

ESTUDIO DE PROPAGACIÓN CLONAL POR ESQUEJES DEL PORTAINJERTO DE PALTO

'DUKE' (*Persea americana* Mill.) UTILIZANDO BROTES ETIOLADOS Y CÁMARAS

HÚMEDAS INDIVIDUALES

Víctor Escobedo Solórzano

I. INTRODUCCIÓN

El palto es un cultivo que en el Perú va tomando mayor importancia año tras año, creciendo como especie de agroexportación de una manera muy alentadora. Entre el 2005 y el 2008 el monto de las exportaciones pasó de 23'335,401 \$ a 58'420,672 \$, lo que significa un crecimiento de 150% en dicho período (Información). El principal destino de la palta peruana son los países de la Unión Europea. Como consecuencia de este auge, las principales empresas agroexportadoras están incrementando sus áreas sembradas. En este afán se encuentra la firma Camposol, que en el 2008 anunció que aumentará las 1,200 hectáreas, que tenía al 31 de diciembre del 2008, a 2,100 hectáreas a fines del año 2009, es decir, casi duplicará sus áreas sembradas (Pymex, 2009). El incremento de la oferta exportable no debe sustentarse únicamente en el aumento de las áreas sembradas, sino en el incremento de los rendimientos a través de una optimización del manejo técnico de las plantaciones, dentro del cual el uso de portainjertos adecuados es un componente de mucha importancia.

En el Perú la propagación comercial de patrones de palto es exclusivamente por semilla botánica, lo que trae grandes problemas en plantaciones comerciales instaladas sobre

este tipo de portainjertos, debido a su alto grado de heterocigosis que se refleja en un comportamiento desuniforme de las plantas injertadas. La propagación clonal de patrones, sobre los cuales se injerta el cv. deseado, es la única posibilidad de tener una plantación constituida por plantas genéticamente uniformes en su totalidad. Esta es la tendencia mundial, en lo que respecta a la propagación de palto.

Sin embargo, la marcada dificultad congénita del palto para formar raíces adventicias complica el proceso y resta eficiencia a las sofisticadas y costosas tecnologías que se siguen ensayando en diversas partes del mundo para la producción comercial de portainjertos clonales. La necesidad de superar dichas dificultades obliga a seguir buscando y/o adecuando tecnologías que reduzcan el costo y vuelvan más eficientes este tipo de propagación.

En palto han sido publicadas diversas técnicas para la producción de portainjertos clonales en vivero o invernadero, siendo Frolich y Platt (1971) quienes lograron sistematizar de manera adecuada una propagación vegetativa exitosa mediante el uso de brotes etiolados. A lo largo de los años la técnica ha seguido perfeccionándose de manera que incluso ya es aplicada a escala comercial por algunos viveros en otras partes del mundo. Sin embargo, la metodología aún es complicada y el precio de un palto sobre patrón clonal sigue siendo elevado, por ejemplo en Estados Unidos el precio varía entre 24.50 y 27.00 dólares (Brokaw Nursery, 2009), y en Europa entre 11.00 y 14.50 euros (Viveros Brokaw, 2009), según el patrón clonal utilizado y la variedad injertada.

Teniendo en cuenta los antecedentes anteriormente mencionados y basándose en el método de Frolich y Platt (1971), la presente investigación busca establecer un procedimiento eficiente y menos sofisticado para propagar patrones clonales de palto 'Duke' por esquejes, sustentada en los siguientes objetivos:

- Determinar la eficiencia del empleo de cámaras oscuras individuales (COI) para la etiolación de brotes sobre plantas nodrizas.
- Evaluar el efecto de algunos tratamientos de pre enraizado (TPE) aplicados a brotes de las plantas nodrizas, antes de ser separados como esquejes.
- Determinar la posibilidad de hacer enraizar esquejes de palto 'Duke' empleando cámaras húmedas individuales (CHI) en reemplazo del riego intermitente por nebulización para mantener vivo al esqueje.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Propagación vegetativa de portainjertos. Su importancia en palto

De manera general la propagación vegetativa puede emplearse para obtener una planta íntegra o sólo una nueva copa (injerto). En ambos casos el genotipo resultante será idéntico a la planta de donde se obtuvo el material vegetativo para la propagación.

Cuando por estos métodos se obtienen plantas íntegras, el proceso biológico es conocido como clonación y las plantas resultantes son llamadas clones y pueden ser utilizadas como plantas definitivas o como portainjertos. En numerosas especies frutales de gran importancia económica como las vides y los manzanos por ejemplo, es una práctica común el empleo de portainjertos clonales (Ben-Ya'acov y Zilberstaine, 1999).

El palto es una especie de polinización cruzada, monoembriónica y altamente heterocigota, características que se manifiestan en una muy acentuada variabilidad genética en las plantas de origen sexual. Debido a estas características, los portainjertos obtenidos de semilla, incluso a partir de una sola planta madre, son genéticamente desuniformes (Calabrese, 1992; Koller, 1992). Cuando sobre este tipo de patrones se injertan los cultivares seleccionados, la desuniformidad se refleja en la planta íntegra dando lugar por ejemplo a fuertes desigualdades en crecimiento y producción entre los árboles de las plantaciones, a pesar que las copas son genéticamente idénticas entre sí.

Para obviar la variabilidad, que resulta de utilizar portainjertos de palto producidos por semilla, es necesario recurrir a la producción de portainjertos clonales, sobre los cuales se injerta el cultivar deseado. De esta manera, las plantas definitivas de una plantación comercial serán genéticamente idénticas entre sí, tanto en patrón como en copa (Hartmann *et al.*, 1997; Ernst, 1999).

Como en muchas especies frutales, en los paltos también existe la necesidad de

seleccionar portainjertos en función de ciertos atributos que pueden ser características favorables para hacer frente a factores limitantes de la producción relacionados con el suelo como su tolerancia a la pudrición radicular, a la salinidad, al exceso calcáreo, a la falta de aireación, etc., o también para modificar algunas características hortícolas del cultivar injertado como vigor, precocidad en la entrada de producción, incremento de los rendimientos y la calidad, etc., incluso para reducir la susceptibilidad de los frutos a desórdenes fisiológicos o a enfermedades del fruto como la antracnosis (Willingham *et al.*, 2001).

Sin embargo, por las peculiares características del palto como especie anotadas oportunamente, los portainjertos que con algunas de estas características podrían ser seleccionados, deben de ser propagados vegetativamente para mantenerlas intactas. Es decir, el mejoramiento genético de portainjertos de palto sólo es viable si existe la posibilidad técnica y económica para propagar vegetativamente los genotipos mejorados (Alves de Oliveira *et al.*, 1999).

Aún cuando existen reportes que indican que desde las primeras décadas del siglo pasado ya existía interés por la propagación vegetativa de portainjertos de palto, la necesidad de contar con portainjertos clonales, se volvió mucho más apremiante a partir del año 1942 cuando se aisló el hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands como el patógeno causante de la pudrición radicular (Zentmyer, 1980; Zentmyer *et al.*, 1998), y la búsqueda de patrones tolerantes al patógeno se convirtió en una prioridad mundial en la investigación sobre el

cultivo del palto (Gallo *et al.*, 1999). Desde entonces muchos portainjertos con esas características, como los cultivares Duke 7, Thomas, Barr Duke, Toro Canyon, Merensky 2 (Dusa) y Evstro, han sido seleccionados principalmente en California (EEUU), Israel y Sudáfrica (Menge *et al.*, 1992; Menge, 2001). La propagación vegetativa de estos y otros con similares aptitudes, resulta indispensable para conservar íntegramente sus beneficiosas características. La heredabilidad de los caracteres de resistencia en el palto es generalmente baja, menos del 1%. Por lo tanto, las plantas producidas a partir de semillas colectadas de árboles resistentes generalmente muestran poca resistencia (Menge, 1999).

La búsqueda de nuevos portainjertos, y la necesidad de propagarlos clonalmente, también se ha orientado en otras direcciones que, como ya se ha mencionado, constituyen objetivos generales del mejoramiento de los portainjertos de palto (Ben-Ya'acov, 1985). Entre los que merecen destacarse, podemos indicar por ejemplo que en Israel la investigación se ha centrado en la tolerancia a la salinidad (Ben-Ya'acov *et al.*, 1992), para la que los paltos de raza antillana están mejor capacitados. De los seleccionados, los más representativos hasta el momento son: Maoz, Tsrifin 99, Degania 117, Ashdot 17 (Homsy, 2000; Fichet).

Otra metodología que puede ponerse en práctica gracias a la propagación vegetativa, es la que se conoce como la "copia" de árboles que por algunas características superiores deseables, sobresalen en una plantación comercial. De lo que se trata es de replicar estos árboles propagando clonalmente tanto el portainjerto (a través del enraizamiento de

acodos o esquejes) como la copa (a través del injerto). De este modo, la descendencia obtenida a partir de ellos, será una copia exacta de la planta que le dio origen (Castro *et al.*, 2003). Esta posibilidad cuenta con muchas ventajas en el país, debido a la heterogeneidad de nuestras plantaciones por la diversidad climática donde se cultiva palto y por el origen de los portainjertos que provienen de semillas que en la inmensa mayoría de casos son mezclas de mexicanos francos.

La principal limitante en la propagación clonal de portainjertos de palto, recae en la dificultad de los procedimientos, como consecuencia de la extremadamente limitada disposición genética de sus tejidos para formar raíces adventicias, lo que se ve reflejado en costos muy elevados en comparación a la propagación por semilla. A pesar de ello, la producción comercial de portainjertos clonales se ha incrementado en muchos países que son importantes productores. Así, por el año 2000, un estudio en California (EE.UU.), indicó que de los más de 370,000 árboles de palto vendidos por los viveros, cerca del 50% fueron árboles sobre patrones clonales. Por la misma época, en Sudáfrica el más grande vivero de paltos, Westfalia Nursery, tenía una capacidad anual de producir 140,000 plantas sobre patrones clonales (Whiley *et al.*, 2002).

2.2. Proceso de enraizamiento: algunos factores involucrados

El enraizamiento es un proceso regenerativo a través del cual se forman raíces adventicias. Se denomina raíz adventicia a cualquier raíz que se constituye a partir de un

tejido que no es la radícula del embrión. A pesar de haber sido estudiado e investigado ampliamente, la biología fundamental y el factor que desencadena la formación de raíces adventicias aun son desconocidos (Hartmann *et al.*, 1997). En palto, el tiempo que toma el enraizamiento de los tejidos del tallo suele ser variable y depende del método utilizado, las condiciones ambientales y las características del genotipo estudiado (Salazar-García *et al.*, 2004).

Reuveni y Raviv (1980) estudiando la capacidad de enraizamiento de esquejes con hojas, con riego nebulizado, de diez clones diferentes de palto, encontraron una correlación positiva entre la supervivencia de hojas y el éxito del enraizamiento. En efecto, la presencia de las hojas es fundamental en la formación de raíces adventicias. Las hojas y brotes jóvenes son fuente de la auxina ácido indol acético (AIA) y del almidón, entre otras sustancias que serían activadoras del enraizamiento a través de procesos que como ya se mencionó, aún no son del todo claros (Salazar-García y Borys, 1983; Veierskov, 1988). Sin embargo, algunos contenidos específicos en las hojas pueden alterar de alguna manera su efecto beneficioso. Reuveni y Raviv (1980), estudiando el contenido de once elementos en hojas de esquejes de palto, sólo encontraron correlación entre el manganeso (Mn) y la formación de raíces: en hojas de cultivares de difícil enraizamiento se hallaron altos contenidos de Mn, mientras que en aquellos de fácil enraizamiento el contenido del microelemento fue mucho menos. Se sabe que el Mn es un activador de la enzima oxidasa del AIA, que destruye las auxinas naturales en la base del esqueje o estaca, ocasionando condiciones adversas al enraizamiento.

