que ha llevado a establecer programas operativos de mejoramiento genético para obtener semilla genéticamente mejorada y ser utilizada en plantaciones más productivas. Los huertos semilleros asexuales son un eslabón dentro de la cadena de mejoramiento genético de *P. patula* y se han establecido en México desde 2003, mediante la técnica de injerto para obtener los clones requeridos. Sin embargo, existen problemas de bajo prendimiento y supervivencia del injerto cuando se ejecuta esta técnica de propagación vegetativa. Parte de estos factores que influyen en esta problemática se tratan de resolver mediante los estudios realizados en este trabajo.

En el capítulo I se abordaron dos factores que influyen en el prendimiento y crecimiento del injerto (el tipo de injerto y la longitud de corte que se realiza en la púa y el patrón). Se ha demostrado que cada especie tiene una técnica en particular para obtener el mayor prendimiento. Los resultados generados a partir de la evaluación de tres técnicas de injerto en *P. patula* (terminal, lateral e inglés simple), demostraron que el injerto terminal y lateral son las dos técnicas viables para esta especie, obteniendo más de 70% de prendimiento.

El menor prendimiento del injerto inglés se debe a que la técnica únicamente realiza un corte o plano en forma diagonal, tanto en la púa como al patrón (Pardo-Alonso *et al.*, 2020), quedando solamente sobrepuestas las superficies del cambium (púa-patrón) y no se fijan como en el caso de la técnica terminal y lateral, que se injertan en una hendidura con dos planos expuestos (Hartmann *et al.*, 2014). El injerto inglés simple podría considerarse en injertos de *P. patula* cuando la púa y el patrón presenten diámetros menores a 5 mm, donde realizar los cortes de las otras dos técnicas se dificulte.

Por otro lado, los resultados sobre la longitud de corte que se realiza en la púa y el patrón y que está relacionada con la superficie de contacto del cambium entre las partes del injerto, indicaron que puede considerarse una longitud de corte en el rango de 1.5 a 2.5 cm para injertos de *P. patula*, ya que la unión y formación de callo se realizó de manera completa y de forma similar entre las tres longitudes evaluadas (1.5, 2.0 y 2.5 cm).

El origen genético de la púa y del patrón es otro factor que puede definir el éxito del injerto; el capítulo II se enfocó en este factor, ya que la compatibilidad genética por parentesco intraespecífico pudiera ser fuente de variación y favorecer el prendimiento del injerto. Por lo tanto, al injertar púas de cuatro genotipos superiores de *P. patula* (G105, G106, G114 y G115) sobre patrones de las mismas familias de medios hermanos (F105, F106, F114 y F115) en todas sus combinaciones se logró un prendimiento de 75%.

Se demostró que hubo variación por efecto del genotipo de púa en el prendimiento. Para la supervivencia a los 12 meses los genotipos de púa G114 y G115 mostraron ser superiores respecto a los otros dos genotipos, así como la familia de patrón F105 mostró superioridad sobre las otras familias evaluadas. La mayor supervivencia para cada genotipo de púa se presentó sobre familias de patrón no emparentadas y en ningún caso se benefició al injertar las púas sobre familias de patrón de su misma progenie. El genotipo de púa influyó en la variación del crecimiento en longitud y diámetro del injerto, así como la familia de patrón lo fue solo en el crecimiento en diámetro. Por lo tanto, habrá genotipos de púa y familias de patrón que favorezcan el crecimiento inicial del injerto.

Por otro lado, los injertos de pino de genotipos superiores manejados como plantas madre representan una alternativa de material vegetal para siguientes ciclos de reproducción vegetativa por medio de la inducción de brotes adventicios. En el capítulo III se demostró que al podar injertos prendidos de seis meses de haberse injertado de cuatro genotipos superiores (G105, G106, G114 y G115) y de planta de dos años sin injertar de *P. patula*, lograron desarrollarse brotes adventicios, aunque el tiempo en el que inicia su desarrollo fue variable y esto dificulta tener la cosecha de los brotes homogénea. Las plantas madre sin injertar desarrollaron el mayor número promedio de brotes por planta (7.5). Los brotes del G114 y G106 presentaron a la semana 16 el mayor crecimiento en longitud (6.0 cm) y diámetro (5.1 mm), respectivamente. Por lo tanto, puede considerarse que el genotipo del injerto influye en la morfología (longitud y diámetro) de los brotes adventicios que generan.

Además, los brotes adventicios obtenidos a partir de las plantas madre al cosecharse y ponerse en condiciones especiales para su enraizamiento, presentaron el desarrollo de raíces adventicias solo en brotes de plantas no injertadas, lo que indica que existen otros factores como hormonales,

ambientales o de manejo que están impidiendo su enraizamiento en brotes obtenidos a partir de plantas injertadas de árboles adultos de *P. patula*.

Algunos autores sugieren realizar más ciclos de injertos previos (Read y Bavougian, 2013). Los injertos en serie son el método más consistente y utilizado para restaurar gradualmente características juveniles en especies forestales adultas por el recurrente injerto de púas de árboles adultos sobre patrones juveniles (Wendling *et al.*, 2014; Santin *et al.*, 2015).

