

Asexual propagation of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham.

Propagación asexual de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham.

Juan Carlos Cuevas-Cruz⁴; Marcos Jiménez-Casas¹; Jesús Jasso-Mata¹; Paulino Pérez-Rodríguez²; Javier López-Uptón¹; Ángel Villegas-Monter³.

¹Postgrado en Ciencias Forestales, ²Postgrado en Estadística, ³Postgrado en Fruticultura, Colegio de Postgraduados. Carretera México-Texcoco km 36.5. C. P. 56230. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Correo-e: marcosjc@colpos.mx, Tel.: 595 95 20246 ext. 1454 (*Autor para correspondencia).

⁴Universidad Autónoma Chapingo-CRUAN. km 38.5 Carretera México-Texcoco. C. P. 56230. Chapingo, Texcoco, Edo. de México.

Abstract

The effect of substrate, type of cutting and indole 3-butyric acid (IBA) concentration on the rooting of *Pinus leiophylla* cuttings was evaluated with the goal of multiplying progenies of half-sib families of this species, which have showed superior growth and positive response against *Toumeyella pinicola* attack. Two types of substrates (100 % perlite vs. a mix of peat, perlite, vermiculite at a ratio of 1:1:1), two types of cuttings (apical vs. basal) and two concentrations of IBA (0 vs. 10,000 ppm) were used. Probability and percentage of rooting, growth of cuttings and characteristics of the roots were evaluated. Results indicate that using basal cuttings is 3.5 times more likely to induce rooting of *P. leiophylla* than using apical cuttings. The treatment consisting of the mixture of peat-perlite-vermiculite, a basal cutting and 10,000 ppm of IBA produced 45.3 % rooting (highest percentage), while the control only yielded 8.6 % rooting (perlite, basal cutting and without IBA). Interactions with the type of substrate showed significant differences ($P \leq 0.05$) in the growth of the cuttings. The use of perlite and application of IBA promoted a greater number of roots, particularly in the basal cuttings of *P. leiophylla*.

Keywords: Indole 3-butyric acid, clone, root morphology, rooting of cuttings.

Resumen

El efecto del sustrato, tipo de estaca y concentración de ácido indolbutírico (AIB) se evaluó en el enraizado de estacas de *Pinus leiophylla* con el propósito de multiplicar progenies de familias de medios hermanos con crecimiento sobresaliente. Para ello se utilizaron dos tipos de sustratos (agrolita y una mezcla de turba-agrolita-vermiculita 1:1:1), dos tipos de estacas (apicales y basales) y dos concentraciones de AIB (0 y 10,000 ppm). La probabilidad y porcentaje de enraizado, crecimiento de la estaca y características de las raíces formadas de *P. leiophylla* se evaluaron. Los resultados indican que usando estacas basales es 3.5 veces más probable que el enraizamiento de *P. leiophylla* sea exitoso que utilizando estacas apicales. El tratamiento formado por la mezcla de turba-agrolita-vermiculita, estaca basal y 10,000 ppm de AIB produjo 45.3 % de enraizamiento (mayor porcentaje), mientras que con el testigo solo se obtuvo 8.6 % de enraizamiento (agrolita, estaca basal y sin AIB). Las interacciones que incluyeron el tipo de sustrato mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) en el crecimiento de la estaca. El uso de agrolita y la aplicación de AIB favorecieron un mayor número de raíces, particularmente en las estacas tipo basal de *P. leiophylla*.

Palabras clave: Ácido 3-indolbutírico, clon, morfología de raíces, enraizamiento de estacas.

Introduction

Propagation of the genus *Pinus* by rooting cuttings obtained from young buds is carried out to multiply progeny identified as superior, in order to obtain elite clones for reforestation and commercial plantations (Greenwood & Weir, 1994; Mori, Miyahara, Tsutsumi, & Kondo, 2011; Zobel & Talbert, 1984). A sexual seed orchard located in Montecillo, State of Mexico, has progeny of some families of *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. with proven superiority in growth, seed production and resistance to *Toumeyella pinicola* attack. Vegetative propagation of this progeny is important to speed up production of plants with desirable traits, intended to reforest and restore degraded forest sites; however, there is no information reported on the vegetative propagation of *P. leiophylla* and little is known about the methods of rooting other Mexican pines.

The rooting of cuttings has been aided by the use of stems with juvenile characteristics and variable size, conditions of high relative humidity, controlled temperature and types of substrate (Lebude, Goldfarb, Blazich, Wise, & Frampton, 2004; Mori et al., 2011; Rosier, Frampton, Goldfarb, Blazich, & Wise, 2004). The factors that have been the most evaluated in studies on rooting conifers are: substrates with good aeration, drainage, water-holding capacity and no waterlogging; the juvenility of the cutting; and indole 3-butyric acid (IBA) at optimal concentrations (King, Arnold, Welsh, & Watson, 2011; Ragonezi et al., 2010; Rosier, Frampton, Goldfarb, Blazich, & Wise, 2004). However, the results indicate that the requirements of these factors vary depending on the species and genotype (Majada et al., 2011; Sharma & Verma, 2011).

In this context, the aim of this study was to determine the effect of substrate type, cutting type and IBA concentration on the rooting of *P. leiophylla* cuttings, in order to generate information and protocols on the rooting of progeny cuttings of this species. Furthermore, this paper proposes an alternative methodology that can be adapted without major investments for cloning and vegetative propagation of species of *Pinus*.

Materials and methods

Location of the experiment

The experiment was established in the *P. leiophylla* seed orchard at the Colegio de Postgraduados, Montecillo campus, located between the geographical coordinates 19° 27' 34.8" NL and 98° 54' 15.8" WL, at an altitude of 2,249 m, in Texcoco, State of Mexico. The area's climate is temperate with summer rains with annual rainfall of 659 mm and an average annual temperature of 15.3 °C (Montecillo meteorological station).

Introducción

La propagación del género *Pinus* por medio del enraizado de estacas, a partir de brotes juveniles, se realiza con el propósito de multiplicar progenies identificadas como superiores, a fin de obtener clones élite para reforestación y plantaciones comerciales (Greenwood & Weir, 1994; Mori, Miyahara, Tsutsumi, & Kondo, 2011; Zobel & Talbert, 1984). En un huerto semillero sexual, ubicado en Montecillo, Estado de México, se cuenta con progenie de algunas familias de *Pinus leiophylla* Schiede ex Schltdl. et Cham. con superioridad detectada en crecimiento, producción de semilla, y sobrevivientes al ataque de *Toumeyella pinicola*. La propagación vegetativa de dicha progenie es importante para acelerar la producción de planta con caracteres deseables, destinada a reforestar y restaurar sitios forestales degradados; sin embargo, no hay información reportada sobre la propagación vegetativa de *P. leiophylla* y poco se conoce sobre los métodos de enraizamiento de otros pinos mexicanos.

El enraizado de estacas se ha favorecido mediante el empleo de tallos con características juveniles y de tamaño variable, condiciones de humedad relativa alta, temperatura controlada y tipos de sustrato (Lebude, Goldfarb, Blazich, Wise, & Frampton, 2004; Mori et al., 2011; Rosier, Frampton, Goldfarb, Blazich, & Wise, 2004). Los sustratos con buena aireación, drenaje, capacidad de retención de humedad y sin anegamiento; la juvenilidad de la estaca; y el ácido indolbutírico (AIB) en concentraciones óptimas son los factores más evaluados en trabajos de enraizamiento de coníferas (King, Arnold, Welsh, & Watson, 2011; Ragonezi et al., 2010; Rosier, Frampton, Goldfarb, Blazich, & Wise, 2004). Sin embargo, los resultados indican que los requerimientos de dichos factores varían de acuerdo con la especie y genotipo (Majada et al., 2011; Sharma & Verma, 2011).

En tal contexto, el objetivo de este trabajo fue determinar el efecto del tipo de sustrato, tipo de estaca y concentración de AIB en el enraizado de estacas de *P. leiophylla*, con el fin de generar información y protocolos sobre el enraizamiento de estacas de progenies de esta especie. Además, la investigación propone una metodología alternativa que se puede adaptar sin realizar grandes inversiones para la clonación y propagación vegetativa de especies de *Pinus*.

Materiales y métodos

Localización del experimento

El experimento se estableció en el huerto semillero de *P. leiophylla* del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, ubicado entre las coordenadas geográficas 19° 27' 34.8" LN y 98° 54' 15.8" LO, a una altitud de

Plant material

In 2011, 800 seeds of eight half-sib families (100 seeds per family), collected from the *P. leiophylla* sexual seed orchard in the spring of 2009, were germinated. At nine months of germination, the plants were transplanted into 310 cm³ individual containers with peat-perlite-vermiculite substrate at a ratio of 2:1:1. The plants grew under greenhouse conditions until 11 months of age, continuing their development under 50 % shade mesh. At 14 months, the plants were pruned to a height of 15 cm and buds produced at the base of the stem were removed. At four months after pruning, new apical and basal buds of 8-12 cm in length were generated. The plants were fertilized with Peters Profesional® (0.7 g·liter⁻¹) once a week during the first 2.5 months with the formula 7-40-17 (N-P-K); subsequently and up to 4.5 months, 20-7-19 was applied, and finally 4-25-35 was applied until buds with juvenile characteristics were harvested.