Luego de que un esqueje es colocado en condiciones favorables para su enraizamiento, normalmente hay un desarrollo de callos en la parte basal del esqueje. El callo es una masa irregular de células parenquimáticas en diferentes estados de lignificación. En palto, no hay certeza en cuanto a la conexión anatómica entre la formación de callo y el enraizamiento. A veces las raíces aparecen directamente del tejido de la rama, con o sin desarrollo de callo en el esqueje (Ernst y Holtzhausen, 1987).

Otro factor que se considera directamente involucrado en el proceso de enraizamiento, es la auxina endógena, que es una hormona que se encuentra en forma natural en las plantas, y su forma más común es el ácido indol-3-acético (AIA). De manera general, las auxinas son reconocidas como sustancias que estimulan la división celular y frecuentemente fomentan el desarrollo de callos y raíces en varias especies vegetales. Taiz y Zeiger (1998), indican que las raíces se forman porque el AIA se tiende a acumular inmediatamente sobre cualquier herida, en brotes o raíces, como resultado del transporte polar de auxinas. Más aún, indican que en horticultura, el efecto estimulador de las auxinas en la formación de raíces adventicias ha sido muy útil en la propagación vegetativa por esquejes.

En especies como el palto que son difíciles de enraizar, la edad de la planta madre de la que se usan o toman los brotes para su propagación clonal, es un factor de mucha importancia (Hartmann *et al.*, 1997). Desde mucho tiempo atrás se ha reportado que la capacidad de enraizamiento en el palto disminuye al aumentar la edad de la planta madre,

comportamiento que se relacionó con el llamado factor de juvenilidad (Gillespie, 1956, 1957; Eggers y Halma, 1937). Estudios más recientes corroboran esta relación. Así, Kadman (1976), trabajando con el cultivar Mexícola, logró 100% de enraizamiento de esquejes que provenían de plántulas de 6 meses y sólo 30% cuando estas ya tenían 12 meses. Esta alta capacidad de enraizamiento de estacas de plántulas de palto también fue reportada por Krezdorn y Marte (1976) en varios cultivares.

2.3. Técnicas que promueven el proceso de enraizamiento

2.3.1. Etiolación

La etiolación es el desarrollo de plantas o partes de las mismas en ausencia de luz, que resulta en características como: hojas pequeñas no expandidas, brotes elongados y falta de clorofila, lo que da lugar a un color blanco de los tejidos. En la práctica, los propagadores de plantas también usan el término de etiolación para referirse a brotes de plantas madres o nodrizas forzados a crecer bajo una fuerte sombra (Hartmann *et al.*, 1997).

La etiolación de brotes aumenta la concentración interna de auxinas, disminuye la lignificación de los tejidos, aumenta la acumulación de almidón en la región etiolada y disminuye el contenido de co-factores negativos del enraizamiento, especialmente de AIA – oxidasa (Bassuk y Maynard, 1987; Hartmann *et al.*, 1997). Según Bassuk y Maynard

(1987), la etiolación aumenta considerablemente la sensibilidad del tallo a la auxina, asimismo, induce cambios anatómicos en los tejidos del tallo que podrían incrementar la iniciación de primordios radicales, principalmente a partir las células parenquimáticas indiferenciadas.

Hansen (1987), mencionado por Rodríguez (2003) observó que la formación de raíces en estaquillas está influenciada por las condiciones de luz durante el crecimiento de las plantas. La exclusión de luz a la totalidad del brote, antes de la propagación, estimula la formación de raíces en algunas plantas leñosas. Más adelante, Karhu (1992) reporta que el número y el porcentaje de raíces son mayores en esquejes etiolados de *Cotoneaster lucidus*.

La etiolación parece ser un tratamiento indispensable para lograr la emisión regular de raíces en tallos en algunos genotipos de palto (Frolich, 1951; Moll y Wood, 1980; Salazar-García y Borys, 1983; Alves de Oliveira *et al.*, 1999). Por ejemplo, Barrientos-Priego *et al.* (1986) trabajando con los cultivares de palto Colín V-33 y Fuerte, encontraron que sin una previa etiolación el enraizado de los brotes fue nulo, a pesar de haberse realizado tratamientos con auxinas, anillados y usado camas enraizadoras. Anteriormente, ya Folich y Platt (1971) introdujeron la técnica de la etiolación en la metodología del enraizamiento de esquejes de palto.

El tiempo requerido en ausencia de luz para que los brotes sean adecuadamente

etiolados, según reportan varios investigadores, es variable. En promedio se ubica entre 3 y 8 semanas (Ernst, 1999; Rodriguez, 2003; De los Santos, 2001; Velho Da Silveira *et al.*, 2004; Aguilera, 2007).

En la mayoría de casos y para fines de propagación, una vez que los brotes están totalmente etiolados, éstos son puestos en condiciones de luz para desetiolarlos, manteniendo etiolada sólo la porción donde posteriormente tendrá lugar el enraizamiento. Esto se logra mediante una técnica conocida como “banding”.

2.3.2. Aplicación exógena de auxinas

Si la presencia de la auxina es reconocida como un factor que promueve la formación de raíces adventicias, la aplicación de reguladores crecimiento tipo auxinas como el ácido indolbutírico (AIB), puede incrementar la concentración interna de la hormona, reforzar su efecto y mejorar la calidad de las raíces (Ernst (1978) citado por Ernst, 1999; Gaspar y Hoffinger (1988) citados por Velho da Silveira *et al.*, 2004). Numerosos trabajos de investigación en diversas especies confirman esta posibilidad, siendo el AIB y el ácido naftalenacético (ANA) las auxinas sintéticas más empleadas a diversas concentraciones y aplicadas en diferentes modalidades. Por ejemplo, trabajando con esquejes etiolados de guayabo, Da Costa Jr. *et al.* (2003) concluyen que la aplicación de AIB en inmersión rápida a $2,000 \text{ mg.L}^{-1}$ en solución (50% de alcohol) aumenta de manera significativa el número de raíces que produjeron los esquejes tratados. Asimismo, Cutting y Van Vuuren (1988)

empleando esquejes no etiolados de palto, encontraron que el AIB aplicado en talco a $2,000 \text{ mg.L}^{-1}$ fue favorable para el enraizamiento de los esquejes, sin embargo concentraciones de $3,000 \text{ mg.L}^{-1}$ estimularon una excesiva producción de callos. Alves-de Oliveira *et al.* (1999) en un trabajo con acodos de brotes etiolados de palto en contenedores, determinó que la aplicación de AIB fue más eficiente cuando adicionalmente el acodo fue anillado.

El efecto de los tratamientos con auxina se manifiesta también en condiciones poco favorables para el enraizamiento, tal como lo establecen los resultados reportados por Young (1961), quien trabajando con acodo aéreo sobre plantas adultas de palto 'Duke', 'Zutano', 'Fuerte' y 'Hass', y usando los reguladores de crecimiento AIA y AIB aplicados en pasta de lanolina en concentraciones de $2,000 \text{ mg.L}^{-1}$ y $1,500 \text{ mg.L}^{-1}$ respectivamente, encontró que todos los acodos formaron callos al cabo de tres semanas, y que el enraizamiento fue escaso tanto en número como en tamaño.

Parece ser que el efecto de las auxinas en el enraizamiento, está relacionado con la intensidad de la luz. Así lo demuestra el estudio realizado por Christensen *et al.* (1980), quienes en portainjertos de manzano M26, encontraron que las estacas con las mayores irradiaciones (W/m^2) no tuvieron respuesta a los tratamientos de AIB, pero a medida que se fue disminuyendo la irradiación, la respuesta al tratamiento de auxinas se incrementó. A menores irradiaciones y mayores concentraciones de auxinas, se incrementó el número de raíces, el porcentaje de enraizamiento, y se acortó el tiempo entre el corte y la

iniciación radical.

Respecto a la forma de acción de la auxina sintética, algunos investigadores indican que no actuaría como auxina sino como protector de la auxina endógena AIA, dirigiéndola a la formación de ciertos compuestos fenólicos, entre otros, que podrían ser empleados en el proceso de enraizamiento (Bastin, 1966; Tustin, 1974, citados por Gandulfo, 1983)

2.4 Métodos de propagación vegetativa de portainjertos

Las técnicas que parecen ser fundamentales para lograr la eficiencia en los métodos comerciales de propagación vegetativa de portainjertos de palto son la etiolación y la aplicación de reguladores de crecimiento, especialmente el AIB (Frolich y Platt, 1971; Barrientos-Priego *et al.*, 1986; Biasi y Koller, 1993; Muñoz y Rogel, 1998; Ernst, 1999). Con el empleo de ambas, los métodos que más se trabajan en diferentes partes del mundo y con resultados bastante aceptables son las estacas y los acodos (Frolich y Platt, 1971; Barrientos-Priego *et al.*, 1986; Veierskov, 1988; Biasi y Koller, 1993; Aguilera, 2007). Por otro lado, Wessels (1996) indica que los métodos comerciales de propagación vegetativa de palto son laboriosos y lentos, por lo que se debería tener en cuenta la propagación clonal *in vitro*. Sin embargo esta metodología se complica por dificultades aún no resueltas en algunas de sus etapas, por lo que todavía no es una alternativa satisfactoria.

2.4.1. Estacas

En la propagación por estacas, una porción de tallo (de tejido joven o maduro) es separado de la planta madre e inducido a la formación de raíces y brotes por diversas manipulaciones que pueden ser químicas, mecánicas y/o ambientales (Hartmann *et al.*, 1997). En especies de difícil enraizamiento como el palto, es conveniente trabajar la propagación por esquejes, que son estacas con tejido joven y con hojas, condiciones que favorecen el proceso de enraizamiento (Heuser, 1976). Asimismo, técnicas como la etiolación y la aplicación exógena de hormonas como la auxina parecen ser fundamentales para el éxito de la propagación de esquejes.

Las condiciones fisiológicas y anatómicas de un esqueje, facilitan la pérdida de agua, motivo por el cual las técnicas de este método de propagación están diseñadas para que en la atmósfera del ambiente donde va a permanecer en espera de su enraizamiento, haya baja evapotranspiración por parte del esqueje, lo que usualmente se logra con un humedecimiento constante de las hojas y los tejidos tiernos del esqueje, a través del riego intermitente por nebulización o con una atmósfera saturada de humedad. Asimismo es importante que las células mantengan la adecuada turgencia para que los procesos de iniciación y desarrollo de raíces sucedan con normalidad. Además de la humedad, se requieren niveles apropiados de temperatura tanto en el sustrato donde se encuentra la parte basal del esqueje desarrollando raíces, como en la parte aérea, donde la temperatura debe ser adecuada para que las hojas no sufran stress. Las condiciones de luz

propicias para la fotosíntesis y la producción de carbohidratos también son importantes (Hartmann *et al.*, 1997).

Las posibilidades de una aplicación comercial de la propagación clonal de portainjertos de palto, empiezan a tener mayor fundamento a partir de los trabajos de Frolich y Platt (1971) basados en la utilización de brotes etiolados. La técnica usada por estos investigadores consiste en injertar un patrón de palto sobre una planta proveniente de cualquier semilla de palto crecida en un contenedor, para constituir la llamada planta nodriza. Una vez crecido el injerto (patrón que será clonado), es podado y cuando empieza el nuevo brotamiento, la planta nodriza se traslada a un cuarto oscuro con la finalidad de que sus brotes crezcan etiolados. Luego, la planta es nuevamente puesta en condiciones de luz, pero la zona basal de los brotes se mantiene etiolada cubriéndola con mayor cantidad de sustrato. De esta manera los brotes se desetiolan y se vuelven verdes, salvo su parte basal que continúa en condiciones de oscuridad. Después, cuando ya poseen hojas maduras, los brotes son separados de la planta nodriza y sembrados como esquejes en camas de enraizamiento especialmente acondicionadas en cajas de madera con una cubierta de vidrio, donde permanecen hasta formar raíces adventicias.