Otra opción en la creación de injertos en *P. patula*, es utilizar patrones de especies diferentes a la de la púa, ya que pueden conferir al injerto mayor prendimiento, supervivencia o características deseables de crecimiento en campo. En el capítulo IV se evaluó la compatibilidad de *P. patula* como púa injertada sobre patrones de siete diferentes especies de pino (*P. patula*, *P. greggii*, *P. teocote*, *P. pseudostrobus*, *P. cembroides*, *P. ayacahuite* y *P. hartwegii*). El mayor porcentaje de supervivencia a los ocho meses fue sobre su misma especie de patrón y las dos más relacionadas taxonómicamente (*P. teocote* y *P. greggii*).

Las tres especies pertenecen a la misma subsección (*Oocarpae*) y bajo el supuesto que han evolucionado de forma similar, las estructuras internas de la púa con las del patrón pudieron ser compatibles en los procesos de unión del injerto. Por lo tanto, estas dos especies pudieran considerarse en futuros estudios como especies patrón viables para *P. patula*, aprovechando las características particulares de cada especie.

Los resultados mostraron también que conforme la especie de patrón va siendo menos relacionada a *P. patula*, la compatibilidad va disminuyendo. Como en el caso de los patrones con *P. pseudostrobus* y *P. hartwegii*, que presentaron supervivencia baja (15%); estas especies pertenecen a diferente subsección (*Ponderosae*) que la de la púa (Gernandt *et al.*, 2005). En patrones de *P. cembroides* no hubo compatibilidad y con *P. ayacahuite* como patrón hubo la menor supervivencia de los injertos de *P. patula*; estas dos especies son las menos relacionadas taxonómicamente ya que pertenecen a diferente subgénero (*Strobus*) que *P. patula* (Gernandt *et al.*, 2005). Los patrones de *P. pseudostrobus* le confirieron a los injertos menor crecimiento en altura que sobre su misma especie. El crecimiento restringido puede aprovecharse para mantener injertos a altura baja en los huertos semilleros y facilitar su manejo y cosecha de conos (Jayawickrama *et al.*, 1991).

Se evidenció una reducción en el crecimiento en altura y en la longitud de acículas de la púa de *P. patula* al utilizar patrones de *P. hartwegii*, el hábito de crecimiento de la especie de patrón fue dominante al de la púa. *P. hartwegii* es una de las especies de pino de incremento reducido, debido las condiciones ambientales que imperan en su área de distribución natural (Manzanilla-Quiñones *et al.*, 2019). Además, *P. hartwegii* presenta estado cespitoso, lo que pudo haber influido sobre el hábito de crecimiento de la púa de *P. patula* injertada (Rivera *et al.*, 2021). Por lo tanto, el uso de patrón diferente a la púa de *P. patula*, dependerá de alguna característica que el patrón le pueda conferir a la púa injertada. En México existe gran potencial de establecer injertos interespecíficos de combinaciones favorables, ya que en este país crecen cerca del 40% de las especies del género *Pinus*.

El capítulo V tuvo como objetivo evaluar la compatibilidad de púas de *P. patula* obtenidas a partir de plantas madre injertadas sobre patrones de *Pinus greggii* a tres alturas de injertado. *P. greggii* como patrón presentó una respuesta similar a los patrones de *P. patula*; ambas presentaron prendimiento cercano a 100% y supervivencia mayor a 90% después de 10 meses. Sin embargo, los porcentajes obtenidos se relacionaron principalmente con el origen de las púas a partir de plantas madre, que les confieren a las púas características juveniles y mayor vigor. *P. greggii* resultó un patrón promisorio para obtener injertos viables con púas de *P. patula*, esta combinación podría ser una alternativa para el establecimiento de huertos semilleros y plantaciones clonales bajo condiciones limitantes de humedad, donde *P. patula* por sí sola no pudiera prosperar (Dadashpour *et al.*, 2017).

Además *P. greggii*, como patrón, le confirió al injerto mayor crecimiento en longitud y diámetro que al injertar sobre su misma especie a *P. patula*, aunque deberá evaluarse si esta tendencia de mayor crecimiento se mantiene a través del tiempo.

Por otro lado, al evaluar tres alturas de injertado a 5, 15 y 20 cm a partir de la base del tallo del patrón se determinó que injertar cerca del ápice (15 y 20 cm) se favoreció el crecimiento del injerto que al injertar más cerca de la base del tallo con diferencia en el crecimiento en longitud de hasta 10 cm. Las auxinas pueden ser responsables de estos efectos de las plantas injertadas (Karlidag *et al.*, 2016). Se sintetizan principalmente en el ápice del brote terminal y al injertar la nueva púa que sustituye a la original del patrón cerca de dicha zona de síntesis pudieron haber actuado en la púa para que creciera más rápido que los brotes por debajo de él, conocido este

efecto como dominancia apical (Ning *et al.*, 2013). Además, el crecimiento y diferenciación de células del cambium durante el crecimiento en diámetro depende principalmente del balance de fitohormonas que regulan la tasa de diferenciación y expansión celular, siendo las auxinas los principales reguladores de este proceso (Darikova *et al.*, 2013; Nanda y Melnyk, 2018).