Experimental conditions

The study was conducted in a rustic greenhouse with partial control of the temperature by opening and closing curtains, and without an irrigation system. Inside the greenhouse a plastic micro-tunnel (1.80 m wide x 2.5 m long x 1.5 m high) was installed; during the experiment, the average temperature in the micro-tunnel was 24 °C, with a minimum of 19 °C minimum and a maximum of 27.5 °C. The relative humidity was 77 % on average, with a 65 % minimum and a 90 % maximum.

Experimental design

The rooting of *P. leiophylla* was evaluated considering the following factors: two types of substrate (perlite and a mixture of peat-perlite-vermiculite [1:1:1]), two types of cuttings (basal and apical) and two concentrations of IBA (0 to 10,000 ppm), which were combined in a completely randomized design with a 2 x 2 x 2 factorial arrangement; i.e., eight treatments with three replications and 18 cuttings in each replication. Table 1 presents the eight treatments evaluated.

Rooting was evaluated in two cutting types (apical and basal). The basal-type cutting represented the sprouts emerging at the base of the plant's stem and the apical cutting refers to the sprouts that emerged at the apex. The sprouts were separated from the mother plants on the same day the experiment was established, obtaining cuttings of 8 cm in length and 1.5-2 mm in diameter; 2 cm of needles were removed from the base of each cutting. The basal section (2 cm) of the cutting was immersed in rooting compound (4-[1H-Indol-3-yl] butyric acid), removing the excess. The cuttings treated with rooting compound and those of the control

2,249 m, en Texcoco, Estado de México. El clima del área es templado con lluvias en verano con precipitación media anual de 659 mm y temperatura media anual de 15.3 °C (estación meteorológica Montecillo).

Material vegetal

En el año 2011, se recolectaron 800 semillas de ocho familias de medios hermanos (100 semillas por familia), en el huerto semillero sexual de *P. leiophylla* durante la primavera del 2009, fueron germinadas. A los nueve meses de la germinación, las plantas se trasplantaron a contenedores individuales de 310 cm³ con sustrato de turba-agrolita-vermiculita en proporción 2:1:1. Las plantas crecieron bajo condiciones de invernadero hasta los 11 meses de edad, continuando su desarrollo bajo malla sombra de 50 %. A los 14 meses de edad, la planta se podó a una altura de 15 cm y los brotes producidos en la base del tallo se retiraron. Cuatro meses después de la poda se generaron nuevos brotes apicales y basales de 8 a 12 cm de longitud. Las plantas se fertilizaron con Peters Profesional® (0.7 g·litro⁻¹) una vez por semana durante los primeros 2.5 meses con la fórmula 7-40-17 (N-P-K); posteriormente y hasta los 4.5 meses se aplicó 20-7-19; y finalmente se aplicó 4-25-35 hasta que los brotes de características juveniles se cosecharon.

Condiciones experimentales

El estudio se desarrolló en un invernadero rústico con control parcial de la temperatura por medio de la apertura y cierre de cortinas, sin sistema de riego. Dentro del invernadero se instaló un microtúnel de plástico (1.80 m de ancho x 2.5 m de largo x 1.5 m de altura); durante el experimento, la temperatura promedio en el microtúnel fue de 24 °C, mínima de 19 °C y máxima de 27.5 °C. La humedad relativa fue 77 % en promedio, mínima de 65 % y máxima de 90 %.

Diseño experimental

El enraizamiento de *P. leiophylla* se evaluó considerando los siguientes factores: tipos de sustrato (agrolita y una mezcla de turba-agrolita-vermiculita [1:1:1]), dos tipos de estacas (basales y apicales) y dos concentraciones de AIB (0 y 10,000 ppm), que se combinaron en un diseño completamente al azar con arreglo factorial 2 x 2 x 2; es decir, ocho tratamientos con tres repeticiones y 18 esquejes en cada repetición. En el Cuadro 1 se presentan los ocho tratamientos evaluados.

El enraizamiento se evaluó en dos tipos de estaca (apical y basal). El tipo "estaca basal" representó a los rebrotes originados en la base del tallo de la planta y el tipo "estaca apical" se refiere a los rebrotes que surgieron en el ápice. Los rebrotes fueron separados de las plantas madre el mismo día en que se estableció el

treatment (no IBA) were placed in plastic trays (96 cm long, 46 cm wide and 18 cm high) containing perlite (pH 6.5-7.5) or the mixture of peat-perlite-vermiculite (pH 5.6-6.1), according to the treatment. Previously, the cuttings were wetted to field capacity using distilled water. The cuttings were sprayed with 1 g-liter⁻¹ of fungicide (N- [trichloromethylthio] cyclohex-4-en-1,2-dicarboximide) at the time of their establishment. Finally, the trays were fully covered with gauge-200 transparent plastic, in order to facilitate a microclimate within them and thus retain the moisture, a product of the transpiration of the cuttings. As a result, watering was unnecessary during the 84-day experiment since the relative humidity stayed within the required percentages (average relative humidity of 77 %, minimum 65 % and maximum 90 %), according to the monitoring carried out every eight days.

experimento, obteniendo estacas de 8 cm de longitud y diámetro de 1.5 a 2 mm; a cada estaca se le retiraron 2 cm de acículas a partir de su base. La sección basal (2 cm) de la estaca fue sumergida en el enraizador (4-[1H-Indol-3-yl] butyric acid), eliminando el exceso. Las estacas tratadas con el enraizador y las del tratamiento testigo (sin AIB) se colocaron en charolas de plástico (96 cm de longitud, 46 cm de ancho y 18 cm de alto) que contenían agrolita (pH 6.5-7.5) o la mezcla de turba-agrolita-vermiculita (pH 5.6-6.1), de acuerdo con el tratamiento. Previamente, los sustratos se humedecieron a capacidad de campo utilizando agua destilada. Las estacas fueron asperjadas con 1 g-litro⁻¹ de fungicida (N-[triclorometiltio] ciclohex-4-en-1,2-dicarboximida) al momento de su establecimiento. Finalmente, las charolas se cubrieron totalmente con plástico transparente de calibre 200, con el fin

Table 1. Treatments (combination of factors) evaluated in an 84-day experiment consisting of the rooting of *Pinus leiophylla* cuttings.

Cuadro 1. Tratamientos (combinación de factores) evaluados en el experimento de enraizado de estacas de *Pinus leiophylla* con duración de 84 días.

Treatment/Tratamiento	Substrate/Sustrato	Cutting/Estaca	IBA/AIB
T1	Perlite/Agrolita	Apical	-
T2	Mixture/Mezcla	Apical	-
T3	Perlite/Agrolita	Apical	+
T4	Mixture/Mezcla	Apical	+
T5	Perlite/Agrolita	Basal	-
T6	Mixture/Mezcla	Basal	-
T7	Perlite/Agrolita	Basal	+
T8	Mixture/Mezcla	Basal	+

Mixture = Peat-perlite-vermiculite (1:1:1). Dose of indole 3-butyric acid (IBA): + (10000 ppm), - (0 ppm).

Mezcla = Turba-agrolita-vermiculita (1:1:1). Dosis de ácido indolbutírico (AIB): + (10000 ppm), - (0 ppm).

Variables assessed and data analysis

A cutting from each experimental unit was randomly selected and extracted at 60 and 80 days after the experiment was established to review progress in root formation. Based on both samples, it was decided to perform the final evaluation at 84 days into the experiment. The probability of rooting, the percentage of rooting and growth of the cuttings were determined based on the factors studied; a rooted cutting was considered to be one that had at least one first-order root ≥ 1 cm in length. The number of first- and second-order roots in the rooted cuttings was counted, and the length of the longest root for both root types was measured.

The probability of rooting was analyzed with a binary regression model with three predictors (factors): factor 3 was the IBA concentration ($k = 1, 2$), factor 2 was the

de propiciar un microclima al interior de éstas y así conservar la humedad, producto de la transpiración de las estacas. De este modo, la aplicación de riegos durante los 84 días de experimento no fue necesaria, ya que la humedad relativa se mantuvo dentro de los porcentajes requeridos (humedad relativa promedio de 77 %, mínima de 65 % y máxima de 90 %), según el monitoreo realizado cada ocho días.