La dificultad de los paltos para formar raíces adventicias, es una característica que varía de acuerdo a los diferentes genotipos. De manera general los esquejes de paltos mexicanos tienen mejor comportamiento que los de la raza Guatemalteca, y estos mejor que los Antillanos (Kadman y Ben-Ya'acov, 1965; Reuveni y Raviv, 1980; Velho da Silveira *et al.*,

2004).

Teniendo como base esta técnica, y ensayando algunas variaciones, numerosos trabajos de investigación en la propagación de palto por esquejes, han sido realizados en diversas partes del mundo y con resultados variados. Barrientos-Priego *et al.* (1986), adicionando la aplicación de un anillado a la base del brote, y con dosis de una mezcla de AIB $10,000 \text{ mg.L}^{-1}$ y ANA 300 mg.L^{-1} , reportaron porcentajes de 92.5% y 90.0% en enraizamiento de esquejes de los cultivares Colín V-33 y Fuerte respectivamente. Velho da Silveira *et al.* (2004), empleando $2,000 \text{ mg.L}^{-1}$ de AIB, obtuvieron 62.5% de esquejes enraizados en el cultivar Oro Verde, sin embargo, el número promedio de raíces por esqueje fue menor a 3, lo que es indicio de un pobre enraizamiento. A su vez, Aguilera (2007), trabajando con 'Duke7' y varios tratamientos de AIB, ANA y benzil aminopurina (BAP) sólo alcanza un 20% de enraizamiento.

Por otro lado, también se ha ensayado la utilización de brotes no etiolados para la propagación de paltos por esquejes. Sin embargo, los resultados indican generalmente mucha dificultad en el proceso de enraizamiento, el cual además toma tiempos bastante prolongados. Habría no obstante, que resaltar los resultados obtenidos por Cutting y Van Vuuren (1988), que probaron el enraizamiento de este tipo de esquejes de 'Fuerte' y 'Duke 7', cuyos brotes fueron tratados con ácido giberélico 3 meses antes de ser extraídos. Los resultados, 150 después días de la siembra y con tratamiento de los esquejes con AIB a $2,000 \text{ mg.L}^{-1}$, arrojaron 68% de enraizamiento.

2.4.2. Acodos

El acodo es una forma de propagación clonal en la que las raíces adventicias se promueven e inician en una rama que aún está unida a la planta madre. La rama enraizada, o acodo es separado y se convierte en una planta íntegra que cuenta con sus propias raíces y su propio sistema caulinar. La acumulación de fotosintatos y hormonas endógenas en el área de enraizamiento son factores de mucha importancia en el éxito del proceso, que puede además ser promovido por tratamientos externos como anillado, cortes o heridas, doblado de ramas o aplicaciones de hormonas sintéticas como el AIB (Hartmann *et al.*, 1997).

Weaver (1980) señala que el acodo se utiliza con frecuencia para propagar especies que forman raíces con mucha dificultad, siendo éste el caso del palto. Por eso es que gran parte de los trabajos, tanto a nivel de investigación como comercial, en propagación clonal de portainjertos de palto consideran en su metodología el uso del acodo.

Salazar-García y Borys (1983) describen la técnica de propagación clonal de palto a la que llamaron “franqueamiento” (en el Perú se conoce también como “afrancamiento”), en el cual se acoda el brote joven del portainjerto que se desea propagar vegetativamente sin que sea previamente etiolado. Sin embargo, utilizando esta técnica y con tratamiento de AIB $10,000 \text{ mg.L}^{-1}$, Muñoz y Rogel (1998), 160 días después de aplicado los tratamientos no encontraron respuestas positivas en ‘Hass’, mientras que en ‘Martin Grande’ se

alcanzó un 54% de enraizamiento, pero la mitad de los brotes tuvieron menos de tres raíces.

De manera similar a lo mencionado en el caso de la propagación por estacas, la etiolación es un procedimiento fundamental para el éxito de la propagación clonal de patrones de palto por acodo. Por eso, es que la técnica de Frolich y Platt (1971) también sirve de base en la aplicación de este método de propagación, en la mayoría de casos.

En Perú, De los Santos (2001), empleó la técnica de etiolación de brotes en acodo de palto, basado también en la metodología de Frolich y Platt (1971), usando el estrangulamiento antes del acodado para promover raíces y trabajando con tiempos de etiolación que fueron desde 4 hasta 8 semanas, y tiempos de enraizamiento desde 100 hasta 160 días después del acodado, obteniéndose los mejores resultados para todas las evaluaciones con 4 – 6 semanas de etiolación y 140 – 160 días de enraizamiento.

Como ya se mencionó, la propagación clonal de portainjertos de palto se emplea de manera comercial en ciertas partes del mundo, tal es el caso de viveros Brokaw en los Estados Unidos y España, que modificando la técnica de Frolich y Platt (1971), patentaron un procedimiento para la obtención de plantas clonales de palto mediante acodo, colocando un anillo metálico en el injerto, cuyo brote etiolado se va a acodar, antes de cubrirlo con el sustrato del medio enraizante. Luego que la parte no cubierta del brote, ya en condiciones de luz alcanza un diámetro adecuado, se injerta con la variedad deseada.

Después la planta sigue desarrollando por aproximadamente un año más, tiempo luego del cual es separada de la planta nodriza por efecto del estrangulamiento provocado en el tallo por el anillo metálico colocado (Brokaw, 1987).

Entre otras variantes interesantes, derivadas de la técnica básica de Frolich y Platt (1971), conviene mencionar el trabajo con micro contenedores de Ernst (1999), que permite obtener por acodo más de una planta clonal a partir de una planta nodriza y aprovecha mejor el espacio ya que las plantas obtenidas son de pequeño tamaño.

Las técnicas descritas y las variantes de las mismas, tanto en el caso de esquejes como en acodos, siguen siendo muy laboriosas, toman tiempo considerable, son costosas y su eficiencia es relativa, motivo por el cual resulta interesante buscar opciones para acelerarlas y simplificarlas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Tal como se manifestó oportunamente, la metodología básica utilizada en el presente experimento está sustentada en el empleo de plantas nodrizas de palto originadas de semilla, sobre las cuales se injerta el cultivar Duke y cuyos brotes se hacen crecer en ausencia de luz. Estos brotes etiolados, luego de ser separados de las plantas nodrizas son los esquejes que se ubicarán en un sustrato para buscar su enraizamiento.

Considerando esta secuencia de etapas en el procedimiento, el trabajo consta de tres ensayos que abordan los tres puntos críticos del método:

1. Obtención de brotes etiolados sobre plantas nodrizas
2. Obtención de esquejes mejor capacitados para enraizar
3. Condiciones especiales para el enraizamiento de esquejes

3.1. Ubicación del experimento

El experimento se llevó a cabo en el vivero del Programa de Investigación en Frutales de la Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, entre Marzo del 2008 y Enero del 2009. Dicho vivero está cubierto con malla Raschel de 50% de sombra. En el Anexo 1 se muestran las temperaturas mensuales máximas, mínimas y promedio registradas para el período considerado.

3.2. Material vegetal utilizado

Las semillas provinieron de paltos mexicanos francos, las mismas que antes de la siembra fueron desinfectadas con Ridomil (4 gr.L^{-1}). Las plumas de la variedad Duke se tomaron de plantas madres adultas ubicados en el lote "Calería", dentro del campus de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

3.3. Materiales y equipos

- Bolsas plásticas.- Se usaron bolsas negras de polietileno de 7 litros de capacidad para el desarrollo de las plantas nodrizas y para la siembra de esquejes y de 5 litros para conformar uno de los tipos de cámaras oscuras individuales (COI) empleados.

- Sustratos.- El sustrato en el que se sembró las semillas y crecieron las plantas nodrizas, y en el que posteriormente se sembraron los esquejes, estuvo compuesto por: 70% de arena, 20% de turba de *Distichia sp.* y 10% de cáscara de café.

- Tubos plásticos.- Se usaron tubos plásticos de PVC totalmente opacos de 40 cm de alto y 7.5 cm de diámetro. Estos tubos plásticos constituyeron otro tipo de COI.

- Acido indolbutírico (AIB).- Esta auxina fue usada en forma de solución (50% alcohol y 50% agua).

- Envases plásticos de bebidas vacíos.- Envases de aproximadamente 600 ml de capacidad cortados en la parte alta superior. De esta forma se obtienen las cámaras húmedas individuales (CHI), que tienen una forma de vasija alta.

- Otros materiales.- Tijeras de podar, etiquetas de colores, papel aluminio, lampa de mano, frascos pequeños de vidrio (de 100 cc de capacidad), mondadientes, ganchos de

madera para ropa, clips.

3.4. Metodologías y procedimientos

3.4.1. Ensayo 1: Determinación del tipo de cámara oscura individual (COI) más eficiente para obtener brotes etiolados sobre plantas nodrizas

En Octubre del 2007 se realizó la siembra de las semillas en las bolsas de polietileno llenas con el respectivo sustrato. A inicios de Marzo del 2008, cuando las plantas que se originaron alcanzaron un diámetro aproximado de 0.6 a 0.7 cm, fueron injertadas con yemas de palto 'Duke' aproximadamente a 10 cm de la base, empleando el método de corona. De esta manera quedaron establecidas las plantas nodrizas.

Después de 4 semanas aproximadamente, cuando las yemas de los injertos empezaron a hinchar, se aplicó Ridomil (1 gr.L^{-1}) + Cupravit (2 gr.L^{-1}) en fumigación para prevenir problemas fungosos. Luego, una a dos semanas más tarde, cuando los brotes tenían de 1.0 a 2.0 cm de longitud, se hizo otra aplicación fungicida, en esta ocasión se usó Benomyl (2 gr.L^{-1}) y de inmediato (a mediados de Abril del 2008) se procedió a colocar sobre cada planta nodriza la respectiva COI.

Para fines de este experimento, una COI es un artefacto u objeto completamente opaco colocado sobre cada planta nodriza cubriéndola en su totalidad, de manera que los brotes

del injerto crezcan etiolados en ausencia de luz. Las COI empleadas estuvieron conformadas por dos tipos de materiales:

a) Tubo de plástico rígido (TP) color negro o gris de 40 cm de longitud y 7.5 cm de diámetro, cubierto en uno de sus extremos por un capuchón negro opaco de polietileno flexible que fue atado alrededor del tubo formando pliegues, algunos de los cuales quedaban libres de la atadura a fin de permitir la entrada de aire, como muestra la Figura 1.

b) Bolsa de polietileno (BP) color negro de 5 litros de capacidad.

Con algunas variaciones en el acondicionamiento de los dos materiales empleados y en la forma en que fueron colocados sobre las plantas nodrizas, se establecieron 5 tratamientos.

3.4.1.1. Tratamientos

T1: TP colocado directamente sobre la planta nodriza, con un poco de presión para que penetre de 3 a 5 mm en el sustrato (Figura 1).



Figura 1. Tratamiento 1, colocación de la COI.

T2: Como T1 pero colocando, previamente en la base de cada planta, un disco de plástico flexible de un diámetro ligeramente menor que el tubo, de manera que se limite la entrada de humedad del sustrato al interior del tubo.

T3: TP colocado sobre el sustrato (arena) contenido en el tercio basal de otra bolsa plástica colocada sobre la planta nodriza (Figura 2), de manera que la parte interna de la COI se aísla de la humedad del sustrato de la planta nodriza (Figura 3), que es la que se riega.



Figura 2. Bolsa con arena colocada sobre la planta nodriza, antes de ubicar la COI del T3.



Figura 3. Tratamiento 3, colocación de la COI sobre la bolsa con arena.

T4: La misma bolsa plástica a la que se hace referencia en el tratamiento anterior (Figura 2), pero esta vez la cámara oscura será formada desplegando los dos tercios restantes de la bolsa para cubrir totalmente la planta nodriza, doblando su borde superior y sujetándolo con clips (Figura 4).



Figura 4. Tratamiento 4, desplegamiento de bolsa para obtener la COI.