CONCLUSIONES GENERALES

Las técnicas de injerto terminal y lateral son más adecuadas para aumentar el prendimiento del injerto en *Pinus patula* que el de tipo inglés simple. La longitud de corte en la púa y patrón resultó viable en el rango de 1.5 a 2.5 cm.

Los injertos realizados con el genotipo G115, en combinación con cualquier familia de patrón favorecieron la supervivencia del injerto; de manera similar sucedió con la familia F105 en combinación con cualquier genotipo de púa.

Las púas injertadas sobre patrones de su misma progenie no garantizaron mejor compatibilidad en los injertos.

Las plantas madre de *P. patula* injertadas tienen la capacidad de formar y desarrollar brotes adventicios al igual que plantas no injertadas. Los brotes de plantas injertadas de árboles adultos no lograron emitir raíces adventicias. El genotipo de la planta madre influye en variaciones sobre las características morfológicas de los brotes adventicios.

La especie de pino usada como patrón influye en la compatibilidad con púas de *P. patula*. Las púas de *P. patula* injertadas sobre patrones de *Pinus greggii* y *P. teocote* fueron combinaciones con mayor supervivencia. Las diferentes especies de patrón afectan de manera particular el hábito de crecimiento en altura y de acículas en las púas de *P. patula*. *Pinus pseudostrobus* y *P. hartwegii* le confirieron menor crecimiento al injerto.

El *P. greggii* como patrón, muestra alta compatibilidad con púas de *P. patula*. Fue similar en el prendimiento y supervivencia, además tuvo mayor incremento en diámetro que al injertar *P. patula* sobre plantas de su misma especie. La altura del injertado más cerca del ápice de la yema terminal del patrón favorece el crecimiento en altura y diámetro del injerto.

LITERATURA CITADA

- Aboutalebi A, Hassanzadeh H. 2012. Evaluation the graft height, scion number and cutting off the rootstock on graft union percentage, canopy volume and yield of three grafted ziziphus cultivars (*Ziziphus mauritiana*). World Applied Sciences Journal 19 (7): 937–942. Doi: 10.5829/idosi.wasj.2012.19.07.1882
- Alemán-Sancheschúlz G, Solano E, Terrazas T, López-Portillo J. 2019. La arquitectura hidráulica de las plantas vasculares terrestres, una revisión. Madera y Bosques 25 (3): e2531828, 17 p. Doi: 10.21829/myb.2019.2531828
- Alsina MM, Smart DR, Bauerle T, de Herralde F, Biel C, Stockert C, Negron C, Save R. 2011. Seasonal changes of whole root system conductance by a drought-tolerant grape root system. Journal of Experimental Botany 62 (1): 99–109. Doi: 10.1093/jxb/erq247
- Aparicio-Rentería A, Ramírez-García EO, Cruz-Jiménez H. 2006. Multiplicación clonal de *Pinus jaliscana* Pérez de la Rosa a través del establecimiento y manejo de setos para la producción de estacas. Foresta Veracruzana 8 (1): 17–22. <https://www.redalyc.org/pdf/497/49780204> (Recuperado: agosto 2022)
- 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. <https://doi.org/10.29298/rmcf.v4i20.373>
- Arzac A, Rozas B, Rozenberg P, Olano JM. 2018. Water availability controls *Pinus pinaster* xylem growth and density: A multi-proxy approach along its environmental range. Agricultural and Forest Meteorology 250–251: 171–180. Doi: 10.1016/j.agrformet.2017.12.257
- Barrera-Ramírez R, Vargas-Hernández JJ, López-Aguillón R, Muñoz-Flores HJ, Treviño-Garza EJ, Aguirre-Calderón OA. 2020. Influencia de factores externos e internos en el prendimiento inicial de injertos de *Pinus pseudostrobus* var. *oaxacana* (Mirov) Harrison. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 27 (2): 243–256. Doi: 10.5154/r.rchscfa.2020.05.037
- Bautista-Ojeda GI, Vargas-Hernández JJ, Jiménez-Casas M, López-Peralta MCG. 2022. Manejo de planta y aplicación de AIB en el enraizado de estacas de *Pinus patula*. Madera y Bosques 28 (1): e2812060, 11 p. Doi: 10.21829/myb.2022.2812060
- Blada I, Panea T. 2011. Improvement of grafting procedures for the ornamental species: I. *Picea pungens* Engelm. var. *glauca* Regel. Annals of Forest Research 54 (2): 185–196. <https://www.afrjournal.org/index.php/afr/article/viewFile/89/135> (Recuperado: agosto 2022)
- Bonga JM. 2016. Conifer clonal propagation in tree improvement programs. In: Vegetative Propagation of Forest Trees, Park Y, Bonga J, Moon H (eds.). National Institute of Forest Science: Seoul, Korea. pp: 3–31. <https://www.agritrop.cirad.fr/582175/1/Pages%20425-440%20de%20vegetative-propagation-of-forest-trees-3.pdf> (Recuperado: agosto 2022)