Variables evaluadas y análisis de datos

Una estaca de cada unidad experimental se extrajo al azar a los 60 y 80 días de establecido el experimento, para revisar los avances en la formación de raíces. Con base en ambos muestreos se optó por realizar la evaluación final a los 84 días de iniciado el experimento. La probabilidad de enraizado, el porcentaje de enraizado y crecimiento de las estacas se determinaron con base en los factores estudiados; se consideró como

cutting type ($j = 1, 2$) and factor 1 the substrate type ($i = 1, 2$). The model used is shown in the following equation:

$$\text{logit}p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1 - p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 D1_i + \beta_2 D2_j + \beta_3 D3_k$$

The variable p_{ijk} is the probability of rooting and it is assumed that it depends on the substrate type, cutting type and IBA concentration. In the model it is assumed that the response variable $Y_{ijk} \sim \text{Bernoulli}(p_{ijk})$, $Y_{ijk} = 0$ (cutting not rooted), $Y_{ijk} = 1$ (rooted cutting); $D1 = 0$ if the substrate type is perlite and 1 if it is the mixture, $D2 = 0$ if the cutting type is apical and 1 if it is basal; finally, $D3 = 0$ if the IBA concentration is zero (0 ppm) and 1 if the concentration is 10,000 ppm. The model was fitted using PROC LOGISTIC in SAS 9.1 software (Statistical Analysis System [SAS], 2004).

The rooting percentage and cutting growth were analyzed with the GLM procedure in SAS 9.1 software (SAS, 2004). Comparison of means was performed with the Tukey test ($P = 0.05$). Prior to analysis of variance, the variable rooting percentage was transformed with the arcsine function ($y = \arcsin p$), because the data did not meet with the assumption of normality and homogeneity of variance. The count variables (number of roots) were also transformed using the natural logarithm function ($y' = \ln [\text{counts}]$), given that when analyzing the data they were not fitted to the Poisson distribution (λ). Subsequently, the mean values of rooting percentage and number of roots were re-transformed to the original units.

Results and discussion

Effect of substrate type on rooting of *P. leiophylla* cuttings

Table 2 shows the result of the binary regression model for the analysis of the probability of rooting *P. leiophylla* cuttings. Based on this analysis, the substrate type had no effect on rooting probability ($X^2 = 1.0$, $gl = 1$, $P = 0.314$). On the other hand, Table 3 presents the analysis of variance for each factor evaluated. This table shows that substrate type had no effect on rooting percentage, growth of cuttings or root length, but it did have an effect ($P \leq 0.05$) on the number of first- and second-order roots. According to the comparison of means shown in Table 4, the highest number of first- and second-order roots (2.4 and 4.5, respectively) was generated by using perlite as substrate. On average 26 % rooting was obtained in the trial.

Substrate has proved to be very important in root production, both in terms of number and length; for example, the use of sawdust fosters a greater number of roots than pine bark, due to the fact that the former

estaca enraizada aquella que presentara al menos una raíz de primer orden ≥ 1 cm de longitud. En las estacas enraizadas se contó el número de raíces de primer y segundo orden, y se midió la longitud de la raíz más larga para ambos tipos de raíz.

La probabilidad de enraizado se analizó con un modelo de regresión binaria con tres predictores (factores): el factor 3 fue la concentración de AIB ($k = 1, 2$), el factor 2 fue el tipo de estaca ($j = 1, 2$) y el factor 1, el tipo de sustrato ($i = 1, 2$). El modelo utilizado se presenta en la siguiente ecuación:

$$\text{logit}p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1 - p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 D1_i + \beta_2 D2_j + \beta_3 D3_k$$

La variable p_{ijk} es la probabilidad de enraizamiento y se supone que depende del tipo de sustrato, el tipo de estaca y la concentración de AIB. En el modelo se asume que la variable respuesta $Y_{ijk} \sim \text{Bernoulli}(p_{ijk})$, $Y_{ijk} = 0$ (estaca no enraizada), $Y_{ijk} = 1$ (estaca enraizada); $D1 = 0$ si el tipo de sustrato es agrolita y 1 si es mezcla, $D2 = 0$ si el tipo de estaca es apical y 1 si es basal, finalmente $D3 = 0$ si la concentración de AIB es nula (0 ppm) y 1 si la concentración es 10,000 ppm. El modelo fue ajustado mediante PROC LOGISTIC en el programa SAS 9.1 (Statistical Analysis System [SAS], 2004).

El porcentaje de enraizado y crecimiento de las estacas se analizaron con el procedimiento GLM en el programa SAS 9.1 (SAS, 2004). La comparación de medias se hizo con la prueba de Tukey ($P = 0.05$). Previo al análisis de varianza, la variable porcentaje de enraizado fue transformada con la función arcoseno ($y = \arcseno p$), ya que los datos no cumplían con la normalidad y homogeneidad de varianza. Las variables de conteo (número de raíces) también fueron transformadas usando la función logaritmo natural ($y' = \ln [\text{conteos}]$), dado que al analizar los datos no se ajustaron a la distribución Poisson (λ). Posteriormente, los valores promedio del porcentaje de enraizado y número de raíces fueron retransformados a las unidades originales.

Resultados y discusión

Efecto del tipo de sustrato sobre el enraizamiento de estacas de *P. leiophylla*

El Cuadro 2 muestra el resultado del modelo de regresión binaria para el análisis de la probabilidad de enraizamiento de estacas de *P. leiophylla*. Con base en este análisis, el tipo de sustrato no tuvo efecto en la probabilidad de enraizado ($X^2 = 1.0$, $gl = 1$, $P = 0.314$). Por otra parte, el Cuadro 3 presenta el análisis de varianza para cada factor evaluado. En dicho cuadro se observa que el tipo de sustrato no tuvo efecto sobre el porcentaje de enraizamiento, crecimiento de las estacas ni en la longitud de raíces, pero si tuvo efecto ($P \leq 0.05$) en

has neutral pH (Santelices & Cabello, 2006). In our study, perlite with pH 6.5 to 7.5 (commercial form) could be an important factor for the development and growth of first- and second-order roots, in contrast to what has been observed with peat that has acid values (Rodríguez-Macías et al., 2010). Although this research could confirm what has been reported by other authors on the importance that neutral pH values in substrate have in favoring rhizogenesis (Hartmann & Kester, 2001), in our case, given the number and growth of roots, other physicochemical studies with perlite are needed to clarify its effects on rooting cuttings. The results suggest that the use of perlite as substrate is a viable option in the rooting of *P. leiophylla* cuttings, compared to peat-perlite-vermiculite (1:1:1) substrate, due to the economic aspects and benefits obtained in the root morphology produced.

el número de raíces de primer y segundo orden. De acuerdo con la comparación de medias mostrada en el Cuadro 4, el mayor número de raíces de primer (2.4) y segundo orden (4.5) se generó al utilizar agrolita como sustrato. En promedio se obtuvo 26 % de enraizado en todo el ensayo.

El sustrato ha mostrado ser muy importante en la producción de raíces, tanto en número como en longitud; por ejemplo, el uso de aserrín propicia mayor número de raíces que la corteza de pino, atribuyéndose a que el primero presenta pH neutro (Santelices & Cabello, 2006). En nuestro estudio, la agrolita con pH 6.5 a 7.5 (presentación comercial) pudo ser un factor importante para el desarrollo y crecimiento de las raíces de primer y segundo orden, en contraste con lo observado con la turba que tiene valores ácidos (Rodríguez-Macías et

Table 2. Estimated coefficients of the binary regression model, based on the factors considered in analyzing the probability of rooting *Pinus leiophylla* cuttings.

Cuadro 2. Coeficientes estimados del modelo de regresión binaria, con base en los factores considerados para analizar la probabilidad de enraizamiento de estacas de *Pinus leiophylla*.

Coefficient / Coeficiente	Estimate / Estimador	Standard error / Error estándar	X ²	P
β_0	-1.663	0.244	46.252	<.0001
β_1	0.225	0.224	1.012	0.3144
β_2	1.252	0.233	28.689	<.0001
β_3	-0.275	0.224	1.508	0.2193

$$\text{Model: } \text{logit} p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1 - p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 D1_i + \beta_2 D2_j + \beta_3 D3_k$$

Where: p_{ijk} is the probability of rooting, $p_{ijk} = 0$ (cutting not rooted), $p_{ijk} = 1$ (rooted cutting). D1 = 0 if the substrate type is perlite and 1 if it is the mixture, D2 = 0 if the cutting type is apical and 1 if it is basal; D3 = 0 if the IBA concentration is zero (0 ppm) and 1 if the concentration is 10,000 ppm.

$$\text{Modelo: } \text{logit} p_{ijk} = \log \frac{p_{ijk}}{1 - p_{ijk}} = \beta_0 + \beta_1 D1_i + \beta_2 D2_j + \beta_3 D3_k$$

Donde: p_{ijk} es la probabilidad de enraizamiento, $p_{ijk} = 0$ (estaca no enraizada), $p_{ijk} = 1$ (estaca enraizada). D1 = 0 si el tipo de sustrato es agrolita y 1 si es mezcla, D2 = 0 si el tipo de estaca es apical y 1 si es basal; D3 = 0 si la concentración de AIB es nula (0 ppm) y 1 si la concentración es 10,000 ppm.