T5: Bolsa plástica vacía sujeta a la planta nodriza y cubriendo al injerto totalmente. La parte basal de la bolsa se sujeta a la planta nodriza con pinzas de madera para ropa y su borde superior abierto se cierra con un doblado y se sujeta con clips (Figura 5).



Figura 5. Tratamiento 5, colocación de bolsa plástica como COI.

3.4.1.2. Diseño experimental

Los tratamientos fueron distribuidos de acuerdo a un diseño completamente al azar (DCA), donde la unidad experimental estuvo conformada por cinco plantas nodrizas y con seis repeticiones, lo que determina un total de 30 plantas por tratamiento. El análisis de varianza (ANVA) de los datos obtenidos se realizó mediante el programa Statistical Analysis System SAS, y se empleó la prueba de Duncan para realizar la comparación múltiple de medias de los tratamientos.

3.4.1.3. Evaluaciones

Las evaluaciones se realizaron 20 días después de instaladas las COI. Se anotó el número de plantas nodrizas que presentaron brotes etiolados en buen estado, considerándose como tales a brotes con una longitud mínima de 8 cm y sin daños por pudrición. De algunas plumas injertadas brotó más de una yema, en este caso las evaluaciones se hicieron sobre el brote más vigoroso.

3.4.2. Ensayo 2: Evaluación de algunos tratamientos de pre enraizado (TPE) en brotes de palto 'Duke' aún adheridos a las plantas nodrizas

Contando con la existencia de plantas nodrizas con brotes etiolados (parte de las cuales fueron obtenidas en el ensayo anterior) se aplicaron sobre estos, tratamientos que tuvieron como objetivo estimular precozmente en ellos, y aún adheridos a las plantas nodrizas, la formación de raíces adventicias. El procedimiento fue el siguiente:

Retirando las COI de cada planta nodriza, los brotes etiolados fueron expuestos a la luz pero cubriendo parte de su tercio basal con papel aluminio, de manera que el brote se desetiole, pero manteniendo etiolada la zona cubierta (Figura 6). En algunos de estos brotes así manipulados, antes de colocar la cubierta de papel aluminio se les administró los tratamientos de pre enraizado (TPE). Estos consistieron en la incrustación transversal de pequeñas astillas de madera (5 mm de largo y 1 mm de diámetro aproximadamente)

en la zona del brote que luego fue cubierta por el papel aluminio. Dichas astillas fueron previamente remojadas por un mínimo de 24 horas en soluciones (50% de alcohol y 50% de agua) de AIB. En todos los casos los brotes etiolados tuvieron como mínimo 8 cm de longitud y los TPE se aplicaron a mediados de Mayo del 2008. Si en una planta nodriza había más de un brote etiolado a emplearse, todos recibían el mismo tratamiento.

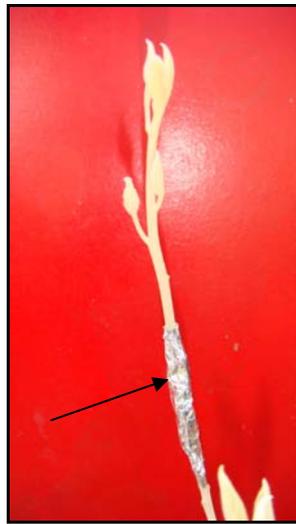


Figura 6. Detalle del papel aluminio cubriendo la parte basal del brote etiolado.

Adicionalmente, los TPE fueron también aplicados de manera similar en brotes semi-herbáceos de plantas madres adultas de palto ‘Duke’, crecidos durante el verano del mismo año 2008, que tenían entre 15 y 25 cm de longitud y su crecimiento ya había concluido (Figura 7). En esta ocasión los TPE en brotes verdes se aplicaron un mes antes, en Abril del 2008.



Figura 7. Brotes de verano de árbol adulto de 'Duke' con TPE.

3.4.2.1. Tratamientos

Se emplearon dos concentraciones de AIB, que dieron como resultados los tratamientos siguientes:

a) En brotes sobre plantas nodrizas:

T1: Base cubierta con papel aluminio para mantenerla etiolada (Testigo)

T2: Como T1 + astilla con AIB a $5,000 \text{ mg.L}^{-1}$

T3: Como T1 + astilla con AIB a $10,000 \text{ mg.L}^{-1}$

b) En brotes de plantas madres adultas:

T1: Base cubierta con papel aluminio (Testigo)

T2: Como T1 + astilla con AIB a $5,000 \text{ mg.L}^{-1}$

T3: Como T1 + astilla con AIB a $10,000 \text{ mg.L}^{-1}$

3.4.2.2. Diseño experimental

Los tratamientos fueron distribuidos de acuerdo a un diseño completamente al azar (DCA), donde la unidad experimental estuvo conformada por cinco brotes y con seis repeticiones, lo que determina un total de 30 brotes por tratamiento. El análisis de varianza (ANVA) de los datos obtenidos se realizó mediante el programa Statistical Analysis System SAS, y se empleó la prueba de Duncan para realizar la comparación múltiple de medias de los tratamientos.

3.4.2.3. Evaluaciones

En brotes desetiolados de plantas nodrizas, la evaluación se realizó entre los 40 y 45 días después de aplicados los tratamientos. Sobre brotes jóvenes de plantas adultas, la evaluación se llevó a cabo 65 días después de aplicados los tratamientos. En ambos casos se retiró el papel aluminio de cada brote para observar el estado del tejido que hasta entonces permaneció aislado de la luz. Según la presencia de algunas estructuras los brotes fueron clasificados de la siguiente manera:

- Brotes con raíces en crecimiento y/o inicio de raíces
- Brotes con formación sólo de callos
- Brotes sin formación de estructura alguna

Se considera como “raíces en crecimiento”, raíces que ya han iniciado su crecimiento y muestran una longitud mínima de 2 mm. Igualmente como “inicio de raíces” se consideran primordios de raíz que empiezan a emerger a manera de protuberancias de aproximadamente 1mm.

3.4.3. Ensayo 3: Enraizamiento de esquejes utilizando cámaras húmedas individuales (CHI)

Este ensayo se inició a mediados de Julio del 2008, época en la que se realizó la instalación o siembra. Se usaron los 30 brotes obtenidos de cada uno de los tratamientos del Ensayo 2, a los cuales se les sumó brotes totalmente etiolados. Todos ellos fueron separados de las plantas nodrizas o madres para constituir los esquejes experimentales.

3.4.3.1. Tratamientos

a) Esquejes provenientes de plantas nodrizas (con etiolación total o localizada)

- T0: Esquejes de brotes totalmente etiolados
- T1: Esquejes de brotes sólo con la base etiolada
- T2: Esquejes de brotes con base etiolada y con TPE 5,000 mg.L⁻¹ AIB
- T3: Esquejes de brotes con base etiolada y con TPE 10,000 mg.L⁻¹ AIB

b) Esquejes provenientes de plantas madres adultas (sin proceso de etiolación)

- T1: Esquejes de brotes sólo con base cubierta con papel aluminio

- T2: Esquejes de brotes con base cubierta con papel aluminio y con TPE 5,000 mg.L⁻¹ AIB

- T3: Esquejes de brotes con base cubierta con papel aluminio y con TPE 10,000 mg.L⁻¹ AIB

Antes de ser sembrados, todos los esquejes sin excepción recibieron un tratamiento común de inmersión basal por aproximadamente 5 segundos en una solución de AIB a 10,000 mg.L⁻¹ (solución 50% agua y 50% alcohol).

Inmediatamente después de la siembra, se colocó sobre cada esqueje su respectiva CHI (Figura 8), constituida por un envase plástico de bebida, de 600 cc de capacidad, cortado por su parte superior y colocado de forma invertida cubriendo todo el esqueje. Con un poco de presión, se aseguró que el borde inferior de la CHI quede a aproximadamente 0.5 - 0.8 cm. de profundidad en el sustrato, las CHI instaladas se aprecian en la Figura 9. Los riegos se aplicaron de forma no calendarizada, tratando de que la parte superficial del sustrato se mantenga siempre ligeramente humedecido, concordando con los procedimientos de otros investigadores (Rodríguez, 2003).



Figura 8. Cámara húmeda individual (CHI).



Figura 9. CHI instaladas sobre esquejes sembrados.

3.4.3.2. Diseño experimental

Los tratamientos fueron distribuidos de acuerdo a un diseño completamente al azar (DCA), donde la unidad experimental estuvo conformada por cinco esquejes y con seis

repeticiones, lo que determina un total de 30 esquejes por tratamiento. El análisis de varianza (ANVA) de los datos obtenidos se realizó mediante el programa Statistycal Analysis System SAS, y se empleó la prueba de Duncan para realizar la comparación múltiple de medias de los tratamientos.

3.4.3.3. Evaluaciones

La evaluación se llevó a cabo a fines de Octubre, 100 días después de la siembra de los esquejes. Para el efecto, se cortó y retiró la bolsa plástica y se extrajo con cuidado cada esqueje, lavando el sustrato ya sin bolsa y evitando romper las raíces formadas.

Para ambos tipos de esquejes se registraron los siguientes parámetros:

- Porcentaje de esquejes enraizados
- Número de raíces primarias de esquejes enraizados

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Ensayo 1: Determinación del tipo de cámara oscura individual (COI) más eficiente para obtener brotes etiolados sobre plantas nodrizas

De manera general, con todas las COI, las plantas nodrizas formaron porcentajes elevados de brotes etiolados en buen estado, según puede verse en el Cuadro 1. Trabajando con el

cultivar Duke y bajo condiciones de temperatura y humedad controladas (25°C y 70% HR) en cuartos oscuros de etiolación, Aguilera (2007) reporta 32.6 % de plantas que formaron brotes etiolados, porcentaje que resulta bajo comparado con nuestros resultados, más aún si fueron obtenidos en simples condiciones de vivero.

De todos los tratamientos, destacan T2 y T5 con los porcentajes más altos, y en el otro extremo T4 con el más bajo. Si consideramos la estructura y la forma de colocación de las COI puede deducirse que estos resultados estuvieron relacionados con una mejor aireación y un más eficiente control de la humedad originada en el sustrato al interior de las COI. En efecto, tanto en T2 como en T5, la ventilación fue eficiente por los pliegues libres de la cubierta plástica y del cierre basal de la bolsa, respectivamente. Del mismo modo, el exceso de humedad fue bien controlado en ambos tratamientos por la redondela plástica en la base del tubo y porque el interior de la COI en T5 no tuvo contacto con el sustrato.

Cuadro 1. Porcentaje de brotes etiolados en buen estado sobre plantas nodrizas de palto 'Duke', utilizando cinco tipos de cámaras oscuras individuales COI, 20 días después de instalados los tratamientos.

Tratamientos (*)	Porcentaje de plantas nodrizas con brotes etiolados en buen estado (**)
T1	83.3 ab
T2	90.0 a
T3	83.3 ab
T4	56.7 b
T5	86.7 a

** Tipo de cámara oscura:*

T1: Tubo plástico sobre el sustrato de la planta nodriza.

T2: Como T1 + disco de plástico en la base de la planta nodriza.

T3: Tubo plástico sobre el sustrato de otra bolsa plástica colocada sobre contenedor de la planta nodriza.

T4: Bolsa plástica con sustrato en su tercio basal, colocada sobre el contenedor de la planta nodriza.

T5: Bolsa plástica sola, cubriendo la parte injertada de la planta nodriza.

*** Plantas que mostraban al menos un brote etiolado del injerto, con una longitud mínima de 8 cm y sin presencia de daños por pudrición.*

Por otro lado, T4 resultó el tratamiento menos eficiente y significativamente diferente a los dos mejores. En dicho tratamiento, el sustrato sin humedad de la bolsa colocada sobre el contenedor de la planta nodriza controló bien el exceso de humedad, pero con el doblado del borde superior para cerrar la bolsa se limitó la buena aireación, factor al que se le da mucha importancia en los tradicionales cuartos oscuros de etiolación (Ernst, 1999).