- Cabrera RR, Jiménez CM, López LMÁ, Parra PJP. 2022. Manejo nutrimental de árboles de pino híbrido y uso de ácido indolbutírico para su clonación por estacas. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 13 (69): 132–154. Doi: 10.29298/rmcf.v13i69.1070
- Castillo-Martínez CR, Guerra DV, López UJ. 2021. Mini grafts: alternative to obtain complete plants of *Pinus patula* propagated *in vitro*. *Agro Productividad* 14 (12): 159–164. Doi: 10.32854/agrop
- Castro-Garibay SL, Villegas-Monter A, López-Upton J. 2017. Anatomy of rootstocks and scions in four pine species. *Forest Research* 6 (3): 211, 6 p. Doi: 10.4172/2168-9776.1000211
- Chalise B, Paudyal KP, Srivastava SP. 2013. Effect of grafting height on success and subsequent growth of acid lime (*Citrus aurantifolia* Swingle) saplings. *Nepal Journal of Science and Technology* 14 (2): 25–32. Doi: 10.3126/njstv14i2.10412
- Choi B, Bhusal N, Jeong W, Park I, Han S, Yoon T. 2020. Drought tolerance of ‘fuji’ apple trees grafted onto G, CG, or M series rootstocks: growth and physiology. *Horticultural Science and Technology* 38 (5): 583–594. Doi: 10.7235/HORT.20200054
- Cuevas-Cruz JC, Jiménez-Casas M, Jasso-Mata J, Pérez-Rodríguez P, López-Upton J, Villegas-Monter 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.
- da Costa CT, de Almeida MR, Ruedell CM, Schwambach J, Maraschin FS, Feet-Neto AG. 2013. When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. *Frontiers in Plant Science* 4 (133): 1–19. Doi: 10.3389/fpls.2013.00133
- Dadashpour A, Shekafandeh A, Oladi R. 2017. Anatomical and morphological changes in scion of some olive grafting combinations under water deficit. *Advances in Horticultural Science* 31 (4): 281–288. Doi: 10.13128/ahs-20818
- Darikova JA, Savva YV, Vaganov EA, Grachev AM, Kuznetsova GV. 2011. Grafts of woody plants and the problem of incompatibility between scion and rootstock (a review). *Journal of Siberian Federal University (Biology)* 1 (4): 54–63. <https://www.journal.sfu-kras.ru/en/article/2376> (Recuperado: agosto 2022)
- Darikova YA, Vaganov EA, Kuznetsova GV, Grachev AM. 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
- Escamilla-Hernández N, Aldrete A, Vargas-Hernández JJ, Villegas-Monter Á, López-López MÁ. 2020. Propagación vegetativa de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. en diferentes sustratos. *Revista Fitotecnia Mexicana* 43 (2): 215–221. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/43-2/10a.pdf> (Recuperado: agosto 2022)

- Flores A, López-Upton J, Rullán-Silva CD, Olthoff AE, Alía R, Sáenz-Romero C, García del Barrio JM. 2019. Priorities for conservation and sustainable use of forest genetic resources in four Mexican pines. *Forests* 10 (8): 675, 14 p. Doi: 10.3390/f10080675
- Ford MC, Jones BN, Chirwa WP. 2014. *Pinus patula* and pine hybrid hedge productivity in South Africa: a comparison between two vegetative propagation systems exposed to natural infection by *Fusarium circinatum*. *Southern Forests* 76 (3): 167–175. Doi: 10.2989/20702620.2014.916501
- Foster GS, Stelzer HE, McRae JB. 2000. Loblolly pine cutting morphological traits: effects on rooting and field performance. *New Forests* 19 (3): 291–306. Doi: 10.1023/A:1006691808772
- Fraga MF, Rodríguez R, Cañal MJ. 2003. Reinvigoration of *Pinus radiata* is associated with partial recovery of juvenile-like polyamine concentrations. *Tree Physiology* 23 (3): 205–209. Doi: 10.1093/treephys/23.3.205
- Gautier AT, Chambaud C, Brocard L, Ollat N, Gambetta GA, Delrot S, Cookson SJ. 2019. Merging genotypes: graft union formation and scion-rootstock interactions. *Journal of Experimental Botany* 70 (3): 747–755. Doi: 10.1093/jxb/ery422
- Gernandt DS, Geada LG, Ortiz GS, Liston A. 2005. Phylogeny and classification of *Pinus*. *Taxon* 54 (1): 29–42. Doi: 10.2307/25065300
- Gernandt DS, Pérez-de la Rosa JA. 2014. Biodiversidad de Pinophyta (coníferas) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 85: 126–133. Doi: 10.7550/rmb.32195
- Goldschmidt EE. 2014. Plant grafting: new mechanisms, evolutionary implications. *Frontiers in Plant Science* 5: 1–9. Doi: 10.3389/fpls.2014.00727
- González-Jiménez B, Jasso-Mata J, Castillo-Martínez CR, Jiménez-Casas M. 2018. Respuesta de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. & Cham. en las fases de establecimiento y multiplicación *in vitro*. *Agro Productividad* 11 (7): 129–136. <https://www.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/926> (Recuperado: agosto 2022)
- González-Jiménez B, Jiménez-Casas M, López-Upton J, López-López MÁ, Rodríguez-Laguna R. 2022. Combinación de técnicas de injertación para clonar genotipos superiores de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Agrociencia* 56 (5): 105–117. Doi: 10.47163/agrociencia.v56i5.2582
- González-Rosales A, Rodríguez-Trejo DA. 2004. Efecto del chamuscado de copa en el crecimiento en diámetro de *Pinus hartwegii* Lindl. en el Distrito Federal, México. *Agrociencia* 38 (5): 537–544. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=30238508> (Recuperado: agosto 2022)
- Guadaño C, Iglesias S, León D, Arribas S, Gordo J, Gil L, Montero G, Mutke S. 2016. Establecimiento de Plantaciones Clonales de *Pinus pinea* para la Producción de Piñón