Effect of cutting type on rooting of *P. leiophylla* cuttings

Cutting type had a significant effect on rooting probability ($X^2 = 28.69$, $g1 = 1$, $P < 0.0001$) (Table 2). The binary regression model indicates that rooting probability is 3.5 times greater (value obtained from the exponential of the coefficient for the effects of treatment; that is, $\exp[1.252 = 3.5]$) when a basal cutting is used rather than an apical one. The type of cutting did not affect its growth during the rooting process, or the number and length of first-order roots, but it did have an effect ($P \leq 0.05$) on the rooting percentage and the number and length of second-order roots (Table 3). The average of rooted cuttings ranged from 14.9 % in apical cuttings to 38.5 % in basal cuttings, while the number and length of second-order roots was higher in basal cuttings (Table 4).

The basal cuttings of *P. leiophylla* are more juvenile in structure and chronology than apical ones, which could

al., 2010). Aunque esta investigación podría confirmar lo señalado por otros autores sobre la importancia de que los valores neutros de pH en el sustrato favorecen la rizogénesis (Hartmann & Kester, 2001), en este caso, dado el número y crecimiento de raíces, otros estudios fisicoquímicos con la agrolita son necesarios para precisar sus efectos en el enraizamiento de estacas. Los resultados sugieren que el uso de agrolita como sustrato es una opción viable en el enraizado de estacas de *P. leiophylla*, comparado con el sustrato de turba-agrolita-vermiculita (1:1:1), debido a los aspectos económicos y beneficios obtenidos en la morfología de la raíz producida.

Efecto del tipo de estaca sobre el enraizamiento de estacas de *P. leiophylla*

El tipo de estaca tuvo efecto significativo en la probabilidad de enraizado ($X^2 = 28.69$, $g1 = 1$, $P < 0.0001$) (Cuadro 2). El modelo de regresión binaria indica que

explain the results obtained in both rooting percentage and root morphology (length and number of second-order roots) of the cutting types tested. In conifers, several studies have shown that the juvenility of the explant is required to increase the rooting percentage and that positively influences the length, area and volume of the root (Foster, Stelzer, & McRae, 2000). In *Gmelina arborea* Roxb., the position of the cutting is the only factor that affects the rooting percentage (Ruíz-García, Vargas-Hernández, Cetina-Alcalá, & Villegas-Monter, 2005). The characteristics of the stem from where the cuttings are taken, such as juvenility, ontogeny and position, as well as the management of the mother plants, are the factors that most affect the percentage of rooted cuttings in *Taxus globosa* Schltdl. (Muñoz-Gutiérrez, Vargas-Hernández, López-Upton, & Soto-Hernández, 2009), *Abies fraseri* (Pursh) Poir. (Rosier, Frampton, Goldfarb, Wise, & Blazich, 2005) and *Pinus virginiana* Mill. (Rosier et al., 2006).

la probabilidad de enraizamiento es 3.5 veces mayor (valor obtenido de la exponencial del coeficiente para los efectos del tratamiento; es decir, $\exp[1.252 = 3.5]$ cuando se usa una estaca de tipo basal que con una de tipo apical. El tipo de estaca no afectó el crecimiento de la misma durante el proceso de enraizado, ni el número y longitud de raíces de primer orden, pero si tuvo efecto ($P \leq 0.05$) en el porcentaje de enraizado y en el número y longitud de raíces de segundo orden (Cuadro 3). El promedio de estacas enraizadas varió de 14.9 % en estacas apicales a 38.5 % en estacas basales, mientras que el número y longitud de raíces de segundo orden fue mayor en las estacas basales (Cuadro 4).

Las estacas basales de *P. leiophylla* son más juveniles en estructura y cronología que las apicales, lo que podría explicar los resultados obtenidos tanto en el porcentaje de enraizado como en la morfología de la raíz (longitud

Table 3. Analysis of variance ($P \leq 0.05$) of the factors evaluated for rooting cuttings and roots formed of *Pinus leiophylla* after 84 days of treatment.

Cuadro 3. Análisis de varianza ($P \leq 0.05$) de los factores evaluados para el enraizamiento de estacas y raíces formadas de *Pinus leiophylla*, después de 84 días de tratamiento.

Source of variation/ Fuente de variación	Cutting/Estacas		Number of roots/ Número de raíces		Root length/Longitud de raíces	
	Rooted/ Enraizado	Growth/ Crecimiento	First order/ Primer orden	Second order/ Segundo orden	First order/ Primer orden	Second order/ Segundo orden
Substrate type (S)/ Tipo de sustrato (S)	0.4107	0.2068	0.0194	0.0006	0.7865	0.2007
Cutting type (C)/ Tipo de estaca (E)	0.0008	0.0623	0.9969	0.0077	0.0543	0.0009
IBA concentration/ Concentración AIB	0.4730	0.9504	0.0194	0.6350	0.1457	0.1815
C x IBA/E x AIB	0.9008	0.1109	0.4865	0.0011	0.5739	0.0001
S x C/S x E	0.8153	0.0180	0.1563	0.7663	0.0934	0.8144
S x IBA/S x AIB	0.5659	0.0002	0.0614	0.0001	0.0053	0.2865
S x C x IBA/ S x E x AIB	0.0219	0.0083	0.9381	0.0004	0.4828	0.0003

Table 4. Comparison of means of the factors evaluated for rooting cuttings and roots formed of *Pinus leiophylla* after 84 days into the experiment.**Cuadro 4. Comparación de medias de los factores evaluados para el enraizamiento de estacas y raíces formadas de *Pinus leiophylla*, después de 84 días de iniciado el experimento.**

Factor/ Factor	Level/ Nivel	Cuttings/Estacas		Number of roots/ Número de raíces		Root length (cm)/ Longitud de raíces (cm)	
		Rooted (%)/ Enraizado (%)	Growth (cm)/ Crecimiento (cm)	Primary/ Primarias	Secondary/ Secundarias	Primary/ Primarias	Secondary/ Secundarias
Substrate/ Sustrato	Perlite/ Agrolita	23.6 ^a	1.9 ^a	2.4 ^a	4.5 ^a	8.6 ^a	1.7 ^a
	Mixture/ Mezcla	28.1 ^a	2.4 ^a	1.6 ^b	2.5 ^b	8.7 ^a	1.5 ^a
Cutting/ Estaca	Apical	14.9 ^b	1.8 ^a	1.9 ^a	2.7 ^b	8.1 ^a	1.2 ^b
	Basal	38.5 ^a	2.5 ^a	1.9 ^a	4.1 ^a	9.3 ^a	2.0 ^a
IBA/AIB	0 ppm	27.8 ^a	2.1 ^a	1.6 ^b	3.3 ^a	8.2 ^a	1.7 ^a
	10,000 ppm	23.9 ^a	2.2 ^a	2.4 ^a	3.5 ^a	9.1 ^a	1.5 ^a
Average/ Promedio		26.1	2.1	1.9	3.4	8.6	1.6

IBA: indole 3-butyric acid. Mean values in each column within the same factor followed by a different letter indicate significant differences between them, according to the Tukey test ($P \leq 0.05$).

AIB: Ácido indolbutírico. Valores medios en cada columna dentro de un mismo factor seguidos por letra diferente indican diferencias significativas entre ellas, de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Effect of IBA on rooting of *P. leiophylla* cuttings

IBA concentration had no significant effect ($X^2 = 1.5$, $gl = 1$, $P = 0.2193$) on rooting probability (Table 2); it was only significant ($P = 0.0194$) for the number of first-order roots (Table 3). This suggests that *P. leiophylla* cuttings are able to root without the application of IBA. Aparicio-Rentería, Juárez-Cerrillo, and Sánchez-Velázquez (2014) obtained a similar response in *Pinus patula* Schl. et Cham. cuttings, which rooted with percentages above 90 % without the application of growth regulators. However, in our study, IBA contributed to the formation of a larger number of first-order roots (2.4 roots with IBA and 1.6 without it) (Table 4). Similar results have also been obtained in studies with species of pine and eucalyptus, where the IBA stimulated the production of a higher number of roots and other attributes related to root morphology (Majada et al., 2011; Navarrete-Luna & Vargas-Hernández, 2005). On the other hand, Hinesley, Blazich, and Snelling (1994) evaluated various IBA concentrations (0.0, 5.0, 10.0 and 15.0 g·liter⁻¹) in *Chamaecyparis thyoides* (L.) B. S. P., and found that the number of first-order roots increased linearly ($r = 0.70$). Production of first-order roots provides increased water uptake and nutrient translocation, which improves plant growth and development (Davis & Jacobs, 2005). IBA application is therefore desirable in order to increase the production of first-order roots and improve the morphological attributes of *P. leiophylla* cuttings.

y número de raíces de segundo orden) de los tipos de estaca probados. En coníferas, varios estudios han mostrado que la juvenilidad del explante es requisito para incrementar el porcentaje de enraizamiento y que influye positivamente en la longitud, área y volumen de la raíz (Foster, Stelzer, & McRae, 2000). En *Gmelina arborea* Roxb., la posición de la estaca es el único factor que influye en el porcentaje de enraizado (Ruíz-García, Vargas-Hernández, Cetina-Alcalá, & Villegas-Monter, 2005). Las características del tallo de donde se toman las estacas, tales como juvenilidad, ontogenia y posición, así como el manejo de las plantas madre, son los factores que inciden mayormente en el porcentaje de estacas enraizadas en *Taxus globosa* Schtdl. (Muñoz-Gutiérrez, Vargas-Hernández, López-Upton, & Soto-Hernández, 2009), *Abies fraseri* (Pursh) Poir. (Rosier, Frampton, Goldfarb, Wise, & Blazich, 2005) y *Pinus virginiana* Mill. (Rosier et al., 2006).