Veinte días en condiciones de oscuridad parece que es un tiempo prudencial para obtener brotes etiolados no menores de 8 cm. Sin embargo, muchos brotes excedieron el tamaño mínimo, llegando a longitudes de 15 cm a más (Figura 10). Respecto a lo mencionado, en varios trabajos de investigación en los que se utilizan brotes etiolados de palto, los tiempos que se utilizan para obtenerlos varían entre 3 y 8 semanas (Ernst, 1999; De los

Santos, 2001; Rodríguez, 2003; Velho da Silveira *et al.*, 2004; Aguilera, 2007), asimismo, las longitudes de brotes etiolados que se logran van desde los 7.5 cm hasta los 40 cm (Frolich y Platt, 1971; Bernal, 1997; Hofshi, 1997; Alves de Oliveira *et al.*, 1999; Ernst, 1999).

Las plantas nodrizas que no tenían brotes etiolados en buen estado presentaron todos sus brotes muertos o menores de 8 cm de longitud.



A

B

Figura 10. A) Planta nodriza con un brote etiolado en buen estado. B) Planta nodriza con más de un brote etiolado en buen estado.

4.2. Ensayo 2: Evaluación de algunos tratamientos de pre enraizado (TPE) en brotes de palto 'Duke' aún adheridos a las plantas nodrizas

Esta evaluación se realizó entre los 40 y 45 días después de realizados los TPE en brotes de plantas nodrizas. Retirando el papel aluminio de la zona mantenida etiolada y donde se aplicó los tratamientos, las estructuras encontradas se clasificaron en dos categorías:

raíces y callos. Los resultados se presentan en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Porcentaje de brotes desetiados de palto 'Duke' sobre plantas nodrizas con estructuras formadas por los tratamientos de pre enraizado (TPE), 40 - 45 días después de su aplicación.

Tratamientos (*)	Tipo de estructuras formadas en zona etiolada (en porcentajes)		
	Raíces (**)	Sólo callos	Ninguna (***)
T1	0.0 c	0.0	100.0
T2	30.0 b	36.7	33.3
T3	53.3 a	33.3	13.3

* *Tratamientos aplicados en la zona mantenida etiolada:*

T1: *Sólo cubierta con papel aluminio. Testigo.*

T2: *Astilla con AIB 5,000 mg.L⁻¹ y cubierta con papel aluminio.*

T3: *Astilla con AIB 10,000 mg.L⁻¹ y cubierta con papel aluminio.*

** *Pueden ser: raíces en crecimiento (raíces que ya han iniciado su crecimiento y muestran una longitud mínima de 2mm) y/o inicio de raíces (primordios de raíz que empiezan a emerger a manera de protuberancias de aproximadamente 1mm). Los brotes que presentan dichas estructuras, generalmente muestran también formación de callos.*

*** *Sólo zona etiolada, sin evidencias de estructuras.*

Considerando que, la mejor condición que podría crearse sobre un esqueje antes de su siembra es la presencia de raíces, que en principio aseguraría, ya en un sustrato, la formación de un sistema radicular adventicio, los efectos registrados son notables. Con los dos TPE aplicados se estimuló el desarrollo de raíces en los brotes. Sin embargo, el mejor resultado se obtuvo con la más alta dosis de AIB (T3), que formó el más elevado porcentaje de brotes con raíces en estados iniciales de crecimiento, 53.3% (Figura 11) en comparación con T2, 30.0% (Figura 12), cuyas diferencias estadísticas fueron altamente significativas. Además de la dosis de AIB, cabe resaltar que el modo de aplicación, es decir, la incrustación de astillas embebidas en soluciones auxínicas, por las heridas que ocasionaron, posiblemente resultaron también en un estímulo bastante favorable en la formación de raíces en brotes aún adheridos a las plantas nodrizas.



Figura 11. Efecto de T3 en la formación de raíces, 45 días después de la instalación.



Figura 12. Efecto de T2 en la formación de raíces, 45 días después de la instalación.

Los dos tratamientos promovieron también la formación de callos, que estuvieron presentes en la mayoría de brotes que presentaban raíces o como estructura sola en otros brotes. En este último caso, T2 presentó un porcentaje ligeramente mayor (36.7%) de brotes sólo con callos en comparación a T3 (33.3%). No obstante, la importancia de los

callos como proceso previo a la formación de raíces es un tema que aún genera controversias y no es del todo claro (Ernst y Holtzhausen, 1987; Hartmann *et al.*, 1997).

El tratamiento testigo, en ningún caso mostró formación de estructura alguna.

A pesar que algunos antecedentes muestran similitud en los elementos empleados en los tratamientos de este trabajo (auxina y/o astilla), en todos los casos han sido utilizados en acodos normales (cubiertos con sustrato) (Cutting y Van Vuuren, 1988; Alves de Oliveira *et al.*, 1999; Ernst, 1999), a diferencia de nuestra metodología que consideró la aplicación de los tratamientos a manera de acodos sin sustrato, con la cual en un tiempo relativamente corto (40 – 45 días) se logró obtener la formación de raíces en crecimiento, lo que resulta bastante importante para la propagación por esquejes (o por acodo) en palto. Es posible que si hubiese transcurrido mayor tiempo antes de la evaluación, los resultados serían mejores. En efecto, Aguilera (2007) en un ensayo de acodo aéreo de brotes etiolados en palto observó emisión de callo 2 meses y 3 meses después de realizado el acodo en ‘Duke’ y en la Selección U-3, respectivamente.

Por otro lado, la bien establecida influencia de la etiolación y de la edad de los tejidos en el enraizamiento de palto se refleja en los resultados obtenidos con los mismos TPE del experimento anterior, pero aplicados en brotes de plantas adultas de palto ‘Duke’, cuyas cifras se pueden apreciar en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Porcentaje de brotes jóvenes de palto 'Duke' adulto con estructuras formadas por los tratamientos de pre enraizado (TPE), 65 días después de su aplicación.

Tratamientos (*)	Tipo de estructuras formadas en zona basal del brote (en porcentajes)		
	Raíces(**)	Sólo callos	Ninguna (***)
T1	0.0	0.0 c	100.0
T2	0.0	56.7 b	43.3
T3	0.0	90.0 a	10.0

* *Tratamientos aplicados en la zona basal del brote:*

T1: *Cubierta con papel aluminio. Testigo.*

T2: *Astilla con AIB 5,000 mg.L⁻¹ y cubierta con papel aluminio.*

T3: *Astilla con AIB 10,000 mg.L⁻¹ y cubierta con papel aluminio.*

** *Pueden ser: raíces en crecimiento (raíces que ya han iniciado su crecimiento y muestran una longitud mínima de 2mm) y/o inicio de raíces (primordios de raíz que empiezan a emerger a manera de protuberancias de aproximadamente 1mm).*

*** *Sin evidencias de estructuras.*

A diferencia de los resultados obtenidos en brotes etiolados sobre plantas nodrizas, en esta oportunidad, sólo se logró formación de callos, como se muestra en la Figura 13. Se alcanzaron mejores resultados con T3, ya que casi la totalidad de brotes mostraron callos, llegando a un 90%, y con T2, 56.7%, y sus diferencias entre estos tratamientos fueron altamente significativas. Sin embargo, como una observación adicional, sin evaluarse cuantitativamente, se notó que la dosis más alta mostró tendencia a formar callos más grandes.



Figura 13. Presencia de callos en brotes con TPE de palto 'Duke' adulto.

Por lo tanto, podemos deducir que hubo un efecto estimulante del AIB en la formación de callos, ya que a mayor dosis aplicada mayor fue el porcentaje de callos formados. Lo referido anteriormente no concuerda con lo mencionado por Ernst (1987) citado por Ernst y Holtzhausen (1987), que afirma que el AIB tiene una influencia supresora en la formación de callos.

4.3. Ensayo 3: Enraizamiento de esquejes utilizando cámaras húmedas individuales (CHI)

Este ensayo consistió en la siembra de todos los brotes de los diferentes tratamientos, evaluados en el Ensayo 2. Recordemos que a todos los esquejes sin excepción, antes de ser sembrados y después de ser cortados, se les realizó una inmersión basal en una solución de AIB a $10,000 \text{ mg.L}^{-1}$ por 5 segundos.

4.3.1. Enraizamiento de esquejes provenientes de brotes de plantas nodrizas de palto 'Duke'

El tiempo de enraizamiento evaluado fue de 100 días, tiempo que se consideró prudencial para realizar las respectivas observaciones en los esquejes sembrados, ya que en palto, la duración del proceso de enraizamiento suele ser variable y depende del método utilizado, las condiciones ambientales y las características del genotipo estudiado.

En esta evaluación, se adicionó el T0, que son esquejes de brotes totalmente etiolados.

Los resultados se aprecian en el Cuadro 4. De manera general, en todos los tratamientos se registraron enraizamientos, no obstante los más altos porcentajes se alcanzaron en los esquejes con la base etiolada y que habían recibido TPE antes de ser separados de las plantas nodriza, es decir con T2 y T3. De estos dos, destacan los esquejes que en el TPE recibieron la dosis elevada de AIB (T3) con los que se registró 80 % de enraizamiento, mientras que aquellos con el TPE de dosis baja de AIB (T2) lograron enraizar en un 43.3 %. La diferencia entre ambos fue altamente significativa.

Cuadro 4. Estado de los esquejes de palto 'Duke' provenientes de brotes de plantas nodrizas, 100 días después de colocado a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI).

Tratamientos (*)	Estado de los esquejes (Porcentajes)				
	Enraizados (**)		No enraizados		Muertos
	%	N° de raíces primarias	Inicio de raíces(***)	Sólo callo(s)	
T0	20.0 c	2.8 c	0.0	3.3	76.7 a
T1	13.3 c	8.8 ab	23.3	43.3	20.0 b
T2	43.3 b	6.5 bc	0.0	16.7	40.0 b
T3	80.0 a	13.8 a	0.0	0.0	20.0 b

* Todos los esquejes de los tratamientos son provenientes de la evaluación del Ensayo 2, a excepción de T0:

T0: esquejes de brotes totalmente etiolados.

T1: esquejes de brotes sólo con base etiolada.

T2: esquejes de brotes con base etiolada + TPE 5,000 mg.L⁻¹ AIB.

T3: esquejes de brotes con base etiolada + TPE 10,000 mg.L⁻¹ AIB.

** Esquejes que presentaron al menos una raíz primaria desarrollada.

*** Primordios de raíces que empiezan a emerger a partir de protuberancias de aproximadamente 1 mm.

Con los otros dos tratamientos, esquejes totalmente etiolados (T0) y esquejes sólo con la base etiolada (T1), los porcentajes de enraizamiento, 20.0 % y 13.3 % respectivamente, no alcanzaron diferencia significativas entre ellos por lo que estadísticamente son similares, a pesar que hay una tendencia a ser mejores con los primeros.

Estos resultados tienen una relación directa con el estado de los esquejes al momento de ser colocados a enraizar, ya que algunos, como producto de tratamientos de pre enraizado tenían raíces preformadas, y son precisamente estos esquejes (T2y T3) los que enraizaron en mayor cantidad, tal como se puede observar en el siguiente esquema:

Composición de los esquejes a la siembra		% de esquejes enraizados, 100 dds
T0: 100 % sin estructuras preformadas	→	20.0
T1: 100 % “ “ “	→	13.3
T2: 30.0 % con raíces preformadas, 36.7 % con callos, 33.3 % sin estructuras preformadas	} →	43.3
T3: 53.3 % con raíces preformadas, 33.3 % con callos, 13.3 % sin estructuras preformadas	} →	80.0

Es decir que en estos dos tratamientos, un porcentaje importante de esquejes que enraizaron ya tenían el proceso de rizogénesis bastante avanzado, con evidencias visuales de la presencia de raíces. Sin embargo, también es posible que en otros esquejes el proceso ya se haya iniciado pero aún a nivel interno (primordios de raíz) sin cambios morfológicos observables y que por eso fueron considerados a las siembra, como esquejes sin estructuras preformadas o con sólo callos, como tampoco puede descartarse que en otros esquejes el proceso se inició y culminó después de sembrados. Esta última alternativa explica la totalidad del enraizamiento registrado en T0 y T1 puesto que en

ninguno de los casos recibieron tratamientos de pre enraizado.