- Mediterráneo. INIA: Madrid, España. <https://www.researchgate.net/publication/310287648> (Recuperado: agosto 2022)
- Greenwood MS, Day ME, Schatz J. 2010. Separating the effects of tree size and meristem maturation on shoot development of grafted scions of red spruce (*Picea rubens* Sarg.). *Tree Physiology* 30 (4): 459–468. Doi: 10.1093/treephys/tpq004
- Han Q, Guo Q, Korpelainen H, Niinemets Ü, Li C. 2019. Rootstock determines the drought resistance of poplar grafting combinations. *Tree Physiology* 39 (11): 1855–1866. Doi: 10.1093/treephys/tpz102
- Hartmann HT, Kester DE, Jr. Davies FT, Geneve RL. 2014. *Plant Propagation Principles and Practices* (8th ed.). Pearson: Edinburgh, England.
- He J, Reddy GVP, Liu M, Shi P. 2020. A general formula for calculating surface area of the similarly shaped leaves: evidence from six Magnoliaceae species. *Global Ecology and Conservation* 23: e01129, 10 p. Doi: 10.1016/j.gecco.2020.e01129
- Hernández CA, Rubilar PR. 2012. Efecto de la fertilización nitrogenada y fosforada en el desarrollo y fenología de brotes de setos de *Pinus radiata*. *Bosque* 33 (1): 53–61. Doi: 10.4067/S0717-92002012000100006
- Hernández ZO, López UJ, Vargas HJJ, Jiménez CM. 2016. Variación clonal de la fenología reproductiva de un huerto semillero de *Pinus patula*. *Bosque* 37 (2): 255–264. Doi: 10.4067/S0717-92002016000200004
- Hinesley E, Frampton J. 2002. Grafting fraser fir onto rootstocks of selected *Abies* species. *HortScience* 37 (5): 815–818. Doi: 10.21273/HORTSCI.37.5.815
- Inoti SK, Thagana WM, Chamshama SAO, Lulandala LLL, Dodson R. 2017. Effect of mother plant management on propagation of jojoba cuttings in semiarid areas of Voi, Kenya. *African Journal of Education, Science and Technology* 4 (2): 31–40. <https://www.ajest.info/index.php/ajest/article/view/3/32> (Recuperado: agosto 2022)
- Jayawickrama KJS, Jett JB, Mckeand SE. 1991. Rootstock effects in grafted conifers: A review. *New Forests* 5 (2): 157–173. <https://www.link.springer.com/article/10.1007/BF00029306> (Recuperado: agosto 2022)
- Jiménez-Casas M, Zwiazek JJ. 2014. Adventitious sprouting of *Pinus leiophylla* in response to salt stress. *Annals of Forest Science* 71 (7): 811–819. Doi: 10.1007/s13595-014-0379-z
- Karlidag H, Eren G, Karaat FE, Kan T. 2016. Grafting height effects on lateral branching, shoot angles and growth of some fruit species saplings. *International Journal of Agriculture Innovations and Research* 5 (2): 2319–1473. https://www.ijair.com/administrator/components/com_jresearch/files/publications/IAJRI_2108_FINAL.pdf (Recuperado: agosto 2022)
- King AR, Arnold MA, Welsh DF, Watson WT. 2011. Substrates, wounding, and growth regulator concentrations alter adventitious rooting of baldcypress cuttings. *HortScience* 46 (10): 1387–1393. Doi: 10.21273/HORTSCI.46.10.1387