Efecto del AIB sobre el enraizamiento de estacas de *P. leiophylla*

La concentración de AIB no tuvo efecto significativo ($X^2 = 1.5$, $gl = 1$, $P = 0.2193$) en la probabilidad de enraizado (Cuadro 2), solo fue significativo ($P = 0.0194$) para el número de raíces de primer orden (Cuadro 3). Lo anterior indica que las estacas de *P. leiophylla* tienen capacidad de enraizar sin la aplicación de AIB. Aparicio-Rentería, Juárez-Cerrillo, y Sánchez-Velázquez (2014) obtuvieron una respuesta similar en estacas de

Effect of interactions on rooting of *P. leiophylla* cuttings

Only the interaction of the three factors (substrate type*cutting type*IBA concentration) had an effect ($P = 0.0219$) on rooting percentage (Table 3), which ranged from 45.3 % in the substrate composed of peat-perlite-vermiculite, with basal cuttings and IBA(10,000 ppm), to 8.6 % in perlite, with apical cuttings and IBA (0 ppm). Figure 1 shows the effect of the eight evaluated treatments on the rooting percentage.

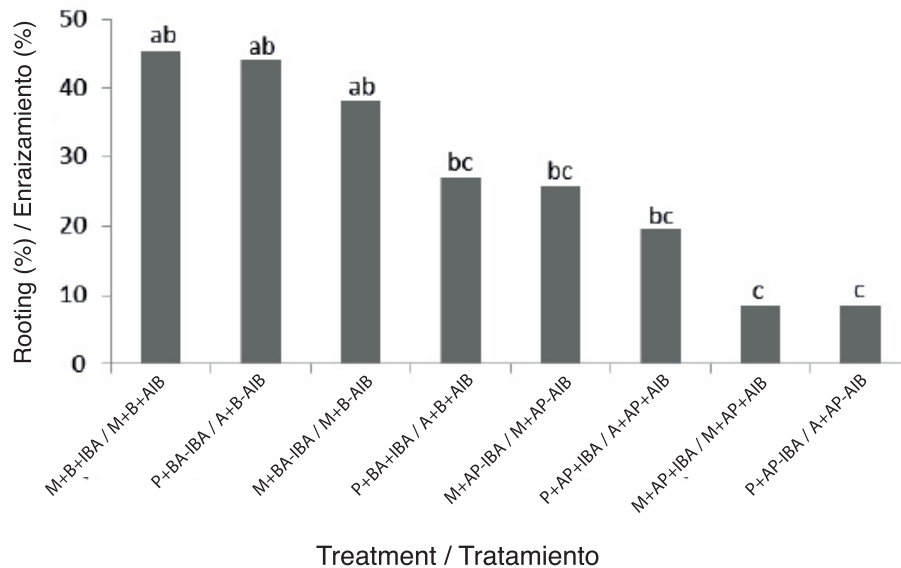


Figure 1. Effect of the eight tested treatments on the rooting of *Pinus leiophylla* cuttings after 84 days into the experiment. Substrate: M = Mixture, P = perlite; Cutting: Basal = BA, Apical = AP; IBA: +IBA = 10,000 ppm, -IBA = 0 ppm. Different letters in each column indicate statistically significant differences according to Tukey's test ($P = 0.05$).

Figura 1. Efecto de los ocho tratamientos probados en el enraizado de estacas de *Pinus leiophylla* después de 84 días de iniciado el experimento. Sustrato: M = Mezcla, A = Agrolita; Estaca: Basal = BA, Apical = AP; AIB: +AIB = 10,000 ppm, -AIB = 0 ppm. Letras diferentes en cada columna indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($P = 0.05$).

The substrate*cutting and substrate*IBA interactions, and the triple interaction showed significant effects ($P \leq 0.05$) on cutting growth during the rooting process (Table 3). The peat-perlite-vermiculite substrate favored greater cutting growth (3.1 cm), while some of the substrate*IBA interactions and the triple interaction ($P \leq 0.05$) affected cutting growth (Figure 2). Rooting percentages of *P. leiophylla* are within the range of those reported by several authors for other species of *Pinus* (Lebude et al., 2004; Mori et al., 2011; Rosier et al., 2006). It should be noted that most of the published studies were carried out with controlled temperature and humidity, testing different misting systems that in many cases create disease problems (Preece, 2003). In the present study we used "moderate" technology constituted by micro-tunnels, where the hermetically-sealed plastic cover (Ramírez-Villalobos, Urdaneta-Fernández, & Vargas-Simon, 2004) kept the relative humidity high, thereby

Pinus patula Schl. et Cham., las cuales enraizaron con porcentajes superiores de 90 % sin la aplicación de reguladores de crecimiento. No obstante, en nuestro estudio, el AIB contribuyó en la formación de mayor número de raíces de primer orden (2.4 raíces con AIB y 1.6 sin AIB) (Cuadro 4). También se han obtenido resultados similares en investigaciones con especies de pino y eucalipto, donde el AIB estimuló la producción de mayor número de raíces y de otros atributos relacionados con la morfología de la raíz (Majada et al., 2011; Navarrete-Luna & Vargas-Hernández, 2005).

Por otra parte, Hinesley, Blazich, y Snelling (1994) evaluaron diversas concentraciones de AIB (0.0, 5.0, 10.0 y 15.0 g·litro⁻¹) en *Chamaecyparis thyoides* (L.) B. S. P., y encontraron que el número de raíces de primer orden incrementó linealmente ($r = 0.70$). La producción de raíces de primer orden proporciona mayor superficie de captación de agua y translocación de nutrientes, lo que mejora el crecimiento y desarrollo de la planta (Davis & Jacobs, 2005). Por tanto, la aplicación de AIB sería deseable para incrementar la producción de raíces de primer orden y mejorar los atributos morfológicos de las estacas de *P. leiophylla*.

Efecto de las interacciones sobre el enraizamiento de estacas de *P. leiophylla*

Únicamente la interacción de los tres factores (tipo de sustrato*tipo de estaca*concentración de AIB)

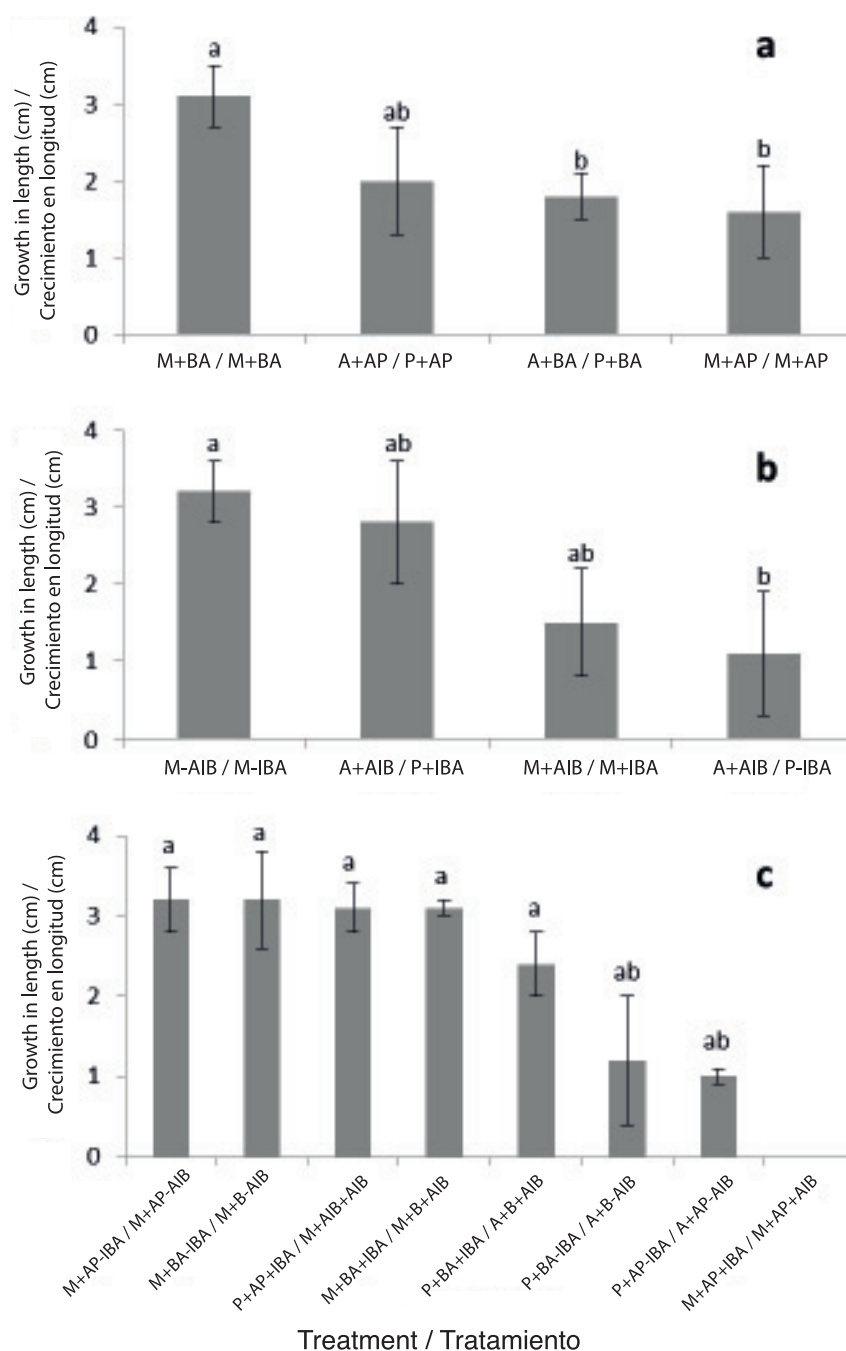


Figure 2. Effect of interactions on growth in length of the *Pinus leiophylla* cutting after 84 days of treatment: a) substrate*cutting, b) substrate*indole 3-butyric acid (IBA) concentration and c) substrate*cutting*IBA. Substrate: M = Mixture, P = perlite; Cutting: Basal = BA, Apical = AP; IBA: +IBA = 10,000 ppm, -IBA = 0 ppm. Different letters in each column indicate statistically different means according to the Tukey test ($P = 0.05$). Bars indicate standard error of the mean.

Figura 2. Efecto de las interacciones sobre el crecimiento en longitud de la estaca de *Pinus leiophylla* después de 84 días de tratamiento: a) sustrato*estaca, b) sustrato*concentración de ácido indolbutírico (AIB) y c) sustrato*estaca*AIB. Sustrato: M = Mezcla, A = Agrolita; Estaca: Basal = BA, Apical = AP; AIB: +AIB = 10,000 ppm, -AIB = 0 ppm. Letras diferentes en cada columna indican medias estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P = 0.05$). Las líneas sobre las barras indican error estándar de la media.

avoiding the need for watering during the experiment.

The number of first-order roots was not affected by any of the interactions, while the number of second-order roots showed an effect ($P \leq 0.05$) as a result of the cutting type*IBA and substrate type*IBA interactions, as well as the triple interaction (Table 3). Figure 3

tuvo efecto ($P = 0.0219$) en el porcentaje de enraizado (Cuadro 3), el cual varió de 45.3 % en el sustrato compuesto por turba-agrolita-vermiculita, con estacas basales y con AIB(10,000 ppm), a 8.6 % en agrolita, con estacas apicales y AIB (0 ppm). La Figura 1 muestra el efecto de los ocho tratamientos evaluados sobre el porcentaje de enraizado.

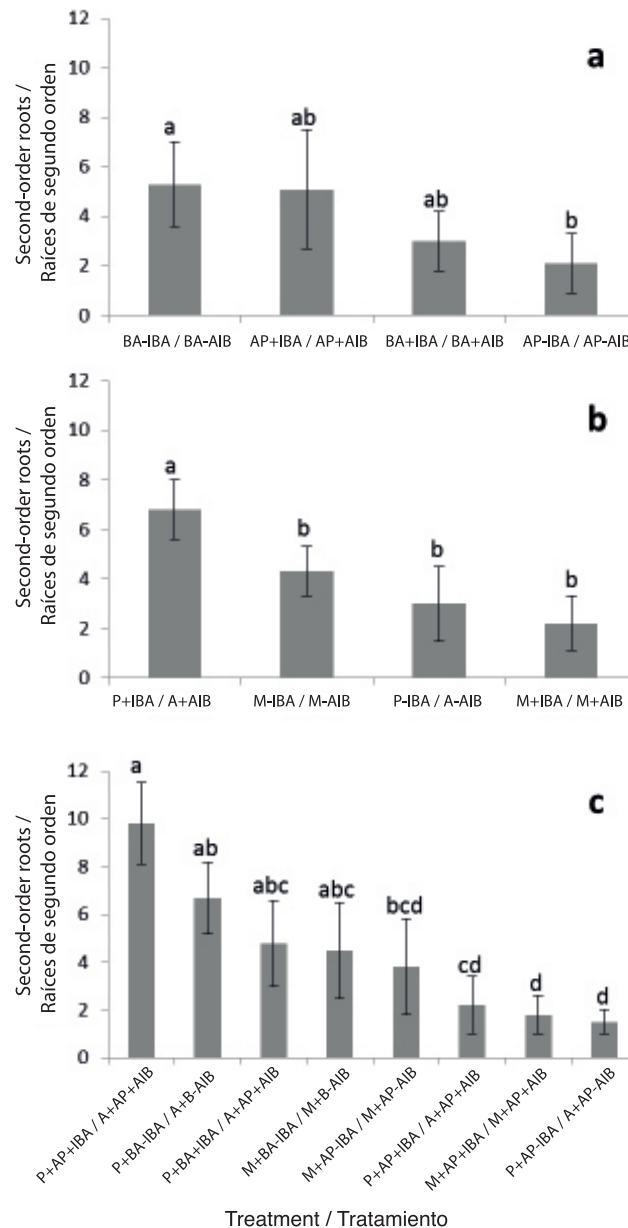


Figure 3. Effect of interactions on the number of secondary roots in *Pinus leiophylla* cuttings after 84 days of treatment: a) cutting*indole 3-butyric acid (IBA) concentration, b) substrate*IBA and c) substrate*cutting*IBA. Substrate: M = Mixture, P = Perlite; Cutting: Basal = BA, Apical = AP; IBA: +IBA = 10,000 ppm, -IBA = 0 ppm. Different letters in each column indicate statistically different means according to the Tukey test ($P = 0.05$). Bars indicate standard error of the mean.

Figura 3. Efecto de las interacciones sobre el número de raíces secundarias en estacas de *Pinus leiophylla* después de 84 días de tratamiento: a) estaca*concentración de ácido indolbutírico (AIB), b) sustrato*AIB y c) sustrato*estaca*AIB. Sustrato: M = Mezcla, A = Agrolita; Estaca: Basal = BA, Apical = AP; AIB: +AIB = 10,000 ppm, -AIB = 0 ppm. Letras diferentes en cada columna indican medias estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P = 0.05$). Las líneas sobre las barras indican error estándar de la media.

shows a graphical representation of these interactions. The basal cutting*IBA(0 ppm) interaction resulted in 5.3 secondary roots, while the apical cutting*IBA(0 ppm) interaction only fostered 2.1 roots (Figure 3a); the perlite*IBA(10,000 ppm) interaction also formed more than double the number of roots of the other interactions (Figure 3b); finally, the difference between the triple interaction with the largest and smallest number of roots was 8.7 secondary roots (Figure 3c). The results show that the exogenous IBA concentration favors the formation of *P. leiophylla* roots depending on the cutting type and substrate type; in *G. arborea*, it has been observed that root formation is favored by the interaction between the IBA concentration and cutting type (Ruíz et al., 2005).

Regarding root length, only the substrate type*IBA interaction had an effect ($P = 0.0053$) on the length of primary roots (Table 3), where perlite*IBA (10,000 ppm) had the greatest length (10 cm) as shown in Figure 4. The cutting type*IBA interaction and the triple interaction affected ($P \leq 0.05$) the length of secondary roots (Table

La interacción sustrato*estaca, sustrato*AIB y la triple interacción mostraron efectos significativos ($P \leq 0.05$) en el crecimiento de la estaca durante el proceso de enraizado (Cuadro 3). El sustrato de turba-agrolita-vermiculita favorece un mayor crecimiento de la estaca (3.1 cm), mientras que algunas de las interacciones de sustrato*AIB y la triple interacción ($P \leq 0.05$) afectan el crecimiento de la estaca (Figura 2). Los porcentajes de enraizado de *P. leiophylla* se encuentran en el rango de los obtenidos por varios autores en otras especies de *Pinus* (Lebude et al., 2004; Mori et al., 2011; Rosier et al., 2006). Debe considerarse que la mayoría de los trabajos publicados se realizan con temperatura y humedad controlada, probando diferentes sistemas de nebulización que en varios casos generan problemas de enfermedades (Preece, 2003). En el presente estudio se usó tecnología “moderada” constituida por microtúneles, donde la cubierta de plástico cerrada herméticamente (Ramírez-Villalobos, Urdaneta-Fernández, & Vargas-Simón, 2004) mantuvo la humedad relativa alta, evitando el riego durante el experimento.

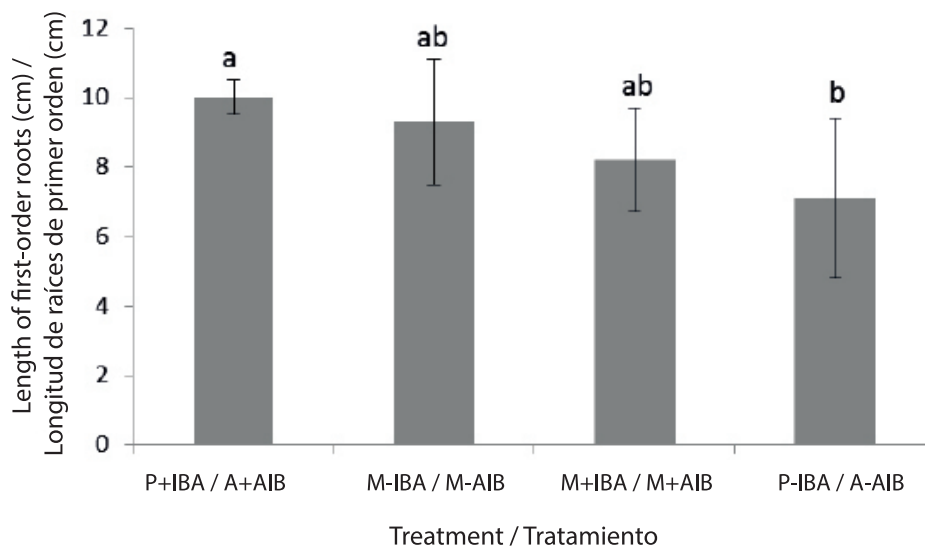


Figure 4. Effect of the substrate*indole 3-butyric acid (IBA) concentration on the length of first-order roots in *Pinus leiophylla* cuttings after 84 days of treatment. Substrate: M = Mixture, P = Perlite; IBA: +IBA = 10,000 ppm, -IBA = 0 ppm. Different letters in each column indicate statistically different means according to the Tukey test ($P = 0.05$). Bars indicate standard error of the mean.

Figura 4. Efecto de la interacción sustrato*concentración de ácido indolbutírico (AIB) sobre la longitud de raíces de primer orden en estacas de *Pinus leiophylla*, después de 84 días de tratamiento. Sustrato: M = Mezcla, A = Agrolita; AIB: +AIB = 10,000 ppm, -AIB = 0 ppm. Letras diferentes en cada columna indican medias estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P = 0.05$). Las líneas sobre las barras indican error estándar de la media.

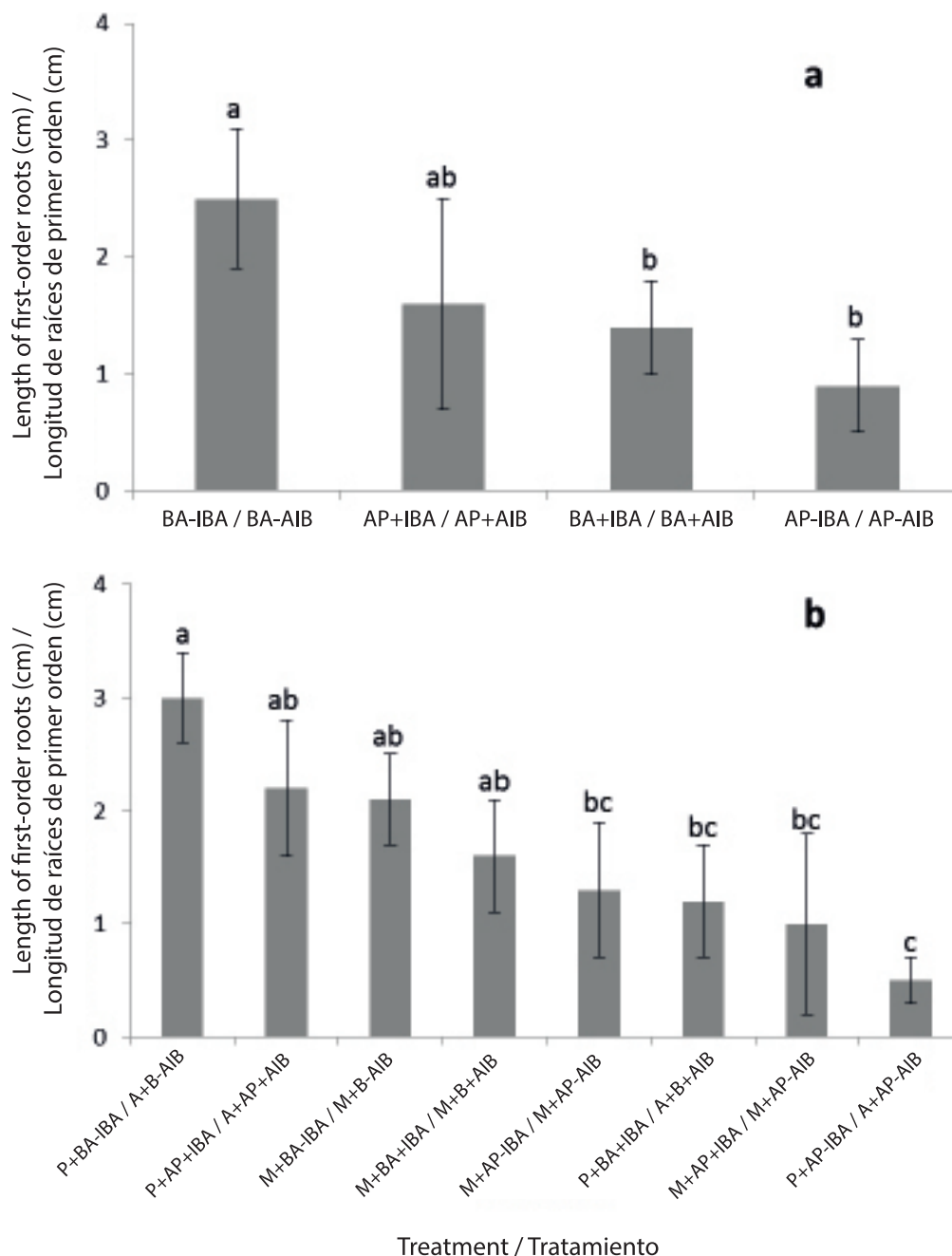


Figure 5. Effect of the (a) cutting*indole 3-butyric acid (IBA) concentration interaction and the (b) substrate*cutting*IBA interaction on the length of second-order roots in *Pinus leiophylla* cuttings after 84 days of treatment. Cutting: Basal = BA, Apical = AP; IBA: +IBA = 10,000 ppm, -IBA = 0 ppm. Different letters in each column indicate statistically different means according to the Tukey test ($P = 0.05$). Bars indicate standard error of the mean.

Figura 5. Efecto de la interacción (a) estaca*concentración de ácido indolbutírico (AIB) y (b) sustrato*estaca*AIB sobre la longitud de raíces de segundo orden en estacas de *Pinus leiophylla* después de 84 días de tratamiento. Estaca: Basal = BA, Apical = AP; AIB: +AIB = 10,000 ppm, -AIB = 0 ppm. Letras diferentes en cada columna indican medias estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ($P = 0.05$). Las líneas sobre las barras indican error estándar de la media.

3). Figure 5 shows that the cutting type*IBA interaction presented a 1.6-cm difference between the largest and smallest length, while the combination of the three factors had a 2.5-cm difference between the largest and smallest length. King et al. (2011) also observed increased root length as a result of the interaction of factors in *Taxodium distichum* (L.) Rich., obtaining root lengths of 3.8-11.9 cm depending on the substrate type and IBA concentration.

Conclusions

The use of basal cuttings with 10,000 ppm of IBA and perlite as the substrate is the most feasible treatment for rooting cuttings from 18-month-old *P. leiophylla* plants. The technique and the method used in this study could represent an affordable option for vegetative propagation of conifers without large investments in infrastructure.

End of English version

References / Referencias

- Aparicio-Rentería, A., Juárez-Cerrillo, S. F., & Sánchez-Velázquez, L. R. (2014). Propagación por enraizamiento de estacas y conservación de árboles plus extintos de *Pinus patula* procedentes del norte de Veracruz, México. *Madera y Bosque*, 20(1), 85–96. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61730576008>
- Davis, A. S., & Jacobs, D. F. (2005). Quantifying root system quality of nursery seedlings and relationship to outplanting performance. *New Forests*, 30, 295–311. doi: 10.1007/s11056-005-7480-y
- Foster, G. S., Stelzer, H. E., & McRae, J. B. (2000). Loblolly pine cutting morphological traits: Effects on rooting and field performance. *New Forests*, 19, 291–306. doi: 10.1023/A:1006691808772
- Greenwood, M. S., & Weir, R. J. (1994). Genetic variation in rooting ability of loblolly pine cutting: Effects of auxin and family on rooting by hypocotyl cuttings. *Tree Physiology*, 15, 41–45. doi: 10.1093/treephys/15.1.41
- Hartmann, H., & Kester, D. (2001). *Propagación de plantas. Principios y prácticas*. México, D. F.: Editorial Continental.
- Hinesley, L. E., Blazich, F. A., & Snelling, L. K. (1994). Propagation of Atlantic white cedar by stem cuttings. *HortScience*, 29(3), 217–219. Obtenido de <http://hortsci.ashspublications.org/content/29/3/217.full.pdf>
- King, A. R., Arnold, M. A., Welsh, D. F., & Watson, W. T. (2011). Substrates, wounding, and growth regulator concentrations alter adventitious rooting of Baldcypress cuttings. *Hortscience*, 46(10), 1387–1393. Obtenido de <http://hortsci.ashspublications.org/content/46/10/1387.full.pdf+html>

El número de raíces de primer orden no fue afectado por alguna de las interacciones, mientras que el número de raíces de segundo orden mostró efecto ($P \leq 0.05$) por las interacciones tipo de estaca*AIB, tipo de sustrato*AIB y por la triple interacción (Cuadro 3). La Figura 3 muestra la representación gráfica de dichas interacciones. La interacción estaca basal*AIB(0 ppm) originó 5.3 raíces secundarias, mientras que la interacción estaca apical*AIB(0 ppm) solo originó 2.1 raíces (Figura 3a); la interacción agrolita* AIB(10,000 ppm) también formó más del doble de raíces con respecto al resto de las interacciones (Figura 3b); finalmente, la diferencia entre la triple interacción con mayor y menor número de raíces fue de 8.7 raíces secundarias (Figura 3c). Los resultados muestran que la concentración exógena de AIB favorece la formación de raíces de *P. leiophylla* dependiendo del tipo de estaca y tipo de sustrato; en *G. arborea* se ha observado que la formación de raíces es favorecida por la interacción entre la concentración de AIB y el tipo de estaca (Ruíz et al., 2005).

Con relación a la longitud de raíces, únicamente la interacción tipo de sustrato*AIB tuvo efecto ($P = 0.0053$) sobre la longitud de raíces primarias (Cuadro 3), donde la agrolita*AIB(10,000 ppm) presentó la mayor longitud (10 cm) tal como se observa en la Figura 4. La interacción tipo de estaca*AIB y la triple interacción afectaron ($P \leq 0.05$) la longitud de las raíces secundarias (Cuadro 3). En la Figura 5 se observa que la interacción tipo de estaca*AIB presentó diferencia de 1.6 cm entre la mayor y menor longitud, mientras que en la combinación de los tres factores se observó diferencia de 2.5 cm entre la mayor y menor longitud. King et al. (2011) también observaron mayor longitud de raíces por efecto de la interacción de factores en *Taxodium distichum* (L.) Rich., obteniendo longitudes de raíz de 3.8 a 11.9 cm dependiendo del tipo de sustrato y concentración de AIB.

Conclusiones

El uso de estacas basales con 10,000 ppm de AIB y agrolita como sustrato es el tratamiento más factible para enraizar estacas procedentes de plantas de *P. leiophylla* de 18 meses de edad. La técnica y el método usado en el presente trabajo podría representar una opción accesible para la propagación vegetativa de coníferas sin gran inversión en infraestructura.

Fin de versión en español

- Lebude, A. V., Goldfarb, B., Blazich, F. A., Wise, F. C., & Frampton, J. (2004). Mist, substrate water potential and cutting water potential influence rooting of stem cuttings of loblolly pine. *Tree Physiology*, 24, 823–831. Obtenido de <http://treephys.oxfordjournals.org/content/24/7/823.full.pdf>
- Majada, J., Martínez-Alonso, C., Feito, I., Kidelman, A., Aranda, I., & Alía, R. (2011). Mini-cuttings: An effective technique for the propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests*, 41, 399–412. doi: 10.1007/s11056-010-9232-x
- Mori, Y., Miyahara, F., Tsutsumi, Y., & Kondo, R. (2011). Effects of combinational treatment with ethephon and indole-3-butyric acid on adventitious rooting of *Pinus thunbergii* cuttings. *Plant Growth Regulators*, 63, 271–278. doi: 10.1007/s10725-010-9524-3
- Muñoz-Gutiérrez, L., Vargas-Hernández, J. J., López-Upton, J., & Soto-Hernández, M. (2009). Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa*. *New Forests*, 38, 187–196. doi: 10.1007/s11056-009-9139-6
- Navarrete-Luna, M. & Vargas-Hernández, J. J. (2005). Propagación asexual de clones de *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. utilizando radix en diferentes concentraciones. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*, 11(2), 111–116. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=62911206>
- Preece, J. E. (2003). A century of progress with vegetative plant propagation. *HortScience*, 38(5), 1015–1025. Obtenido de <http://hortsci.ashspublications.org/content/38/5/1015.full.pdf+html>
- Ragonezi, C., Klimaszewska, K., Castro, M. R., Lima, M., de Oliveira, P., & Zavattieri, M. A. (2010). Adventitious rooting of conifers: Influence of physical and chemical factors. *Trees*, 24, 975–992. doi: 10.1007/s00468-010-0488-8
- Ramírez-Villalobos, M., Urdaneta-Fernández, A., & Vargas-Simón, G. (2004). Tratamientos con ácido indolbutírico y lesionado sobre el enraizamiento de estacas de icaco (*Chrysobalanus icaco* L.). *Agronomía Tropical*, 54(2), 203–218. Obtenido de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0002-192X2004000200005&script=sci_arttext
- Rodríguez-Macías, R., Alcantar-González, E. G., Iñiguez-Covarrubias, G., Zamora-Natera, F., García-López, P. M., Ruíz-López, M. A., & Salcedo-Pérez, E. (2010). Caracterización física y química de sustratos agrícolas a partir de bagazo de agave tequilero. *Interciencia*, 35(7), 515–520. Obtenido de http://www.interciencia.org/v35_07/515.pdf
- Rosier, C. L., Frampton, J., Goldfarb, B., Blazich, F. A., & Wise, F. C. (2004). Growth stage, auxin type, and concentration influence rooting of Virginia pine stem cuttings. *HortScience*, 39(6), 1397–1402. Obtenido de <http://www.ces.ncsu.edu/fletcher/programs/xmas/production-east/virginia-pine-auxin-study.pdf>
- Rosier, C. L., Frampton, J., Goldfarb, B., Blazich, F. A., & Wise, F. C. (2006). Improving the rooting capacity of stem cuttings of Virginia pine by severe stumping of parent trees. *Southern Journal of Applied Forestry*, 30(4), 172–181. Obtenido de <http://www4.ncsu.edu/~frampton/personnel/documents/2006VirginiaPineStumpingStudy.pdf>
- Rosier, C. L., Frampton, J., Goldfarb, B., Wise, F. C., & Blazich, F. A. (2005). Stumping height, crow position, and age of parent tree influence rooting of stem cuttings of Fraser fir. *HortScience*, 40(3), 771–777. Obtenido de <http://hortsci.ashspublications.org/content/40/3/771.full.pdf>
- Ruiz-García, R., Vargas-Hernández, J. J., Cetina-Alcalá, V. M., & Villegas-Monter, A. (2005). Efecto del ácido indolbutírico (AIB) y tipo de estaca en el enraizado de *Gmelina arborea* Roxb. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 28(4), 319–326. Obtenido de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61028403>
- Santelices, R. & Cabello, A. (2006). Efecto del ácido indolbutírico, del tipo de la cama de arraigamiento, del sustrato, y del árbol madre en la capacidad de arraigamiento de estacas de *Nothofagus glauca* (Phil.) Krasser. *Revista Chilena de Historia Natural*, 79, 55–64. doi: 10.4067/S0716-078X2006000100005
- Sharma, S. K. & Verma, S. K. (2011). Seasonal influences on the rooting response of Chir pine (*Pinus roxburghii* Sarg.). *Annals of Forest Research*, 54(2), 241–247. Obtenido de <http://www.editurasilvica.ro/afr/54/2/sharma.pdf>
- Statistical Analysis System (SAS Institute). (2004). SAS/STAT 9.1 user's guide. Cary, NC, USA: Autor.
- Zobel, B. & Talbert, J. (1984). *Applied forest tree improvement*. New York, USA: John Wiley & Sons.