Aún no es muy claro si la presencia de callos en esquejes necesariamente significa una futura formación de raíces. Hendry y Van Staden (1982), citados por Ernst y Holtzhausen (1987), mencionan que usualmente las raíces penetran a través del callo. No obstante, nuestras observaciones, coincidiendo con Kadman y Ben-Ya'acov (1965), indican que las raíces aparecen directamente del tejido, con o sin desarrollo de callos. De esta manera, como ya se anotó anteriormente, la relación entre la formación y desarrollo de callos y el enraizamiento es algo que aún se estudia y se discute mucho, pero no hay claras evidencias anatómicas de dicha relación.

El empleo de las CHI funcionó de manera bastante eficiente para mantener vivos los esquejes, pues el porcentaje de sobrevivencia de los esquejes al momento de las evaluaciones, considerando las condiciones en que se desarrolló el experimento, fue de manera general realmente notable, registrándose hasta un 80 % de esquejes con sus tejidos y sus hojas en buen estado. Los que murieron presentaban en su mayoría pudriciones en la parte cubierta por el sustrato, sintomatología que fue mucho más acentuada en esquejes totalmente etiolados (T0), en los cuales la sobrevivencia fue baja, 23.3 %. Parece que la concentración de AIB aplicado antes de la siembra fue muy elevada para los delicados tejidos etiolados que en su totalidad presentaban estos esquejes.

Entre los esquejes no enraizados y sólo para T1, se anotó la categoría de esquejes con

inicios de raíces, arrojándose resultados de 23.3% en la zona basal, similares a las estructuras encontradas en algunos brotes del Ensayo 2. Si dichos esquejes hubieran permanecido más tiempo en el sustrato es posible que hubiesen evolucionado hasta formar raíces desarrolladas. Con la finalidad de comprobar lo mencionado, los esquejes con inicios de raíces fueron vueltos a sembrar para ser evaluados 80 días después. La evaluación mostró que el 85.7% de dichos esquejes efectivamente, enraizaron.

En cuanto al número de raíces primarias, destacó T3 con el que los esquejes enraizados formaron 13.8 raíces en promedio, notándose éstas gruesas y vigorosas (Figuras 14 y 15). Con T2 sólo se alcanzó 6.5, las diferencias entre ambos fueron altamente significativas. Además se observó, aunque no se evaluó cuantitativamente, que los esquejes con T3, que recibieron TPE de AIB a $10,000 \text{ mg.L}^{-1}$, presentaron mayor cantidad de raíces secundarias. La menor cantidad de raíces primarias por esqueje, se registró con T0, con un promedio de 2.8 y con T1, a pesar de no diferir significativamente de T2 ni de T3, sus raíces se notaron más débiles, tal como se puede observar en las Figuras 16 y 17.



Figura 14. Enraizamiento con T3, 100 días después de la siembra.



Figura 15. Enraizamiento con T2, 100 días después de la siembra.

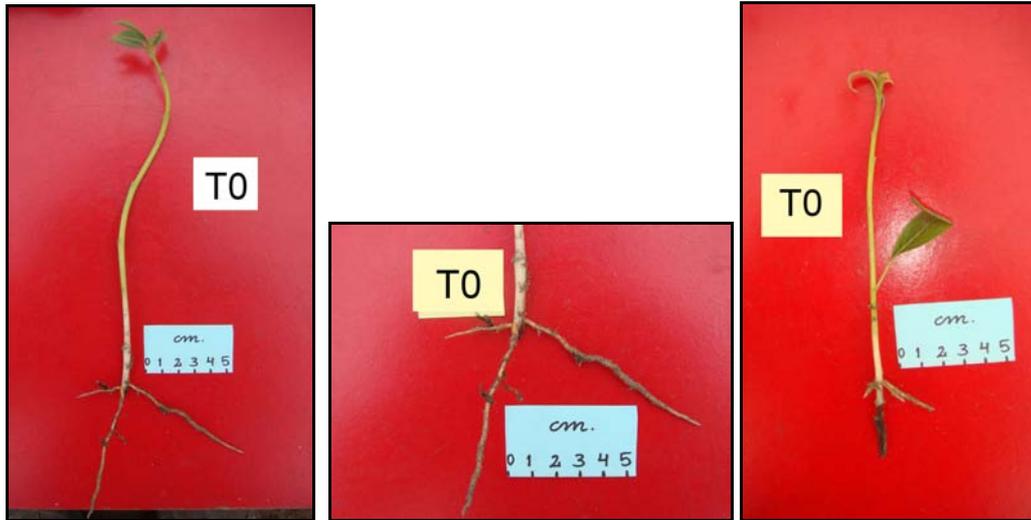


Figura 16. Enraizamiento con T0, 100 días después de la siembra. Se notó escasa área foliar y pobre desarrollo radicular.



Figura 17. Enraizamiento en T1, 100 días después de la siembra. Presencia de raíces débiles y quebradizas.

Nuestros mejores cifras (13.8 con T3), en cuanto al número de raíces primarias formadas sobre los esquejes experimentales, 100 días después de la siembra, constituyen muy buenos resultados, considerando que De los Santos (2001), acodando brotes etiolados alcanza a los 140 – 160 días un promedio de 11 – 12 raíces por acodo.

De lo mencionado, podemos deducir que el uso de la técnica del TPE, aplicado en brotes aún adheridos a las plantas nodrizas, acelera el proceso de enraizamiento una vez sembrados los esquejes, en comparación a sólo la técnica del etiolado, que fue el caso de T1.

En relación a la presencia de callos, parte de los esquejes ya venían con callos antes de ser puestos a enraizar, sin embargo, otros formaron callos ya en el sustrato, tal como claramente ocurrió con T0 y T1, donde inicialmente se sembraron esquejes sin estructuras y con la evaluación a los 100 días mostraron 3.3 % y 43.3 % de callos, respectivamente. En T2 y T3 parte de los esquejes con callos murieron y posiblemente algunos de estos esquejes formaron también raíces.

Finalmente, como se puede apreciar en el Cuadro 6, el porcentaje total de esquejes muertos con T0 llegó a un 76.7%. Dicho tratamiento mostró diferencias altamente significativas respecto a los demás tratamientos. En todos los tratamientos la gran mayoría de muertes ocurrió por un tipo de pudrición que empezaba en el tejido enterrado en el sustrato, lo que se supone se originó por la alta dosis de la solución de AIB a 10,000 mg.L⁻¹ en la que se remojaron las partes basales de los esquejes utilizados.

4.3.2. Enraizamiento de esquejes provenientes de brotes de árboles adultos de palto 'Duke'

Los resultados de ésta evaluación se aprecian en el Cuadro 5. De manera general, en ninguno de los tratamientos hubo enraizamiento, pero si presencia de callos, observándose en este aspecto, mejores resultados en T3, que difiere significativamente de los demás tratamientos. La mortalidad de los esquejes fue bastante elevada, sin embargo aquellos que se mantuvieron vivos mantuvieron sus hojas en buen estado como se aprecia en la Figura 18.

Cuadro 5. Estado de los esquejes de palto 'Duke' provenientes de brotes de plantas adultas, 100 días después de colocado a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI).

Tratamientos (*)	Estado de los esquejes (Porcentajes)			
	Enraizados	No enraizados		Muertos
	%	Sólo callo(s)	Sin estructuras	
T1	0.0	23.3 b	16.7	60.0 a
T2	0.0	16.7 b	3.3	80.0 a
T3	0.0	43.3 a	3.3	53.3 a

* Los esquejes sembrados en este ensayo fueron los brotes que se evaluaron en el Ensayo 2: T1, T2 y T3.

T1: esquejes de brotes sólo con base cubierta con papel aluminio.

T2: esquejes de brotes con base cubierta con papel aluminio + TPE 5,000 mg.L⁻¹ AIB.

T3: esquejes de brotes con base cubierta con papel aluminio + TPE 10,000 mg.L⁻¹ AIB.

Al momento de la siembra, algunos esquejes ya tenían la presencia de callos, otros no. Después de los 100 días transcurridos luego de la siembra, T1 fue el único en el que hubo claro incremento en la formación de callos (de 0 a 23.0%). Con T2 y T3 se observó una disminución en cuanto al porcentaje de esquejes con callos evaluados en comparación al

porcentaje que presentaban al ser sembrados. Dicha baja ocurrió por la muerte de esquejes, ya que ninguno formó raíces.

Nuestros resultados concuerdan con la bien establecida dificultad de tejidos de plantas adultas para formar raíces adventicias (Eggers y Halma, 1937; Frolich, 1951; Gillespie, 1956, 1957; Kadman y Ben-Ya'acov 1965; Hartmann *et al.*, 1997). En algunas ocasiones se reportan algunos enraizamientos, pero después de mucho tiempo de sembrados los esquejes, es el caso de Ernst y Holtzhausen (1987) quienes trabajando con esquejes de palto 'Duke 6' y 'Duke 7' provenientes de árboles adultos, en condiciones controladas, recién a los 400 días lograron un 10% de enraizamiento en esquejes de 'Duke7'. Asimismo, Young (1961) probó anillado y aplicación de AIB sobre pequeños brotes de cultivares maduros, y obtuvo tejido caloso a partir de la tercera semana y raíces desde los cinco a once meses.



Figura 18. Formación de callos 100 días después de la siembra de esquejes con T3.

V. CONCLUSIONES

- Las cámaras oscuras individuales (COI) confeccionadas con tubos plásticos de pvc opacos o bolsas negras de polietileno igualmente opacas, colocadas sobre cada planta nodriza con la finalidad de etiolar brotes, funcionaron eficientemente, llegando a registrar hasta un 90.0% de plantas nodrizas con brotes etiolados. Los buenos resultados parecen estar condicionados a una buena aireación y a la reducción de la humedad al interior de las COI. Esta alternativa podría reemplazar al tradicional traslado masivo de las plantas a cuartos oscuros de etiolación.
- Los tratamientos de pre enraizado (TPE) aplicados a la parte basal de los brotes etiolados una vez expuestos a la luz normal, que incluían la aplicación de ácido indolbutírico (AIB) en una astilla de madera y cubriendo esta zona con papel aluminio para mantenerla etiolada a manera de “acodos sin sustrato”, permitieron tener, 45 días después, hasta un 50.3 % de brotes con raíces preformadas. Los mejores resultados se lograron cuando se empleó el AIB a dosis de $10,000 \text{ mg-L}^{-1}$. Los brotes con esta importante ventaja adicional que constituye la presencia de las raíces preformadas podrían ser empleados como esquejes o como acodos.
- Los esquejes elaborados con los brotes que recibieron TPE con AIB en astilla, 100 días después de colocados en un sustrato enraizaron hasta en 80 %, en parte debido a que una cantidad significativa de estos esquejes, antes de su siembra,

tenía ya avanzado el proceso de enraizamiento, mientras que en otros es posible que el proceso estuviese aún en estados iniciales a nivel de primordios de raíz en tejidos internos del esqueje o incluso el proceso pudo ocurrir totalmente después de la siembra.

- Las cámaras húmedas individuales (CHI) colocadas sobre cada uno de los esquejes puestos a enraizar, reemplazando al riego por nebulización, funcionaron de manera eficiente, creando las condiciones de alta humedad relativa necesaria para mantener vivos los tejidos de sus hojas y tallos hasta 100 días, lográndose hasta un 80 % de sobrevivencia.
- Los cambios e innovaciones introducidos en las técnicas tradicionales de la propagación clonal de portainjertos de palto, en las fases de etiolación (COI), acondicionamiento de los brotes (TPE) y mantenimiento de esquejes vivos (CHI) podrían configurar una nueva metodología a utilizar en la propagación clonal de portainjertos de palto.