- 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
- Lal MA. 2018. Photosynthesis. *In: Plant Physiology, Development and Metabolism*, Bhatla SC., Lal MA (eds.). Springer: New Delhi, India. pp: 159–226. Doi: 10.1007/978-981-13-2023-1
- Lee JM, Kubota C, Tsao SJ, Bie Z, Echevarria PH, Morra L, Oda M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques automation. *Scientia Horticulturae* 127: 93–105. Doi: 10.1016/j.scienta.2010.08.003
- Lira GDE. 2020. Guía Básica de Pinos Mexicanos. Bozkia: México.
- Manzanilla-Quiñones U, Aguirre-Calderón ÓA, Jiménez-Pérez J, Treviño-Garza EJ, Yerena-Yamallel JI. 2019. Distribución actual y futura del bosque subalpino de *Pinus hartwegii* Lindl en el Eje Neovolcánico Transversal. *Madera y Bosques* 25 (2): e2521804, 16 p. Doi: 10.21829/myb.2019.2521804
- Martínez-Alonso C, Kidelman A, Feito I, Velasco T, Alía R, Gaspar MJ, Majada J. 2012. Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests* 43 (5-6): 651–663. Doi: 10.1007/s11056-012-9333-9
- Martínez-Ballesta MC, 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
- Materán ME, Vega MC, Sánchez-Olate M, Sáez K, Rodríguez R, Ríos D. 2008. Reactivación de material vegetal élite de *Pinus radiata* D. Don. mediante microinjerto *in vitro*. *Interciencia* 33 (1): 66–70. https://www.ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-18442008000100014 (Recuperado: agosto 2022)
- McKeand S, Mullin T, Byram T, White T. 2003. Deployment of genetically improved loblolly and slash pines in the south. *Journal of Forestry* 101 (3): 32–37. Doi: 10.1016/j.scienta.2010.08.003
- Medina PAM, White TL, Huber DA, Martin TA. 2007. Graft survival and promotion of female and male strobili by topgrafting in a third-cycle slash pine (*Pinus elliottii* var. *elliottii*) breeding program. *Canadian Journal of Forest Research* 37 (7): 1244–1252. Doi: 10.1139/X07-004
- Melnyk WC. 2017. Plant grafting: insights into tissue regeneration. *Wiley Regeneration* 4 (1): 3–14. Doi: 10.1002/reg2.71
- Méndez-Neri M, Ramírez-Herrera C, Vargas-Hernández JJ, Martínez-Trinidad T, López-Upton J, López PA. 2020. Diversidad genética en dos huertos semilleros de *Pinus patula* Schiede ex Schltdl. et Cham. *Revista Fitotecnia Mexicana* 43 (1): 113–119. Doi: 10.35196/rfm.2020.1.113

- Mitchell RG, Jones NB. 2006. The effects of ontogenic maturation in *Pinus patula*-part II: hedge cycling and field performance. *Southern African Forestry Journal* 2006 (207): 3–6. Doi: 10.2989/10295920609505246
- Mitchell RG, Coutinho TA, Steenkamp E, Herbert M, Wingfield MJ. 2012. Future outlook for *Pinus patula* in South Africa in the presence of the pitch canker fungus (*Fusarium circinatum*) *Southern Forests: a Journal of Forest Science* 74 (4): 203–210. Doi: 10.2989/20702620.2012.741792
- Mng'omba SA. 2013. Effect of diagonal cut surface length on graft success and growth of *Mangifera indica*, *Persia americana*, and *Prunus persica*. *HortScience* 48 (4): 481–484. Doi: 10.21273/HORTSCI.48.4.481
- Mugerwa B, Okullo JBL. 2010. Grafting success of *Pinus caribaea* under varying shade intensities at National Tree Seed Center, Namamve, Uganda. *The African Journal of Plant Science and Biotechnology* 4 (1): 90–94. [http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/2010/AJPSB_4\(SI1\)/AJPSB_4\(SI1\)90-94o.pdf](http://www.globalsciencebooks.info/Online/GSBOnline/images/2010/AJPSB_4(SI1)/AJPSB_4(SI1)90-94o.pdf) (Recuperado agosto 2022)
- Muñoz FHJ, Prieto RJÁ, Flores GA, Pineda OT, Morales GE. 2013. Técnicas de Injertado “Enchapado Lateral” y “Fisura Terminal” en *Pinus pseudostrobus* Lindl. INIFAP: D. F., México. <https://isbn.cloud/9786073702355/tecnicas-de-injertado-enchapado-lateral-y-fisura-terminal-en-pinus-pseudostrobus-lindl/> (Recuperado: agosto 2022)
- Muñoz-Gutiérrez L, Vargas-Hernández JJ, López-Upton J, Ramírez-Herrera C, Jiménez-Casas M, Aldrete A, Díaz-Ruíz R. 2017. Variación espacial y temporal en la dispersión de polen en un huerto semillero y en rodales naturales cercanos de *Pinus patula*. *Bosque* 38 (1): 169–181. Doi: 10.4067/S0717-92002017000100017
- Nanda AK, Melnyk CW. 2018. The role of plant hormones during grafting. *Journal of Plant Research* 131 (1): 49–58. Doi: 10.1007/s10265-017-0994-5
- Niemi K, Scagel C, Häggman H. 2004. Application of ectomycorrhizal fungi in vegetative propagation of conifers. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 78 (1): 83–91. Doi: 10.1023/B:TICU.0000020379.52514.72
- Ning D, Lu T, Liu G, Yang C, Wang B. 2013. Proteomic analysis points to a role for RAD23 in apical dominance in *Pinus sylvestris* var. *mongolica*. *Plant Molecular Biology Reporter* 31 (6): 1283–1292. Doi: 10.1007/s11105-013-0593-0
- Pardo-Alonso JL, Carreño-Ortega Á, Martínez-Gaitán CC, Callejón-Ferre ÁJ. 2019. Combined influence of cutting angle and diameter differences between seedlings on the grafting success of tomato using the splicing technique. *Agronomy* 9 (1): 5, 15 p. Doi: 10.3390/agronomy9010005
- Pardo-Alonso JL, Carreño-Ortega Á, Martínez-Gaitán CC, Fatnassi H. 2020. Behavior of different grafting strategies using automated technology for splice grafting technique. *Applied Sciences* 10 (8): 2745, 15 p. Doi: 10.3390/app10082745

- Pérez-Luna A, Hernández-Díaz JC, Wehenkel C, Simental-Rodríguez SL, Hernández-Velasco J, Prieto-Ruíz JÁ. 2021. Graft survival of *Pinus engelmannii* Carr. in relation to two grafting techniques with dormant and sprouting buds. PeerJ 9: e12182, 22 p. Doi: 10.7717/peerj.12182
- Pérez-Luna A, Prieto-Ruíz JÁ, López-Upton J, Carrillo-Parra A, Wehenkel C, Chávez-Simental JA, Hernández-Díaz JC. 2019. Some factors involved in the success of side veneer grafting of *Pinus engelmannii* Carr. Forests 10 (2): 112, 18 p. Doi: 10.3390/f10020112
- Pérez-Luna A, Wehenkel C, Prieto-Ruíz JA, López-Upton J, Hernández-Díaz JC. 2020b. 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, 27 p. Doi: 10.7717/peerj.8468
- Pérez-Luna A, Wehenkel C, Prieto-Ruíz JA, López-Upton J, Solís-González S, Chávez-Simental JA, Hernández-Díaz JC. 2020a. Grafting in conifers: a review. Pakistan Journal of Botany 52 (4): 1369–1378. Doi: 10.30848/PJB2020-4(10)
- Perry Jr. JP. 1991. The Pines of Mexico and Central America. Timber Press, Inc.: Oregon, USA.
- Pina A, Cookson SJ, Calatayud A, Trinchera A, Errea P. 2017. Physiological and molecular mechanisms underlying graft compatibility. In: Vegetable Grafting: Principles and Practices, Colla G, Pérez-Alfocea F, Schwarz D (eds.). CABI: London, UK. pp: 132–154. Doi: 10.1079/9781780648972.0000
- Ramírez-Herrera C, Vargas-Hernández JJ, López UJ. 2005. Distribución y conservación de las poblaciones naturales de *Pinus greggii*. Acta Botánica Mexicana (72): 1–6. Doi: 10.21829/abm72.2005.997
- Read PE, Bavougian CM. 2013. *In vitro* rejuvenation of woody species. In: Protocols for Micropropagation of Selected Economically-Important Horticultural Plants Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), Lambardi MO, Ozudogru E, Jain S (eds.). Humana Press: New York, USA. pp: 383–395. Doi: 10.1007/978-1-62703-074-8_30
- Rezende SPGD, de Resende VMD, de Assis FT. 2014. *Eucalyptus* breeding for clonal forestry. In: Challenges and Opportunities for the World's Forests in the 21st Century, Fenning T (ed.). Springer Science & Business Media Dordrecht: Brazil. pp: 393–424. Doi: 10.1007/978-94-007-7076-8_16
- Riov J, Fox H, Attias R, Shklar G, Farkash-Haim L, Sitbon R, Moshe Y, Abu-Abied M, Sadot E, David-Schwartz R. 2020. Improved method for vegetative propagation of mature *Pinus halepensis* and its hybrids by cuttings. Israel Journal of Plant Sciences 67 (1–2): 39–51. Doi: 10.1163/22238980-20191118
- Rivera MF, Jiménez CM, Ramírez HC, Martínez RAY. 2021. Enraizamiento de estacas de *Pinus hartwegii* de tres poblaciones naturales en ecosistemas de alta montaña del Estado de México y Veracruz. Bosque 42 (3): 323–331. Doi: 10.4067/S0717-92002021000300323

- Rivera-Rodríguez MO, Vargas-Hernández JJ, López-Upton J, Villegas-Monter Á, Jiménez-Casas M. 2016. Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. Revista Fitotecnia Mexicana 39 (4): 385–392. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/39-4/6a.pdf> (Recuperado: agosto 2022)
- Rowe DB, Blazich FA, Raper CD. 2002. Nitrogen nutrition of hedged stock plants of loblolly pine. I. Tissue nitrogen concentrations and carbohydrate status. New Forests 24 (1): 39–51. Doi: 10.1023/A:1020551029894
- Ruiz-Farfán D, López-Upton J, Ramírez-Herrera C, Rodríguez-Trejo DA. 2015. Fenología reproductiva en un ensayo de progenies de *Pinus greggii* var. *australis*. Revista Fitotecnia Mexicana 38 (3): 285–296. <https://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/38-3/6a.pdf> (Recuperado: agosto 2022)
- Sáenz-Romero C, Beaulieu J, Rehfeldt GE. 2011. Variación genética altitudinal entre poblaciones de *Pinus patula* de Oaxaca, México, en cámaras de crecimiento simulando temperaturas de calentamiento global. Agrociencia 45 (3): 399–411. <https://agrociencia-colpos.mx/index.php/agrociencia/article/view/887> (Recuperado: agosto 2022)
- Santin D, Wendling I, Benedetti EL, Morandi D. 2015. Nursery and field serial grafting of *Ilex paraguariensis*. Brazilian Journal of Forestry Research 35 (84): 409–418. Doi: 10.4336/2015.pfb.35.84.903
- Sivacioglu A, Ayan S, Celik AD. 2009. Clonal variation in growth, flowering and cone production in a seed orchard of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Turkey. African Journal of Biotechnology 8 (17): 4084–4093. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/62133> (Recuperado: agosto 2022)
- Smith MG, Arndt SK, Miller RE, Kasel S, Bennett LT. 2018. Trees use more non-structural carbohydrate reserves during epicormic than basal resprouting. Tree Physiology 38: 1779–1791. Doi: 10.1093/treephys/tpy099
- Sodré AG, Gomes SRA. 2019. Cocoa propagation, technologies for production of seedlings. Revista Brasileira de Fruticultura 41 (2): e-782, 22 p. Doi: 10.1590/0100-29452019782
- Solorio-Barragán ER, Delgado-Valerio P, Molina-Sánchez A, Rebolledo-Camacho V, Tafolla-Martínez MÁ. 2021. Injerto interespecífico como alternativa para la propagación asexual de *Pinus rzedowskii* Madrigal & Caball. Del. en riesgo de extinción. Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 27 (2): 277–288. Doi: 10.5154/r.rchscfa.2020.06.046
- Statistical Analysis System. 2013. SAS 9.4 [Computer software]. Institute Inc. NC USA
- Tandonnet JP, Cookson SJ, Vivin P, Ollat N. 2010. Scion genotype controls biomass allocation and root development in grafted grapevine. Australian Journal of Grape and Wine Research 16 (2): 290–300. Doi: 10.1111/j.1755-0238.2009.00090.x

- van Zonneveld M, Jarvis A, Dvorak W, Lema G, Leibing C. 2009. Climate change impact predictions on *Pinus patula* and *Pinus tecunumanii* populations in Mexico and Central America. *Forest Ecology and Management* 257 (7): 1566–1576. Doi: 10.1016/j.foreco.2008.12.027
- Vargas-Hernández JJ, Vargas-Abonce JI. 2016. Effect of giberellic acid (GA4/7) and partial stem girdling on induction of reproductive structures in *Pinus patula*. *Forest Systems* 25 (2): e063, 11 p. Doi: 10.5424/fs/2016252-09254
- Velázquez MA, Ángeles PG, Llanderal OT, Román JAR, Reyes HJV. 2004. Monografía de *Pinus patula*. CONAFOR/Colegio de Postgraduados: D. F., México.
- Villaseñor RR, Carrera GMVS. 1980. Tres ensayos de injerto en *Pinus patula* Schl. et Cham. *Revista Ciencia Forestal* 5 (23): 21–36. https://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:ksTDL4TTd4sJ:scholar.google.com/+pinus+patula+grafts&hl=es&as_sdt=0,5&as_vis=1 (Recuperado: agosto 2022)
- Viveros-Viveros H, Vargas-Hernández JJ. 2007. Dormancia en yemas de especies forestales. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 13 (2): 131–135. <https://revistas.chapingo.mx/forestales/?section=articles&subsec=issues&numero=36&articulo=478> (Recuperado: agosto 2022)
- Wang J, Jiang L, Wu R. 2016. Plant grafting: how genetic exchange promotes vascular reconnection. *New Phytologist* 214 (1): 56–65. Doi: 10.1111/nph.14383
- Warschefsky JE, Klein LL, Frank HM, Chitwood HD, Londo PJ, von Wettberg JBE, Miller JA. 2016. Rootstocks: diversity, domestication, and impacts on shoot phenotypes. *Trends in Plant Science* 21 (5): 418–437. Doi: 10.1016/j.tplants.2015.11.008
- Wendling I, Trueman SJ, Xavier A. 2014. Maturation and related aspects in clonal forestry-part II: reinvigoration, rejuvenation and juvenility maintenance. *New Forests* 45 (4): 473–486. Doi: 10.1007/s11056-014-9415-y
- Wendling I, Warburton PM, Trueman SJ. 2015. Maturation in *Corymbia torelliana* × *C. citriodora* stock plants: effects of pruning height on shoot production, adventitious rooting capacity, stem anatomy, and auxin and abscisic acid concentrations. *Forests* 6 (10): 3763–3778. Doi: 10.3390/f6103763
- White TL, Adams WT, Neale BD. 2007. *Forest Genetics*. CBAI: Massachusetts, USA.
- White TL, Duryea ML, Powell GL. 2018. Genetically improved pines for reforesting Florida's timberlands. *University of Florida IFAS* 2018 (1): 1–8. Doi: 10.32473/edis-fr007-2017
- Wu HX. 2019. Benefits and risks of using clones in forestry. *Scandinavian Journal of Forest Research* 34 (5): 352–359. Doi: 10.1080/02827581.2018.1487579