VI. RECOMENDACIONES

- Probar la metodología de propagación clonal de portainjertos descrita en este trabajo con otros cultivares de palto.
- Usar semillas más grandes que las empleadas en el experimento, de variedades específicas de palto como 'Zutano' por ejemplo, y sembrarlas en condiciones de camas en invernadero, con la finalidad de obtener plántulas más vigorosas y de brindar mejores condiciones para el crecimiento de los brotes de las plantas nodrizas.
- Usar otros tipos de sustratos compuestos por materiales que no han sido utilizados en el presente experimento.
- De acuerdo a las cámaras oscuras individuales (COI), sería conveniente mejorar la ventilación buscando variaciones en la conformación de las mismas.
- Tratar de lograr resultados de pre enraizado (TPE) en un tiempo más corto, así como probar otros fitorreguladores, y también variar en sus diferentes formas de aplicación.
- Probar cámaras húmedas individuales (CHI) más grandes y adecuarlas de tal manera que pueda haber mejores condiciones de ventilación para favorecer el proceso de enraizamiento del esqueje.

VII. RESUMEN

El cultivo de palto, que en nuestro país está experimentando en los últimos años un impresionante crecimiento como actividad agroexportadora, necesita sustentar su desarrollo en la puesta en práctica de tecnologías que optimicen el manejo en las diversas fases que conforman el proceso total de producción de una plantación. En este contexto, el empleo portainjertos clonales que permiten instalar huertos con árboles íntegramente uniformes, es un componente tecnológico de mucha importancia.

Tratando de simplificar algunos procedimientos que posibiliten la implementación de una metodología para la propagación clonal por esquejes de portainjertos de palto, se llevó a cabo un estudio en el vivero del Programa de Investigación en Frutales de la Universidad Nacional Agraria La Molina, entre Marzo del 2008 y Enero del 2009, teniendo como base el empleo de brotes etiolados del cultivar 'Duke'. El trabajo se dividió en tres ensayos.

En el primer ensayo se estudió la eficiencia de cinco tipos de cámaras oscuras individuales (COI), constituidas por tubos plásticos opacos de pvc y bolsas de polietileno negras igualmente opacas, colocadas sobre cada una de las plantas nodrizas injertadas con el cultivar Duke, para obtener el crecimiento de brotes etiolados de este portainjerto. Se alcanzaron porcentajes que variaron entre 66.0 % y 93.6% de plantas nodrizas con brotes etiolados en buenas condiciones. Los resultados más significativos estuvieron relacionados con mejores condiciones de ventilación y control del exceso de humedad dentro de estas cámaras.

En el segundo ensayo, empleando brotes etiolados de palto 'Duke', crecidos sobre plantas

nodrizas y una vez colocados en condiciones de luz normal para desetiolarlos, se aplicaron tratamientos de pre-enraizado (TPE), en una zona de la parte media basal de los brotes que se mantiene etiolada cubriéndola con papel aluminio. De esta manera se examinó la posibilidad de crear en estos brotes aún adheridos a la planta madre, condiciones para un mejor enraizamiento, cuando, posteriormente, sean empleados como esquejes. Como tratamientos se usaron dos concentraciones de AIB (5,000 y 10,000 ppm) aplicadas en astillas de madera, embebidas con la auxina, que fueron incrustadas de un extremo a otro en el tallo. A los 45 días después de la aplicación de dichos tratamientos, el 56.6 % de brotes tratados con la dosis alta presentaron raíces en estados iniciales de crecimiento, mientras que con la dosis menor, el 43.3 % de los brotes presentaron estas estructuras. En el tratamiento testigo, sólo tallo cubierto con papel aluminio, no hubo formación de ninguna estructura y sólo mantuvo la zona etiolada.

En el ensayo 3, los esquejes provenientes de los brotes del ensayo previo fueron sembrados, cubriendo cada uno con una cámara húmeda individual (CHI), confeccionada con envases plásticos vacíos de bebidas, para mantener una alta humedad relativa al interior de la misma y asegurar la sobrevivencia del esqueje. 100 días después, los esquejes provenientes de brotes que recibieron TPE, arrojaron porcentajes de enraizamiento de 43.3% (TPE 5,000 ppm de AIB) y 80,0% (TPE 10,000 ppm de AIB).

VIII. LITERATURA CITADA

1. AGUILERA PALMA, MARCELA. 2007. Propagación de patrones de palto mediante acodo aéreo y esqueje. Memoria de título. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Escuela de Agronomía. 16 p.
2. ALVES DE OLIVEIRA, A., KOLLER, O.C., VILLEGAS MONTER, A. 1999. Propagación vegetativa de aguacate selección 153 (*Persea sp.*) por acodo en contenedor. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 221-225.
3. BARRIENTOS-PRIEGO, A., BORYS, M.W. AND BARRIENTOS-PEREZ, F. 1986. Rooting of avocado cuttings (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte and Colin V-33. California Avocado Society Yearbook 70: 157-163.
4. BASSUK, N.L. AND MAYNARD, B.K. 1987. Stockplant etiolation and blanching of woody plants prior to cutting propagation. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 112(2): 273-276.
5. BEN-YA'ACOV, A. 1985. Selection of avocado rootstocks. South African Avocado Growers' Association Yearbook 8: 21-23.
6. BEN-YA'ACOV, A. AND MICHELSON, E. 1995. Avocado rootstocks. In: J. Janick (ed.) Horticultural Reviews. Volume 17:381-429. John Wiley and Sons, Inc. New York, NY.
7. BEN-YA'ACOV, A. AND ZILBERSTAIN, M. 1999. Clonal avocado (*Persea americana* Mill.) rootstocks in Israel. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 39-42.

8. BEN-YA'ACOV, A., MICHELSON, E. AND ZILBERSTAIN, M. 1992. Selection of clonal avocado rootstocks in Israel for High Productivity under different soil conditions. Proc. Of Second World Avocado Congress. Pp. 521-526.
9. BERNALES ABARCA, C.A. 1997. Implementación de la técnica de etiolación y acodo en la propagación clonal de paltos (*Persea americana* Mill.). Taller de licenciatura Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 78p.
10. BIASI, L.A., KOLLER, O.C. 1993. Propagação clonal do abacateiro cv. Ouro Verde através da mergulhia de ramos estiolados. Revista Brasileira de Fruticultura 15(3): 95-102.
11. BROKAW NURSERY. 2009 – 2010 Tree Availability. En: <http://www.brokawnursery.com/>. Último acceso: 03.11.2009.
12. BROKAW, W.H. 1987. Avocado clonal rootstock propagation. Proc. Inter. Plant Prop. Soc. 37: 97-103.
13. CALABRESE, F. 1992. El aguacate. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa. 246 p.
14. CALZADA BENZA, J. 1970. Métodos Estadísticos para la Investigación. Editorial Jurídica. Lima – Perú. 644 pp.
15. CASTRO, M., FASSIO, C., DARROUY, N. Y AEDO, M. 2003. Desarrollo de técnicas para la copia e árboles de palto sobresalientes en Chile. Actas V Congreso Mundial del Aguacate, pp. 123-128.

16. CHRISTENSEN, M.V., ERIKSEN, E.N AND ANDERSEN, A.S. 1980. Interaction of stock plant irradiance and auxin in the propagation of apple rootstocks by cuttings. *Scientia Hort.* 12: 11-17.
17. CUTTING, J.G.M. AND VAN VUUREN, S.P. 1988. Rooting leafy non-etiolated avocado cuttings from gibberellin-injected trees. *Scientia Horticulturae* 37: 171-176.
18. DA COSTA JR, W.H., SCARPARE FILHO, J.A., COSTA BASTOS, D. 2003. Estiolamento da planta matriz e uso de ácido indolbutírico no enraizamento de estacas de goiabeiras. *Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal – SP* 25(2): 301-304.
19. EGGERS, E.R. Y HALMA, F.F. 1937. Rooting avocado Cuttings. *California Avocado Association Yearbook* 21: 121-125
20. ERNST, A.A. 1999. Micro cloning: a multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 217-220.
21. ERNST, A.A. AND HOLTZHUASEN, L.C. 1987. Callus development – a possible aid in rotting avocado cuttings. *South African Avocado Growers' Association Yearbook* 10: 39-41.
22. FICHET, T. Portainjertos, una nueva alternativa para Chile. En: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_agronomicas/razetob01/c05.html . Último acceso: 07.10.2009.
23. FROLICH, E.F. 1951. Rooting Guatemalan avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook* 36: 136-138.

24. FROLICH, E.F., AND PLATT, R.G. 1971. Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. California Avocado Society Yearbook 55: 97-109.
25. GALLO LLOBET, L., PÉREZ ZÁRATE, S. Y SIVERIO DE LA ROSA, F. 1999. Búsqueda de resistencia a *Phytophthora cinnamomi* Rands en patrones de aguacate de raza antillana. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 275-277.
26. GANDULFO SOTO, L.M. 1963. Efecto del anillado y la aplicación del ácido indolbutírico en el enraizamiento de brotes etiolados de palto (*Persea americana* Mill.) cv. Mexícola. Tesis. Univerisdad católica de Valparaíso, Quillota – Chile. Escuela de Agronomía. Deptamento de horticultura. 71 p.
27. GILLESPIE, J.L. 1956. Preliminary investigation of “residual juvenility” in avocado seedling stem. California Avocado Society 40: 132-134.
28. GILLESPIE, J.L. 1957. Stem-rotting veietal clones by means of “juvenility growth phase” leafy stem nurse cutting. California Avocado Society 41: 94-96.
29. HARTMANN, H.T., KESTER, D.E., DAVIS, JR. F. T. AND GENEVE, R.L. 1997. Plant propagation: Principles and Practices. 6th Ed. Prentice-Hall, Inc. Upper Saddle River, New Jersey, U.S.A. 770 p.
30. HEUSER, C. W. 1976. Juvenility and rooting cofactors. Acta Hort. (ISHS) 56: 251-262.
31. HOFSHI, R. 1997. Clone your own avocado at home. Subtropical Fruit News 4(2): 4-6.

32. HOMSKY, S. 2000. The avocado industry in Israel – an overview. En: <http://www.colpos.mx/ifit/aguacate2/ingles2/israel.htm> . Último acceso: 07.10.2009.
33. INFORMACCION. Mercados Internacionales Agrícolas Palta. En: <http://www.informaccion.com/agricultura/noticiasagricultura.html#2> . Último acceso: 25.09.2009.
34. KADMAN, A. 1976. Effects of the age of juvenile stage avocado seedling on the rooting capacity of their cutting. California Avocado Society Yearbook 58-60.
35. KADMAN, A. AND BEN YA'ACOV, A. 1965. A review of experiments on some factors influencing the rooting of avocado cuttings. California Avocado Society Yearbook 49: 67-72.
36. KARHU, S.T. 1991. ABSTRACT: Effects of etiolation and shading on the rooting of woody ornamental cuttings. ISHS Acta Horticulturae 314: II International Symposium on Prpagation of Ornamental Plants.
37. KOLLER, O.C. 1992. Abacaticultura. 2da Ed. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS. Brazil. 138 p.
38. KREZDORN, A.H. Y MARTE, D. 1976. Advances in rooting avocados. Proc. Fl. Sta. Hort. Soc. 89: 261-263.
39. MENGE, J.A. 1999. Strategies to control *Phytophthora cinnamomi* root rot of avocado. En: <http://cesandiego.ucdavis.edu/bender/p%20cinnamomi%20root%20rot.htm> . Último acceso: 02.10.2009.

40. MENGE, J.A. 2001 Screening and evaluation of new rootstocks with resistance to *Phytophthora cinnamomi*. In: Proc. California Avocado Research Symposium, Riverside, CA, pp. 49-53.
41. MENGE, J.A., GUILLEMET, S., CAMPBELL, S., JOHNSON, E. AND POND, E. 1992. The performance of rootstock tolerant to root rot caused by *Phytophthora cinnamomi* under field conditions in Southern California. In: Proc. 2nd World Avocado Congress, pp. 53-59.
42. MOLL, J.N. AND WOOD, R. 1980. An efficient method for producing rooted avocado cuttings. Subtropical Fruit Research Institute 1(11): 9-12.
43. MUÑOZ PEREZ, R.B. Y ROGEL CASTELLANOS, I. 1998. Ensayos sobre propagación clonal de portainjertos de aguacate. Fundación Salvador Sánchez Colín S.C., Cuotepec Arinas, Estado de México. México.
44. PYMEX: Portal de Comercio Exterior. 2009. Aumento exportación de palta peruana. En: <http://www.pymex.pe/noticias/peru/548-aumento-exportacion-de-palta-peruana.html> . Último acceso: 05.10.2009.
45. REUVENI, O. AND RAVIV, M. 1980. Importance of leaf retention to rooting of avocado cuttings. J. Americ. Soc. Hort. Sci. 106(2): 127-130.
46. RODRIGUEZ NAVAS, A. C. 2003. Implementación de las técnicas de etiolación y acodo y microclonación en paltos (*Persea americana* Mill). Tesis Ing. Agr. Quillota, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Escuela de Agronomía. 66p.

47. SALAZAR-GARCIA, S. AND BORYS, M.W. 1983. Clonal propagation of the avocado through "Franqueamiento". California Avocado Society Yearbook 67: 69-72.
48. SALAZAR-GARCÍA, S., VELASCO CÁRDENAS, J.J., MEDINA TORRES, R. Y GÓMEZ AGUILAR, J.R. 2004. Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. Revista Fitotecnia Mexicana 27(2): 183-190.
49. SANTOS ALVARADO, J.M. de los. 2001. Enraizamiento de brotes etiolados de palto cv. Duke 7 injertados con cv. Fuerte y cv. Hass. Tesis Ing. Agr. Universidad Nacional Agraria La Molina. Facultad de Agronomía. 89p.
50. TAIZ, L. AND ZEIGER, E. 2002. Plant physiology. 3rd edition. Sinauer Associates., Inc. 690 p.
51. VELHO DA SILVEIRA, S., DUTRA DE SOUZA, P.V., KOLLER, O.C. 2004. Propagação vegetativa de abacateiro por estaquia. Rev. Bras. Frutic., Jaboticabal – SP 26(1): 191-192.
52. VEIERSKOV, B. 1988. Relations between carbohydrates and adventitious root formation, pp. 70-78, *In*: Davies, T.D.; Haissig, B.E.; Sankla, N. (eds.) Adventitious Root Formation in cuttings. V.2 Discorides Press, Portland USA.
53. VIVEROS BROKAW. Lista de precios para el año 2009. En: <http://www.viverosbrokaw.com/precios.html> . Último acceso: 01.11.2009
54. WEAVER, R. 1980. Reguladores de crecimiento de las plantas en la agricultura. México, D. F. Editorial Trillas. 622 pp.

55. WESSELS, H. 1996. In vitro clonal propagation of avocado rootstocks. South African Avocado Growers' Association Yearbook 19: 59-60.
56. WHILEY, A.W., SCHAFFER, B. AND WOLSTENHOLME, B.N. 2002. The avocado, botany, production and uses. CABI Publishing. 416 pp.
57. WHITSELL, R., MARTIN, G., BERGH, B., LYPPS, A. AND BROKAW, W. 1989. Propagating avocados: Principles and techniques of nursery and field grafting. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publ. 21461. 30 p.
58. WILLINGHAM, S.L., PEGG, K.G., COATES, L.M, COOKE, A.W., DEAN, J.R., LANGDON, P.W. AND BEASLEY, D.R. 2001. Rootstock influences postharvest anthracnose development in 'Hass' avocado. Australian Journal of Agriculture Research 52: 1017-1022.
59. YOUNG, L.B. 1961. Vegetative propagation in avocados by means of marcottage and the rooting of cuttings. California Avocado Society Yearbook 45: 63-66.
60. ZENTMYER, G.A. 1980. *Phytophthora cinnamomi* and the diseases it causes. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. Monogr. 10.
61. ZENTMYER, G.A., MENGE, J.A. AND OHR, H.D. 1998. Phytophthora root rot. In: Compendium of tropical fruit diseases (eds. R.C. Ploetz, G.A. Zentmyer, W.T. Nishijima, K.G. Rohrbach and H.D. Ohr). American Phytopathological Society Press, St. Paul, Minnesota, USA, pp. 77-79.

IX. ANEXOS

Anexo 1: Datos meteorológicos

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

OBSERVATORIO METEOROLOGICO ALEXANDER VON HUMBOLTD

Datos Marzo del 2008 a Enero del 2009
Promedios mensuales

Lat.: 12°05' S

Long.: 76°57' W

Alt.: 244 msnm

	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Set	Oct	Nov	Dic	Ene.09
Temp. Max. (°C)	29.1	27.7	21.8	18.8	20.8	18.8	20.4	20.5	23	25.6	27.8
Temp. Min. (°C)	19.5	17.3	14	14.6	14.9	14.8	14.5	14.6	16.1	17.3	19.1
Temp. Prom. (°C)	25.3	22.5	18.3	16.7	17.6	16.8	17.2	17.4	19.8	22.2	24.1

Anexo 2: Esquema de la metodología empleada para la propagación clonal de portainjertos de palto 'Duke'



- A: Brotamiento del injerto de 'Duke'. Brote listo para ser etiolado.**
- B: Colocación de la cámara oscura individual (COI) para empezar el proceso de etiolación.**
- C: Tratamiento de pre enraizado (TPE) en la parte basal del brote una vez retirada la COI.**
- D: Brote desarrollado (con la parte basal aún etiolada y pre tratada) listo para ser extraído como esqueje.**
- E: Siembra de esquejes con sus respectivas cámaras húmedas individuales (CHI) en bolsas plásticas llenas de sustrato.**
- F: Enraizamiento de esquejes.**

Anexo 3: Porcentaje de plantas con brotes etiolados en buen estado luego de 20 días de colocada la cámara oscura individual (COI)

TRATAMIENTOS	REPETICIÓN						Promedio (%)
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
T1	100	100	100	60	40	100	83.3
T2	80	100	100	100	80	80	90.0
T3	100	100	80	100	60	60	83.3
T4	60	80	40	40	100	20	56.7
T5	60	100	100	100	100	60	86.7

Anexo 4: ANVA para porcentaje de plantas con brotes etiolados en buen estado luego de 20 días de colocada la cámara oscura individual (COI)

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	4266.66667	1066.66667	2.13	0.1072
Error	25	12533.33333	501.33333		
Total correcto	29	16800.00000			
R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	Porcentaje Media		
0.253968	27.98809	22.39047	80.00000		

Anexo 5: Prueba del rango múltiple de Duncan para porcentaje de plantas con brotes etiolados en buen estado luego de 20 días de colocada la cámara oscura individual (COI)

Duncan Agrupamiento	Media	N	Trat
A	90.00	6	T2
A			
A	86.67	6	T5
A			
B A	83.33	6	T3
B A			
B A	83.33	6	T1
B			
B	56.67	6	T4

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Anexo 6: Porcentaje de brotes desetiados de palto 'Duke' con raíces preformadas, aún adheridos a plantas nodrizas y 40 – 45 días después de recibir el TPE

TRATAMIENTOS	REPETICIÓN						Promedio (%)
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
T1	0	0	0	0	0	0	0.0
T2	20	20	40	40	20	40	30.0
T3	60	80	40	20	60	60	53.3

Anexo 7: ANVA para porcentaje de brotes desetiados de palto 'Duke' con raíces preformadas, aún adheridos a plantas nodrizas y 40 – 45 días después de recibir el TPE

(TRANSFORMACIÓN RAÍZ CUADRADA)

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	1.67134557	0.83567279	72.53	<.0001**
Error	15	0.17283405	0.01152227		
Total correcto	17	1.84417962			
R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	RTR Media		
0.906281	25.63593	0.107342	0.418716		

** Significación al 0.01 de probabilidad

Anexo 8: Prueba del rango múltiple de Duncan para porcentaje de brotes desetiados de palto 'Duke' con raíces preformadas, aún adheridos a plantas nodrizas y 40 – 45 días después de recibir el TPE

Duncan Agrupamiento	Media	N	Trat
A	53.333	6	T3
B	30.000	6	T2
C	0.000	6	T1

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Anexo 18: Porcentaje de esquejes muertos de palto 'Duke' provenientes de brotes de plantas nodrizas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

TRATAMIENTOS	REPETICIÓN						Promedio (%)
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
T0	60	80	80	80	80	80	76.7
T1	40	20	0	0	20	40	20.0
T2	40	0	60	60	40	40	40.0
T3	0	20	40	40	20	0	20.0

Anexo 19: ANVA para porcentaje de esquejes muertos de palto 'Duke' provenientes de brotes de plantas nodrizas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

(TRANSFORMACIÓN RAÍZ CUADRADA)

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	93.0391028	31.0130343	6.62	0.0028**
Error	20	93.6736290	4.6836815		
Total correcto	23	186.7127318			
R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	MUERTOSTR	Media	
0.498301	38.02844	2.164181	5.690955		

** Significación al 0.01 de probabilidad

Anexo 20: Prueba del rango múltiple de Duncan para porcentaje de esquejes muertos de palto 'Duke' provenientes de brotes de plantas nodrizas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

Duncan Agrupamiento	Media	N	Trat
A	76.667	6	T0
B	40.000	6	T2
B			
B	20.000	6	T1
B			
B	20.000	6	T3

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Anexo 21: Porcentaje de esquejes sólo con presencia de callo(s) de palto 'Duke', provenientes de brotes jóvenes de plantas madres adultas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

TRATAMIENTOS	REPETICIÓN						Promedio (%)
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
T1	20	20	20	40	20	20	23.3
T2	0	20	40	20	20	0	16.7
T3	40	20	60	40	60	40	43.3

Anexo 22: ANVA para porcentaje de esquejes sólo con presencia de callo(s) de palto 'Duke', provenientes de brotes jóvenes de plantas madres adultas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

(TRANSFORMACIÓN RAÍZ CUADRADA)

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	25.06890603	12.53445302	5.51	0.0160*
Error	15	34.09512205	2.27300814		
Total correcto	17	59.16402808			
R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	CaLLOTR Media		
0.423719	29.86125	1.507650	5.048850		

* Significación al 0.05 de probabilidad

Anexo 23: Prueba del rango múltiple de Duncan para porcentaje de esquejes sólo con presencia de callo(s) de palto 'Duke', provenientes de brotes jóvenes de plantas madres adultas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

Duncan Agrupamiento	Media	N	Trat
A	43.333	6	T3
B	23.333	6	T1
B			
B	16.667	6	T2

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes

Anexo 24: Porcentaje de esquejes muertos de palto 'Duke', provenientes de brotes jóvenes de plantas madres adultas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

TRATAMIENTOS	REPETICIÓN						Promedio (%)
	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
T1	80	40	80	20	80	60	60.0
T2	100	80	40	80	80	100	80.0
T3	60	80	20	60	40	60	53.3

Anexo 25: ANVA para porcentaje de esquejes muertos de palto 'Duke', provenientes de brotes jóvenes de plantas madres adultas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

(TRANSFORMACIÓN RAÍZ CUADRADA)

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	2	9.26637387	4.63318693	1.87	0.1886
Error	15	37.19754576	2.47983638		
Total correcto	17	46.46391963			
R-cuadrado	Coef Var	Raiz MSE	MUERTOSTR	Media	
0.199432	19.86157	1.574750	7.928626		

Anexo 26: Prueba del rango múltiple de Duncan para Porcentaje de esquejes muertos de palto 'Duke', provenientes de brotes jóvenes de plantas madres adultas, 100 días después de colocados a enraizar con cámaras húmedas individuales (CHI)

Duncan Agrupamiento	Media	N	Trat
A	80.00	6	T2
A			
A	60.00	6	T1
A			
A	53.33	6	T3

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes