

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA DE FRUTICULTURA

TALLER DE LICENCIATURA

**IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA DE ETIOLACIÓN Y ACODO
EN LA PROPAGACIÓN CLONAL DE PALTOS (*Persea americana*
Mill.)**

CLAUDIO ANDRÉS BERNALES ABARCA

QUILLOTA CHILE

1997

ÍNDICE DE MATERIAS

1. INTRODUCCIÓN

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. EFECTO DE LAS GIBERELINAS EN LOS PROCESOS DE GERMINACIÓN DE LAS SEMILLAS Y EN LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DE LAS PLÁNTULAS

2.2. EFECTO DE LA ETIOLACIÓN Y ANILLADO EN LA RIZOGÉNESIS

2.3. EFECTO DEL SUSTRATO EN LA RIZOGÉNESIS

2.4. EFECTO DE LAS AUXINAS EN LOS PROCESOS DE RIZOGÉNESIS

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. UBICACIÓN DEL ENSAYO

3.2. MATERIAL VEGETAL UTILIZADO Y TRATAMIENTO DE LA SEMILLA

3.3. SIEMBRA

3.4. TRASPLANTE A CONTENEDORES

3.5. MEDIO AMBIENTE Y MANEJO DEL INVERNADERO

3.5.1. *Control de la temperatura*

3.6. DESARROLLO DE LA PLANTA NODRIZA E INJERTACIÓN

3.6.1. *Obtención del material de injertación*

3.6.2. *Tipo de material*

3.7. PERMANENCIA EN CÁMARA DE ETIOLACIÓN

3.8. PROCEDIMIENTO POSTERIOR

3.9. MANEJO DE LAS PLANTAS

3.10. TRATAMIENTOS Y PARÁMETROS EVALUADOS

3.11. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. INFLUENCIA SOBRE EL CRECIMIENTO EN ALTURA DE LA PLANTA

4.2. INFLUENCIA SOBRE EL CRECIMIENTO EN DIÁMETRO DE LA PLANTA

4.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS PLANTAS PROCEDENTES DE DISTINTOS TRATAMIENTOS AL MES DE REALIZADO LOS MANEJOS QUE FAVORECEN LA RIZOGÉNESIS

4.4. OBSERVACIONES REALIZADAS DURANTE LA IMPLEMENTACIÓN DE LA TÉCNICA⁶²

5. CONCLUSIONES

6. RESUMEN

7. LITERATURA CITADA

1. INTRODUCCIÓN

El sistema de propagación de portainjertos en palto (Persea americana Mill.) tradicionalmente utilizado en los viveros de Chile, es a través de un método sexual que implica el uso de semillas que originarán plántulas heterogéneas, donde cada una es genéticamente diferente.

Estas diferencias genéticas de los portainjertos francos producen variabilidad en el crecimiento y fructificación de muchas plantaciones, como también diferentes grados de susceptibilidad a bioantagonistas y factores ambientales presentes en nuestro país, que reducen fuertemente la producción de los huertos comerciales.

Por lo tanto, la mejor alternativa para las nuevas plantaciones, a fin de solucionar estos problemas de producción, puede ser a través de la propagación de portainjertos clónales simplemente, o de éstos previamente seleccionados por su tolerancia o resistencia a problemas específicos, ya que frente a la eventualidad de contar con un número considerable de plantas de palto sobre un portainjerto resistente a condiciones adversas, por ejemplo, altos niveles de salinidad, abre la posibilidad de aumentar la superficie plantada en zonas con climas cálidos (sin heladas), pero con dichos problemas en el suelo y/o agua de riego, como acontece en la zona centro-norte de nuestro país.

No obstante, para establecer plantaciones sobre portainjertos clónales es esencial utilizar un método de propagación vegetativa, ya que las características de resistencia pueden perderse al emplear una propagación

por semillas. Ello, sin contar con las ventajas de utilizar un portainjerto clonal, como son la uniformidad, productividad conocida (previsible), y compatibilidad descrita.

De ahí, que se ha realizado por años, una búsqueda del mejor método de obtención de portainjertos clonales de palto (que pueda ser aplicable en forma comercial), probando diversas técnicas que hoy en día convergen en cuatro formas distintas de propagación de esta especie y que son:

- Propagación por estacas; método aún no aplicable comercialmente, debido a sus erráticos resultados, con éxito sólo en algunos cultivares (BEN-JAACOV, 1994)*.

- Micropropagación; se ha logrado un éxito limitado con esta técnica, debido a que el palto es una especie recalcitrante (PLIEGO et al., 1990).

- Propagación por acodo aéreo ("franqueamiento"); ha sido un método exitoso en el enraizamiento de sólo algunos cultivares, pero no como un procedimiento comercial (WHITSELL et al., 1989).

- Propagación por medio de etiolación y acodo (método Brokaw, modificado de Frolich); esta técnica es la más empleada comercialmente en los viveros de palto de California, Estados Unidos (BROKAW, 1987).

Respecto a este último método, cabe señalar que fue seleccionado inicialmente por Frolich y el Vivero Brokaw, California, fue uno de los primeros

* BEN-JAACOV, B. B.S. Agríe., M.S., Ph.D. 1994. Volcani Agricultura! Center. Israel
Profesor Visitante, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía.
Comunicación personal.

en producir portainjertos clónales en forma comercial usando dicha técnica, la que requería de injerto previo en una planta nodriza y posterior crecimiento en cámara de etiolación del material que se pretendía enraizar, el cual era cortado y llevado a cama caliente más neblina artificial para su enraizamiento.

Posteriormente, en este mismo vivero, se modificó dicho método llegando a establecer una técnica única y patentada para la producción de portainjertos clónales, cuya mayor ventaja sobre el método Frolich original, es tener un más rápido desarrollo de los árboles (WHITSELL et al., 1989).

Por último, estas modificaciones junto a la nueva tecnología disponible, ha permitido aumentar la eficiencia del proceso siendo capaz de crear 100.000 de estas plantas en una temporada en dicho vivero, y por lo tanto, hacer más accesible su uso por parte de los agricultores. De ahí que hoy en día, se cree que la mitad de la producción de paltos en California está sobre portainjertos clónales (BROKAW, 1987).

En consecuencia, basados en los buenos resultados de esta técnica en la obtención de patrones clónales de palto, se planteó esta investigación, tratando de probar ciertas modificaciones en alguna de sus etapas que pudieran acortar aún más el proceso en función de los siguientes objetivos:

- Poner a punto esta técnica en nuestro país.
- Determinar el efecto del ácido giberélico, distintos tipos de sustrato y variedad, sobre el crecimiento alcanzado por la planta nodriza hasta el momento previo de realizar la primera injertación.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Efecto de las giberelinas en los procesos de germinación de las semillas y en la velocidad de crecimiento de las plántulas:

En la actualidad, los reguladores de crecimiento de las plantas se utilizan ampliamente en el control del tamaño, desarrollo de los frutos, defoliación, propagación y control de malas hierbas (WEAVER, 1980).

Es así, como en la propagación de plantas se ha implicado a cuatro clases de hormonas vegetales, entre las cuales destacan las giberelinas, en el control de la germinación de las semillas (GALSTON y DAVIES, 1969).

Muchos fisiólogos, entre ellos AMEN (1968) y VILLIERS (1972), piensan que la germinación es regulada por equilibrios entre diversas sustancias promotoras e inhibidoras, siendo las giberelinas el principal promotor y el ácido abscísico el inhibidor. Los inhibidores son sustancias que pueden impedir la germinación, es así como el ABA bloquea el estímulo de las GAs para la germinación, pero las citoquininas en algunas plantas pueden anular dicha acción (KHAN, 1971; WAREING y SAUNDERS, 1971).

Respecto a las giberelinas, PALEG (1965) las define como un compuesto que tiene un esqueleto de gibane que estimula la división y/o la elongación celular.

Por su parte, WEAVER (1980) sostiene que estimulan la germinación en ciertas especies de semillas latentes, aumentan la velocidad de germinación, estimulan el crecimiento de las plántulas y superan el enanismo de los epicotilos latentes.

En cuanto al mecanismo de acción de las giberelinas en las semillas en germinación, MAYER y SHAIN (1974) sugieren que esta hormona producida endógenamente está involucrada en la formación y secreción de un gran número de enzimas, controlando así su metabolismo.

Sin embargo, su accionar ha sido más estudiado en las semillas de cereales, donde SHEPLEY y CHANG (1972) postulan que esta hormona tendría dos sitios morfológicos de acción que son el embrión y la capa de aleurona. El ácido giberélico producido internamente por post-maduración ó aplicado en forma externa, intervendría primero sobre el embrión (activando una serie de reacciones esenciales para su crecimiento), el que a *su vez*, sintetizaría más giberelina, la cual difunde a las capas de aleurona y gatillaría la síntesis de amilasa y de otras hidrolasas (incluyendo proteasas y lipasas), que descomponen rápidamente las paredes celulares de los endospermos e hidrolizan después los almidones y proteínas, liberando así los nutrientes y la energía necesaria para el desarrollo de los embriones.

En base a ésto, TAYLORSON y HENDRICKS (1977) sugieren que si el receso puede ser superado antes que la germinación comience parecería lógico que la acción primaria de la giberelina es superar el receso, pero esta hormona podría tener más de un sitio de acción, uno posiblemente correspondería a la terminación del receso, mientras que otro podría pertenecer a la restitución del sustrato metabólico en el endospermo.

Por su parte, MARCUS (1971) señala que la actividad enzimática resultante de las giberelinas no se debe a la liberación de enzimas de alguna forma de enlace, sino al incremento de la actividad celular, debido a la formación de nuevas enzimas.

Por otra parte, OSBORNE (1965) postula que las giberelinas tal vez provocan cambios a nivel genético que estimulan a su vez la síntesis enzimática en las células. Las giberelinas provocan la estimulación de la síntesis de RNA en las capas de aleuronas, que puede requerir la expresión de los efectos giberelínicos (VARNER y CHANDRA, 1964).

En la actualidad, se cree que las giberelinas modifican el RNA producido en los núcleos, y así puede éste ejercer su control sobre la expansión celular, como sobre otras actividades de crecimiento y desarrollo vegetal (WEAVER, 1980).

Por otro lado, en cuanto a la función de las giberelinas en la expansión celular se han propuesto muchas teorías atractivas como la de MACLEOD y MILLAR (1962) y SHEPLEY y CHANG (1972), los cuales señalan que las giberelinas pueden provocarla mediante la inducción de enzimas que debiliten las paredes celulares. El tratamiento con giberelinas provoca la formación de enzimas proteolíticas de las que puede esperarse una liberación de triptofano, precursor de ácido indol acético (VAN OVERBEEK, 1966). Asimismo, las giberelinas incrementan el contenido de auxinas y pueden transportarlas a su lugar de acción en las plantas (KURAISHI y MUIR, 1963, citados por WEAVER, 1980).

Otro mecanismo mediante el cual las giberelinas pueden estimular la expansión celular es la hidrólisis de almidón, resultante de la producción de amilasa generada por las giberelinas, pudiendo incrementar la concentración de azúcares y elevando así la presión osmótica en la savia celular, de modo que el agua entra a la célula, y tiende a expandirla (SALISBURY y ROSS, 1994).

Otra hipótesis es que las giberelinas estimulan la biosíntesis de ácidos polihidroxicinámicos (KÖGL y ELEMA, 1960). Se considera que estos últimos compuestos inhiben la AIA oxidasa, promoviendo por tanto los procesos mediados en las plantas por las auxinas, al reducir la cantidad de auxinas destruidas por las enzimas.

Por otro parte, desde que se estableció la participación de las fitohormonas tanto en la regulación de la germinación como en el receso, se han utilizado aplicaciones exógenas de reguladores del crecimiento con el fin de inhibir o estimular la germinación. Además, estas aplicaciones presentan la particularidad de reemplazar a menudo los requerimientos de estímulos naturales.

Es así como WEAVER (1980) sugiere que las aplicaciones exógenas de giberelinas en algunas especies tales como cítricos, manzano, vid, duraznero, entre otros, aumentan y/o adelantan la germinación en algunos días, como también aceleran el posterior crecimiento de las plántulas. En tanto HAYASHI (1940), citado por WEAVER (1980), obtuvo un más rápido crecimiento en cebada y arroz con la aplicación de giberelinas, las cuales apresuraban su germinación en concentraciones mayores.

Posteriormente, WITTEWER y BOKOVAC (1958), aplicando giberelinas a las cubiertas de chícharo y fréjol, apresuraron su nacimiento en 3-4 días respecto al testigo, sin embargo, no hubo efecto en el porcentaje de germinación final.

En camelias, las soluciones de GA₃ a 100 ppm aumentan la tasa de germinación y el crecimiento inicial (WEAVER, 1972). A su vez, en naranjo dulce (Citrus sinensis) ha dado buen resultado la inmersión de semillas en 1000 ppm de GA₃, pues, además de aumentar el porcentaje de germinación, induce un crecimiento más rápido durante varios meses (BURNS y COGGINS, 1969).

En cuanto a semillas de palto, BURNS et al. (1966) realizando ciertas pruebas con el cultivar Duke (de germinación lenta y desuniforme), demostraron que si se sumergían post-escarificación en una solución con giberelinas previo a la siembra, mostraban germinación y crecimiento comparativamente rápidos. Al cabo de dos semanas después de la siembra, las plántulas remojadas en dosis de 1.000 a 10.000 ppm germinaron antes y crecieron más alto que aquellas a las que se les aplicó concentraciones más bajas.

Según WHITSELL et al. (1989), se puede realzar la germinación y crecimiento de algunas semillas inmaduras de palto remojándolas con ácido giberélico en concentraciones de 500 a 1000 ppm, pero los tallos resultantes, largos y delgados, pueden ser menos deseables para multiplicación.

Por otro lado, cabe mencionar que DUARTE, BALVIN y FRANCIOSI (1875), al aplicar ácido giberélico a plántulas de palto mejicano en tres períodos (cuando las plántulas habían alcanzado 15 cm de altura, seguido de dos aplicaciones más a intervalos de tres semanas), en dosis de 250 y 500 ppm como pulverización foliar, o la combinación de 500 ppm al follaje acompañada de un anillado con una parte de pasta de lanolina con 3000 ppm de GA₃, a 1-2 cm del cuello en plantas sembradas a inicios de otoño, permitieron acortar el período de siembra a injerto en casi dos meses, y a solo un mes cuando se hicieron aspersiones de 250 ppm a plantas sembradas a fines de otoño.

2.2. Efecto de la etiolación y anillado en la rizogénesis :

Es conocido que existen otros factores externos que ayudan al enraizamiento además de la aplicación de algunos reguladores del crecimiento, como son la época e intensidad de la luz, tratamientos mecánicos de la estaca, como también el tipo y temperatura del sustrato que ayudan a los procesos de rizogénesis (KADMAN y BEN-YAACOV, 1965).

Es así, como se recurre a prácticas tales como la etiolación que comúnmente tiene efectos muy beneficiosos sobre los procesos de rizogénesis, los cuales ya eran reportados por SACHS (1864), citado por SALISBURY y ROSS (1994) al observar que la formación de raíces adventicias era abundante sobre tallos de una gran variedad de especies en la obscuridad, lo cual no ocurría en material expuesto a la luz.

Muchos investigadores, tales como VOCHTING (1878); SMITH (1824); SHAPIRO (1958), citados por GANDULFO (1983); y GARDNER (1937), han demostrado el provechoso papel que juega la ausencia de luz en la formación de raíces.

Por su parte, WILLIAMS y NORTON (1972) consideran que la etiolación de un tejido vegetal es una condición favorable para la formación de raíces en muchas plantas, posiblemente como resultado de una acumulación de auxinas.

Relacionado con ésto, GARDNER (1937) postula que quizás la acumulación de sustancias promotoras de la región etiolada se deba a una anomalía anatómica.

A su vez, VON GUTHENBERG y ZETSCHE (1956), citados por DELARGY y WRIGHT (1978) probaron que la luz actuaba inicialmente en el sistema de transporte de la auxina, en vez de su síntesis.

Además, KONISHI y GALSTON (1904), citados por DELARGY y WRIGHT (1978) descubrieron que los inhibidores del AIA-oxidasa eran más abundantes en plantas etioladas en comparación a las que crecían a la luz.

Respecto a la acción de la luz en el enraizamiento, KAWASE (1965) postula que ésta lo afecta por medio de modificaciones al metabolismo auxínico, al corroborar que hipocotilos etiolados tenían un nivel más alto de auxina

comparado con aquellos expuestos a la luz. Además, al estudiar el lugar de fotosensibilidad en estacas de Phaseolus aureus, indica que la mejor estimulación de raíces se logra cuando se etiola la estaca completa, más que cuando se realiza en la base de la estaca (en las cuales se encontró que retenían un nivel más alto de ácido indolacético en el sitio etiolado durante el periodo de iniciación radical), lo que da mejores resultados en el enraizamiento.

Sin embargo, HERMANN Y HESS (1963), siguiendo la extracción de la auxina endógena y de sus cofactores en estacas de poroto Red Kidney e Hibiscus encontraron mayores niveles en las etioladas (obteniendo un mejor enraizamiento), que en el control. Esto se ve corroborado por CHRISTENSEN, ERIKSEN y ANDERSEN (1980), quienes señalan que el aumento de auxinas en estacas creciendo en la obscuridad es más efectivo, debido a un aumento del nivel de cofactores y además, concluye que el sistema hormonal es el más importante dentro de los factores que afectan el enraizamiento.

Del mismo modo, numerosos trabajos han demostrado que compuestos difenólicos, tales como el ácido clorogénico y el cafeico, son inhibidores de la auxina-oxidasa, donde la acción de los compuestos fenólicos podría ser directa o indirecta por protección de la auxina o estimulación de la síntesis de ésta (MARGARA, 1988).

También se ha señalado que la influencia estimuladora de la etiolación durante la iniciación de las raíces, posiblemente pueda explicarse por la

fotoinactivación de un componente esencial en un complejo requerido para que se formen los primordios radicales (HARTMANN y KESTER, 1981).

Por otro lado, DOUD y CARLSON (1977), al observar raíces de estacas etioladas de *Malus* y encontrar que éstas emergían desde puntos cercanos a concentraciones de almidón (encontrando una relación positiva entre el contenido de almidón y el enraizamiento), postulan que variaciones en los contenidos de carbohidratos en este tipo de tejido, explicarían mejor el efecto de la etiolación sobre el enraizamiento. También concluyen que la etiolación conlleva cambios bioquímicos, los cuales podrían ser hormonales.

Además, por muchos años ha existido controversia si la etiolación promueve la formación de un primordio radical o solamente estimula la elongación de un primordio preformado. Sin embargo, CASTRO (1983), basado en trabajos realizados en frambuesa, indica que algunos resultados sugieren que la etiolación promueve la iniciación radical.

Por otra parte, numerosos investigadores como FROLICH (1951,1961,1971); YOUNG (1961); KADMAN y BEN-YAACOV (1965) y BROKAW (1975, 1977, 1987), han llegado a establecer que la etiolación es un método exitoso en el enraizamiento de estacas de palto, correlacionando la mayor capacidad de enraizamiento con altos contenidos endógenos de auxinas y almidón de la región etiolada. Esta técnica también ha sido útil en la propagación de muchas especies frutales como manzano (GARDNER, 1937; DOUD y CARLSON, 1977; DELARGY y WRIGTH, 1978), olivo y guindo (POLIKARDOVA, 1971, citado por GANDULFO, 1983), entre otros.

Otro factor que altera la inherente capacidad de rizogénesis en una estaca es el anillado que por lo común, provoca un aumento en la producción de auxinas, por encima de la incisión, durante cerca de 10 días; después se produce una disminución gradual, correlacionada frecuentemente con un cese o un retraso en el crecimiento de los brotes (KATO e ITO, 1962).

A su vez, en el peral, el anillado de los tallos da por resultado una mayor iniciación de las raíces que la aplicación de auxinas, lo que indica que el anillado hace algo más que limitarse a aumentar el contenido de auxinas (HIGDON y WESTWOOD, 1963).

Una explicación de este fenómeno se puede encontrar en algunos estudios realizados por STOLZ y HESS (1966) acerca del efecto del anillado de variedades de Hibiscus de enraizamiento fácil y difícil sobre la iniciación radical, en el cual concluyen que el anillado mejora rotundamente la capacidad de la estaca para formar raíces, y que el mayor componente que aumenta en los tejidos sobre el anillo son los carbohidratos. Además, presumen que la mayor habilidad de enraizamiento puede deberse a una acumulación de sustancias promotoras del enraizamiento o sus precursores como también, a una proliferación de células parenquimatosas sobre el anillo, capaces de formar iniciales de raíz o de aumentar la cantidad de raíces por estaca.

Después, estos mismos investigadores en un clon de Hibiscus que enraiza con facilidad, encontraron que el anillado ocasionaba un incremento considerable de un cofactor de enraizamiento arriba del anillo, al igual que un

aumento del nivel de auxina natural y una disminución de éste por debajo del mismo.

Por otro lado, existe bastante evidencia de la obtención de mejores resultados en el enraizamiento, al combinar el anillado con otros tratamientos estimuladores de la rizogénesis. Es así como, en trabajos realizados en manzanos, se comprobó que el anillado mejoró la formación de raíces de estacas etioladas, lográndose un 98% de enraizamiento (DELARGY y WRIGHT, 1978).

Del mismo modo, se ha logrado un efecto sinérgico, al aplicar ácido indol butírico a la base etiolada de estacas de palto, puesto que los porcentajes de enraizamiento logrados fueron marcadamente mayores (ERNEST y HOLTZHAUSEN, 1978).

Por su parte, YOUNG (1961) probó anillado más aplicación de AIB sobre brotes pequeños de cultivares maduros de palto, obteniendo tejido calloso a partir de la tercera semana y raíces desde los cinco a once meses, llegando a establecer que la formación de callo y raíces son dos fenómenos separados.

En cambio, FROLICH y PLATT (1971), también lograron el enraizamiento de brotes etiolados de palto al remover un anillo de corteza cerca de la base de éste y cubriéndolo con medio de enraizamiento.

A su vez, TROCHOULIAS, GRIFFITH y SMITH (1983), estudiando la respuesta al enraizamiento en estacas de palto cv. Duke 7 encontraron que formaba un excelente sistema de raíces cuando los brotes eran etiolados y

estrechados con alambre (anillo), a diferencia de ambos tratamientos aplicados separadamente donde no hubo formación de raíces.

Por último, BROKAW (1977, 1987), en su método de obtención de portainjertos de palto, incluye la etiolación más la colocación de un anillo de metal por sobre la unión del injerto (al que llama "anillo de destete" y que tiene por objeto separar el portainjerto propagado clonalmente de la planta nodriza temporal), y auxinas para obtener una planta con un buen desarrollo de raíces.

También, BARRIENTOS, BORYS y BARRIENTOS (1986) trabajando con estacas de palto cvs. Fuerte y Colin V-33, obtuvieron un menor porcentaje de enraizamiento mediante etiolación respecto al mismo tratamiento más anillado, el cual a su vez fue menor a aquellas que se les realizaron los mismos tratamientos anteriores más la aplicación de auxinas (10.000 ppm de AIB más 300 ppm de ANA), alcanzando 92,5% y 90%, respectivamente.

Por otro lado, MOHAMMED y SORHAINDO (1984) enraizando estacas etioladas de los cvs. Pollock y Lula lograron un 50% y 66% de enraizamiento respectivamente, pero estos porcentajes de enraizamiento mejoraron en ambos cultivares con la aplicación de AIB en 3000 ppm llegando a 66 y 83%.

2.3. Efecto del sustrato en la rizogénesis :

Otro factor externo importante en los procesos de rizogénesis es el tipo y temperatura del sustrato.

Según CROZON y NEYROUD (1990), el término sustrato se aplica a todo material natural o artificial, que permita el anclaje del sistema radical, el cual puede aportar elementos nutritivos. Además, señalan que los sustratos deben aportar los elementos necesarios para el crecimiento, como son el agua y aire, cuya disponibilidad depende de las propiedades físicas y mecánicas de los mismos.

Es así, que a la mayoría de los componentes que se han utilizado en la propagación de plantas en macetas, se les ha estudiado algunas de sus propiedades físicas o químicas para demostrar que solos o mezclados, se pueden utilizar como medio de propagación (NEAL y WAGNER, 1983).

De las propiedades físicas y químicas de mezclas para macetas, que parecen influir mayormente en el crecimiento, están la forma y tamaño de los contenedores, porosidad y aireación del medio, capacidad de retención de humedad, pH de la mezcla o sustrato, capacidad de intercambio catiónico y sales solubles que deben estar en relación con los requerimientos edáficos y nutricionales de las plantas (GOH y HAYNES, 1977).

Es así como HARTMANN y KESTER (1981), indican que un sustrato de enraizamiento ideal es aquel que proporciona suficiente porosidad para

permitir una buena aireación, tiene una alta capacidad para retener agua y además, un buen drenaje.

Del mismo modo, MARGARA (1988) señala que la oxigenación del medio siempre ha sido considerada como un factor favorable en la rizogénesis, es así como la elección del sustrato está regido por la doble necesidad de asegurar humedad y drenaje a la vez. Además, indica que una elevada temperatura (20 a 25 °C), favorece el enraizamiento, como también un pH óptimo, el cual dependerá de la especie.

Por otra parte, HARTMANN y KESTER (1981) mencionan que dentro de las condiciones ambientales requeridas para tener éxito en el enraizamiento de estacas con hojas, está el uso de un sustrato de enraizamiento limpio, húmedo, bien aireado y drenado. Además, señalan que las funciones del sustrato de enraizamiento son: mantener la estaca en su lugar durante el período de enraizado; proporcionarle humedad y permitir la penetración de aire a la base de la misma. También indican que el sustrato de enraizamiento puede afectar al tipo de sistema radical que se origina de las estacas, ya que estacas de ciertas especies, cuando se les hace enraizar en arena producen raíces largas, no ramificadas, toscas y quebradizas, pero cuando se les coloca en una mezcla, como arena y turba, desarrollan raíces bien ramificadas, delgadas, flexibles, de un tipo mucho más apropiado para extraerlas y volverlas a colocar en macetas.

Sin embargo, es importante señalar que la relación agua: aire existente en cualquier sustrato será la que estará condicionando la iniciación de raíces y

su posterior desarrollo. Esta relación en el medio de enraizamiento está gobernada por el tamaño de la partícula como por la porosidad del medio (MAHLSTEDE y HABER, 1960, citados por TAPIA, 1977).

Según HARTMANN y KESTER (1981), las estacas de muchas especies de plantas enraizan con facilidad en una gran diversidad de medios de enraizamiento, pero en las plantas que con dificultad enraizan, el medio de enraizamiento puede influir mucho no sólo en el porcentaje de las que enraicen, sino también en la calidad del sistema radical formado. Además, señalan que la mezcla de algunos sustratos, generalmente muestran mejores resultados que cualquiera de ellos empleados separadamente.

Es así como HARTMANN y LORETI (1965), enraizando estacas de olivo obtuvieron mejores resultados utilizando un sustrato de perlita y vermiculita (1:1) en comparación con la mezcla de perlita y turba (1:1).

En cuanto a sustratos estrictamente minerales como arena, perlita, vermiculita y lana de roca, éstos presentan la ventaja de tener una estabilidad estructural más o menos inalterable y una permeabilidad elevada (ANSTETT, 1974, citado por CROZON y NEYROUD, 1990).

En cuanto al uso de la arena como medio de enraizamiento, HARTMANN y KESTER (1981) indican que ésta debe medir entre 0,05 a 2 mm de diámetro, ser de cuarzo y seca, pesar $1,7 \text{ kg/dm}^3$, como también de preferencia estar fumigada antes de ser utilizada. No tiene capacidad amortiguadora (tampón).

BAKER (1957), citado por TAPIA (1977), describe a la perlita como un mineral de origen volcánico, muy liviano (100 a 135 gr/dm³), y que retiene agua en proporción de tres o cuatro veces su peso. Esencialmente es de pH neutro, pero sin capacidad de buffer y no tiene capacidad de intercambio catiónico.

La perlita se utiliza como medio de enraizamiento para propagar una gran cantidad de especies vegetales y es uno de los materiales más usados en mezclas con los componentes orgánicos.

A su vez la turba, parece ser preferible a muchos productos de madera porque es más estable, no cambia sus características físicas y tiene mejor capacidad tampón, pero su principal desventaja es su alto valor y escasez (ODNEAL y KAPS, 1990). HARTMANN y KESTER (1981), la definen como un material procedente de restos de vegetación acuática, de marismas, ciénagas o de pantanos, que se ha preservado bajo el agua en un estado de descomposición parcial; tiene una gran capacidad de retención de agua, pobre en fósforo y potasio, y de reacción levemente acida.

Ya LONG (1933), citado por HARTMANN y KESTER (1981), haciendo una comparación entre la arena y la turba, determinó que al estar ambos en un punto óptimo para el enraizamiento, volumétricamente la turba contenía el doble de aire y el triple de humedad que la arena.

Por su parte FORTE (1984), citado por MORANDE (1990), trabajando con estacas de feijoa obtuvo los mejores resultados en el enraizamiento utilizando

un sustrato constituido en un 60% por arena y en un 40% de turba, con una temperatura basal de 25 °C. De igual forma KILANY (1986), citado por MORANDE (1990), enraizó estacas de guava utilizando arena y turba (1:1).

BAKER (1957), citado por TAPIA (1977), menciona que en general las mezclas de arena con turba en proporciones de 1:1 ó 3:1 (v/v), son más recomendables porque tienen buena retención de humedad, son livianas, presentan buen drenaje y son homogéneas.

GARTNER y MC INTYRE (1961), citados por TAPIA (1977), trabajando con árboles ornamentales encontraron que la mezcla de sustrato perlita-turba (1:1, v/v), fue el medio de enraizamiento más adecuado que la mezcla turba-arena (1:1, v/v), y que la arena como la perlita solas.

2.4. Efecto de las auxinas en los procesos de rizogénesis :

Diversas clases de reguladores del crecimiento como las auxinas, citoquininas, giberelinas, inhibidores (como el ácido abscísico), y el etileno, influyen sobre la iniciación de las raíces. De ellas, la auxina es la que tiene el mayor efecto sobre la formación de raíces en las estacas (HARTMANN y KESTER, 1981).

Ya SACHS (1880), citado por SALISBURY y ROSS (1994), tenía evidencia de que las hojas jóvenes y las yemas activas promovían la iniciación de raíces, sugiriendo la participación de una sustancia transferible (una hormona).

Posteriormente, THIMANN y WENT (1934), citados por SALISBURY y ROSS (1994), fueron los primeros en demostrar que las auxinas estimulaban la formación de raíces en las estacas, desarrollándose así su uso práctico.

Por otro lado, desde hace muchos años se conoce empíricamente que para que enraicen las estacas de árboles de hoja perenne, se debe conservar al menos una o dos hojas y que las estacas de árboles caducifolios deben tener varias yemas (AUDUS, 1959, citado por ROJAS-GARCIDUEÑAS y RAMÍREZ, 1987), lo cual se debe a que tanto hojas como yemas son fuente de auxina.

Numerosas experiencias de brotación han demostrado claramente la influencia estimuladora que determinan generalmente las hojas o yemas sobre la rizogénesis, lo que evidencia la influencia de una sustancia con circulación polarizada, que es el origen del concepto de regulación hormonal de la rizogénesis (MARGARA, 1988). Sin embargo, JULLIARD (1963), citado por MARGARA (1988), sugiere igualmente la existencia de influencias inhibitoras.

El crecimiento de la raíz está estimulado principalmente por el AIA, el cual puede ser destruido por la AIA-oxidasa, o bien, si se acumula, alcanzar niveles inhibitorios. Según CHADWICK (1970), citado por ROJAS-GARCIDUEÑAS y RAMÍREZ (1987), el crecimiento radical está regulado por un balance entre la auxina (promotor), y el etileno (inhibidor), y como la producción de ésta está dirigida por la propia auxina se tiene aquí un clásico ejemplo de autorregulación.

A su vez, SALISBURY y ROSS (1994) señalan que el etileno inhibe el crecimiento de tallos, raíces, hojas (especialmente en las dicotiledóneas), y causa hinchazón de la raíz al aumentar el crecimiento radial de las células.

Sin embargo, tal situación de autorregulación es discutible, pues en contra del juicio de CHADWICK (1970) y SALISBURY y ROSS (1994), está el juicio de FELDMAN (1984), quien afirma que el etileno promueve la extensión y alargamiento del sistema radical normal y promueve la iniciación de raíces adventicias. Este autor respalda su juicio con diversas citas pero afirma que el problema es que la auxina induce la producción de etileno, lo que dificulta la interpretación.

En segmentos de tallos de tabaco, SHOOG y TSUI (1948) han demostrado que cuando la concentración de auxina es relativamente alta, favorece la formación de raíces adventicias, pero se inhibe la formación de yemas; en cambio, cuando la adenina se encuentra a una alta concentración se forman yemas, pero no raíces, sin embargo, cuando ambas están en proporciones casi iguales, se tiene proliferación de células de callo sin formación de órganos.

También, BACHELARD y STOWE (1963), encontraron que la aplicación de auxina sintética a la base estimula el enraizamiento en estacas de Acer rubrum, en tanto que adeninas o giberelinas la inhibían. Posteriormente, DOMANSKY, KOZLOWSKI y SASAKI (1969) confirman también estos mismos resultados.

Por su parte, WIGHTMAN, SCHNEIDER y THIMANN (1980) señalan que hay una diferencia importante en los efectos de las auxinas exógenas, donde lo usual es observar una inhibición sobre la elongación de la raíz, pero en la iniciación y desarrollo temprano de las raíces se ha visto una promoción.

En tanto, LEOPOLD (1955) indica que la parte ideal para enraizamiento son los tallos, debido a que poseen generalmente bastante tejido no diferenciado, permitiendo así una fácil diferenciación de los primordios radicales, además de contener yemas preformadas, puesto que los tratamientos con auxinas estimuladores de la rizogénesis, no promueven la formación de yemas.

En base a esto HAISSING (1974), citado por SALISBURY y ROSS (1994), indica que muchas especies leñosas (como manzanos, la mayoría de los sauces, entre otros), que poseen primordios de raíces adventicias preformadas en sus tallos, permanecen latentes por algún tiempo a menos que sean estimulados por una auxina.

Sin embargo, los mecanismos de acción de la auxina sobre la rizogénesis han sido siempre objeto de discusiones. Por una parte, se han observado modificaciones de síntesis proteicas, como también se ha sugerido un efecto de la auxina sobre la represión de genes específicos (FELLENBERG, 1969).

Del mismo modo, dentro del proceso de rizogénesis, el cual comprende una diferenciación, ordenación de células en un meristema organizado, determinación del primordio y crecimiento, se señala que la auxina participaría en la diferenciación, y que las raíces no se producirían en donde

exista auxina ligada, sino que el principio activo sería la auxina libre (GORTNER, 1962).

Además, se señala que las auxinas podrían actuar a nivel de las síntesis glucídicas provocando la hidrólisis y la metabolización rápida del almidón. Es así, como los trabajos de CARLIER y VAN HOVE (1964), sugieren que un tratamiento auxínico podría orientar la degradación de la glucosa hacia la vía aerobia de la glicólisis.

Por otra lado, se encontró que durante el enraizamiento, la biosíntesis de compuestos fenólicos que son inhibidores competitivos de la AIA-oxidasa, se puede ver aumentada con el ácido indolacético (BASTIN, 1966).

A su vez, HARTMANN (1974) propone que en presencia de la enzima polifenol-oxidasa se formaría un complejo cofactor-auxina en el proceso de iniciación de raíces, el cual se vería estimulado con el ácido ribonucleico.

Es importante señalar que el AIA comúnmente es menos eficaz que la auxina sintética ANA, al parecer debido a que no es destruida por la AIA-oxidasa u otras enzimas, manteniéndose por mayor tiempo (SALISBURY y ROSS, 1994). Ya GALSTON y HAND (1949), postulan que la luz roja estimularía la oxidación del ácido indolacético, al encontrar una marcada influencia de ésta en el metabolismo auxínico.

Generalmente, el AIB se utiliza más que ANA o cualquier otra auxina en la estimulación del enraizamiento, ya que el AIB es activo a pesar de que se metaboliza con rapidez a AIB-aspartato y al menos otro compuesto conjugado con un péptido (WIESMAN, RIOV y EPSTEIN, 1989).

Es así, como en duraznero el AIB ha dado buenos resultados (COUVILLON y EREZ, 1980). Asimismo, en vid el ANA de 50 a 100 ppm dio resultados superiores al AIA y al testigo (ROJAS-GARCIDUEÑAS *et al.*, 1967, citados por ROJAS-GARCIDUEÑAS y RAMÍREZ, 1987). En manzano el uso de auxinas para enraizamiento se ha generalizado (LOONEY, 1983).

Por otra parte, HERMÁN y HESS (1963) encontraron que los fréjoles "de media luna" y los tallos de Hibiscus, enraizan con facilidad después de la aplicación de AIB y que había un contenido ligeramente mayor de auxinas en los tejidos etiolados respecto a los no etiolados, en los cuales era más eficiente la iniciación de raíces demostrando el efecto sinérgico de la etiolación más la aplicación de auxina exógena.

En palto, se ha estudiado el efecto de sustancias hormonales en la capacidad de enraizamiento de estacas, con una gran variabilidad de respuesta, atribuible a sus condiciones fisiológicas, como la relación de promotores, inhibidores o reservas de material alimenticio en la estaca (GUSTAFSON y KADMAN, 1970).

Sin embargo, SALAZAR y BORYS (1983) han tenido buenos resultados en la propagación clonal de paltos mediante la técnica de "franqueamiento" y la aplicación de auxinas (AIB 10000 ppm + ANA 300 ppm), en cultivares tales como Hass, Wurtz, Fuerte, Duke 6, Duke 7, Edranol y Waldrin.

Por otro lado, HAMDY *et al.* (1980) obtuvieron buenos resultados propagando paltos cultivar Fuerte por medio de acodo aéreo, aplicando AIB 1000 a 1500 ppm a ramas de un año (con un anillo de 1 cm de ancho), de abril a mayo,

usando turba-perlita húmeda como medio, con los cuales logró formación de raíces en 7-10 meses.

Del mismo modo, en el perfeccionamiento del método Brokaw desde su establecimiento, se incluye además la aplicación de auxinas en una solución de 2000 ppm de AIB y 1000 ppm de ANA al tejido etiolado, lo cual acelera el enraizamiento, pero no es esencial para que el proceso suceda (BROKAW, 1987). Sin embargo, los sudafricanos recomiendan dosis de 1500 ppm de AIB (GARDIAZABAL, 1996)*.

Por su parte, GANDULFO (1983), al intentar la propagación clonal del cultivar Mexícola con el método Brokaw obtuvo una mayor rizogénesis con la aplicación de 3000 ppm de AIB más anillado, determinando la factibilidad de su aplicación en Chile.

* GARDIAZABAL, F. Ingeniero Agrónomo. 1996. Profesor, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. Comunicación personal.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del ensayo:

El experimento fue realizado en el invernadero y Laboratorio de Micropropagación de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso, ubicada en el sector La Palma s/n, Comuna de Quillota, V Región de Valparaíso, entre los meses de abril de 1996 a enero de 1997.

3.2. Material vegetal utilizado y tratamiento de la semilla:

Se utilizaron 480 semillas de palto pertenecientes a la raza Mexicana, compuestas por los cultivares "Mexícola" y "Topa-topa" en iguales cantidades.

Las semillas de ambos cultivares fueron obtenidas en su gran mayoría del jardín de variedades de palto de la Facultad de Agronomía, siendo seleccionadas de árboles de 17 años de edad que presentaban buen vigor, desarrollo y producción de frutos.

Estos frutos, que en su totalidad habían alcanzado el estado de madurez fisiológica en conjunto con algunos que se encontraban cercanos a madurez de consumo, fueron cosechados del árbol descartándose todos aquellos que hubiesen caído al suelo, para posteriormente sacarles la pulpa y obtener las semillas que luego fueron lavadas con agua, lo cual ayudó a eliminar restos de pulpa y sacar algo de testa.

Seguidamente, se realizó una escarificación de la semilla, que consistió en efectuar un corte horizontal de 1-2 cm en la parte apical y otro de no más de 4-5 mm en la base de los cotiledones, procediendo además a remover completamente la testa de acuerdo a lo señalado por BERGH (1988).

Una vez concluida la escarificación, se llevó a cabo un tratamiento con giberelinas, que consistió en sumergir por 12 horas la misma cantidad de semillas de cada variedad en una solución de ácido giberélico (producto comercial Pro-Gibb, polvo soluble con GA₃ al 10%), en dosis de 0 y 500 ppm de GA₃, respectivamente.

Posteriormente, todas las semillas fueron desinfectadas en base a productos químicos, sumergiéndolas por 15 min en una solución fungicida compuesta por Bayer 5072 70%WP más Captan 80WP, en dosis de 7.5 y 25 gr, respectivamente, disueltos en 10 l de agua por cada 10 kg de semilla.

3.3. Siembra :

A continuación, se realizó un pregerminado poniendo las semillas de ambos cultivares en una cama de almacigo fría bajo invernadero a fines de abril. Esta cama estaba compuesta por una mezcla de arena con aserrín en una relación de 2:1 previamente esterilizada con vapor a 82 °C por 30 min.

Las semillas, fueron puestas en hileras distanciadas a 6 cm una de otra sobre la superficie del suelo (que contenía una humedad adecuada), apoyando su base y enterrándolas de manera que la parte superior quedara a ras de suelo.

Una vez realizada la siembra en la cama de semilla, ésta se cubrió con un plástico transparente de 0.15 mm de espesor, con el fin de aumentar la temperatura del sustrato y favorecer la germinación conforme a lo indicado por GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991). Esta cubierta de polietileno se mantuvo puesta hasta el momento en que emergieron la totalidad de las plántulas.

3.4. Trasplante a contenedores:

Subsiguientemente, las plántulas de semilla que germinaron (semillas nodrizas), y comenzaron a mostrar un desarrollo saludable alcanzando un largo de radícula de 2 a 3 cm, fueron retiradas de la cancha de pregerminado y seleccionadas para su posterior establecimiento en contenedores.

Como contenedor, se ocuparon bolsas de polietileno negro (0,1 mm espesor), de 40 cm de largo y 12 cm de diámetro, utilizando como medio de propagación tres tipos de sustrato, tales como:

- turba-arena (1:1 v/v); mezcla que al final del ensayo presentó un pH de 4.8 y una CE de 0.94 mmhos/cm a 25 °C.
- suelo francoarcilloso más arena y tierra de hoja (1:1:1 v/v), mezcla que al final del ensayo mostró un valor de pH de alrededor a 8.41 y una CE igual a 2.49 mmhos/cm a 25 °C.
- perlita, cuyo pH al final del ensayo fue de 7.63 y CE igual a 0.67 mmhos/cm a 25 °C.

En esta etapa se llenaron todas las bolsas a 1/3 de su capacidad, para lo cual se dobló el extremo sobrante de cada una de ellas hasta dejarlas a una altura de 13 cm desde la base, quedando los bordes de la bolsa a un mismo nivel con la parte apical de los cotiledones de la semilla (Anexo 1).

No obstante, es importante indicar que todos los sustratos utilizados fueron previamente desinfectados con vapor a 82 °C por 30 min, a excepción de perlita (sustrato estéril).

Inmediatamente después de realizado el trasplante a contenedor, se efectuó un riego con un producto fungicida del grupo químico de los benzimidazoles como Benomilo (producto comercial), en dosis de 100 gr/ 50 l de agua aplicando 75 cc/ bolsa.

3.5. Medio ambiente y manejo del invernadero:

Se utilizó un invernadero de dos aguas con estructura de madera, el cual estaba cubierto con polietileno transparente de 0.15 mm de espesor.

En cuanto al medio ambiente dentro de dicha estructura, el ensayo se realizó bajo condiciones semicontroladas de temperatura, para lo cual se instaló al interior del invernadero un termómetro de máxima y mínima con el que se mantenía un registro diario de esta variable.

3.5.1. Control de la temperatura.

Se trató de mantener la mayor parte del tiempo una temperatura nocturna de alrededor de 10 a 13 °C, y durante el día en un rango de 22 a 28 °C, a través de todo el proceso.

Por consiguiente, desde fines de otoño a inicios de primavera se suministró calor en forma artificial mediante la utilización de dos estufas eléctricas que se conectaban entre las 17:30 y las 10:00 hr, y en algunos casos durante las 24 horas, cuando la temperatura externa era menor a 13 °C.

Además, durante el mismo período se colocó un pedazo de polietileno transparente 0.15 mm de espesor al interior del invernadero a modo de un sistema de doble techo, el cual se sujetó en la base de las cerchas.

Es así, que durante los meses de invierno la temperatura más baja registrada fue de 4 °C y de 34 °C la más alta; la mayor amplitud térmica mensual promedio fue de 7.7-29.3 °C.

A mediados de octubre, se retiró el doble techo y se mantuvieron levantadas las cortinas laterales, con el fin de mantener aireado el invernadero para tratar de no sobrepasar los 28 °C durante el día.

3.6. Desarrollo de la planta nodriza e injertación :

Las plantas de semilla se dejaron desarrollar en el invernadero, y cuando alcanzaron un diámetro de brote aproximado de 5 a 6 mm, se utilizaron como plantas nodrizas y fueron injertadas.

El tipo de injerto usado fue el de pequeña hendidura o cuña, el cual se realizó en el portainjerto franco a una altura de 5 a 7 cm.

3.6.1. Obtención del material de injertación.

Las púas se obtuvieron de un huerto nuevo de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso. Dicho material se seleccionó de árboles jóvenes de 3 años de edad del cultivar Hass, que presentaban buen vigor, desarrollo y estado sanitario.

No se utilizó púas de un portainjerto clonal, ya que no se contaba con dicho material.

3.6.2. Tipo de material.

En todas las fechas en que se presentaron plantas con diámetro injertable, se trató de utilizar material no muy tierno ni demasiado lignificado, o con hojas nuevas y que presentara 2-4 yemas hinchadas.

El material se recolectó el mismo día de la injertación, eliminando las láminas de las hojas y dejando el pecíolo, inmediatamente después que las púas (de 10 cm de largo), eran cortadas del árbol.

La obtención de púas se realizó entre los meses de agosto a diciembre en forma escalonada, por lo cual se usaron distintos tipos de material a injertar:

- púas terminales provenientes del fin de la brotación de otoño, que se ocuparon para la injertación que se realizó en el período correspondiente a agosto-septiembre.
- vastagos que presentaban densos verticilios de yemas (que indican el término del crecimiento de la estación previa), provenientes de la zona media de ramillas laterales y terminales, para los injertos hechos durante septiembre-octubre.
- púas terminales provenientes del término de la brotación fuerte de primavera, que se usaron para la injertación de noviembre a diciembre.

Por otro lado, para cubrir la zona de unión del injerto, se utilizó una cinta plástica no transparente 0.1 mm de espesor con un ancho aproximado de 1.5 a 3.0 cm, la cual se retiró una vez que el injerto hubiese prendido o tiempo después, previo a que se produzcan problemas en el normal desarrollo de la púa por estrangulamiento.

A medida que brotaron los injertos, se dejó una sola yema emergente que poseía vigor palpable, y cuando ésta alcanzó 0,5 a 3 cm en longitud, las plantas fueron transferidas a una cámara oscura para que se produjera la etiolación del tejido (Anexo 1).

3.7. Permanencia en cámara de etiolación :

Para producir la etiolación de la planta, se utilizó una cámara de construcción semisólida de 10.5 m² que se mantuvo en absoluta oscuridad, la cual sin embargo, contaba con un sistema de luz infrarroja que se activaba cada vez que se tenía que efectuar algún manejo dentro de ella, más repisas de tres niveles en las cuales se situaban las plantas que ingresaban a la cámara, y un equipo de aire acondicionado para regular la temperatura interna.

En cuanto al manejo del medio ambiente al interior de la cámara de etiolación, éste se controló mediante el uso de un termómetro de máxima y mínima, el cual se mantuvo en un rango de temperaturas que fluctuaba entre 17 a 28 °C diariamente, siendo lo óptimo una temperatura constante de 21-24 °C (BROKAW, 1987). Por su parte, la humedad relativa no se controló y sólo se procedió a mantener mojado constantemente el suelo de la cámara, a modo de contrarrestar la sequedad del ambiente generada por el uso del equipo de aire acondicionado, y de esta forma evitar la deshidratación del tejido etiolado.

Dentro de la cámara, a los brotes injertados se les permitió crecer hasta alcanzar una altura aproximada de 30 cm (Anexo 2).

3.8. Procedimiento posterior:

Las plantas etioladas fueron retiradas de la cámara oscura y llevadas a un mesón en donde se procedió a realizar un lesionado del tejido etiolado con una sierra en los primeros 10 a 15 cm de altura desde la zona del injerto, para

luego aplicar sobre esta superficie una dosis de auxinas que correspondió a una mezcla de 2000 ppm de AIB (sal potásica) más 1000 ppm de ANA (disuelto en KOH), que se aplicó con pincel sobre dicho tejido.

Una vez que la solución de hormonas aplicada por planta se secó, se puso cerca de la base del brote etiolado un anillo de metal (aluminio), de 0.5 a 1 cm de ancho en forma de "C" apretado flojamente rodeando todo el perímetro del tallo a enraizar, con la finalidad de provocar en esta zona del brote un estrechamiento gradual a medida que la planta se desarrolla, y extinguir de esta forma la vida de la planta nodriza después que se ha completado la propagación (Anexos 3 y 4).

Finalmente se desdobló y extendió completamente los extremos sobrantes de la bolsa, la cual fue llenada en su totalidad con los distintos sustratos a probar en la propagación clonal de paltos para continuar la etiolación del tejido de la base del brote dejando sólo las hojuelas apicales descubiertas. En cuanto al lesionado que se realizó sobre el tejido etiolado, GARDIAZABAL

(1996) , en una muy reciente visita realizada al vivero Brokaw, señala que es una nueva modificación incorporada dentro del actual proceso de obtención de portainjertos clonales en palto, el cual mejora la penetración de la solución de auxina aplicada, incrementando aún más el enraizamiento obtenido.

Por último, las plantas se pusieron a la sombra por pocos días para prevenir quemaduras del tejido por el sol, hasta que la clorofila se hubiera desarrollado en el brote y en algunas hojas (Anexo 5).

* GARDIAZABAL, F. Ingeniero Agrónomo. 1996. Profesor, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. Comunicación personal.

Posteriormente, las plantas fueron nuevamente llevadas al invernadero para que prosiguieran su desarrollo y alcancen el estado necesario para realizar la segunda injertación (con la variedad comercial seleccionada), sobre el portainjerto clonal enraizado.

3.9. Manejo de las plantas :

El riego de las plantas en el invernadero se efectuó mediante manguera, con una frecuencia de 2-3 veces al mes durante el período comprendido entre otoño e invierno. En cambio, durante las estaciones de primavera y verano se regó con una frecuencia de dos a tres días.

Dentro de la cámara de etiolación el riego se realizó manualmente con un vaso precipitado aplicando alrededor de 100 cc por planta cada tres días. Se utilizó agua de pozo como fuente de abastecimiento, la cual poseía un pH de 7.21 y un valor de CE de alrededor a 0.65 mmhos/cm a 25 °C.

En cuanto a la fertilización, por presentarse dentro del invernadero plántulas con síntomas de deficiencia, principalmente en aquellas que tenían perlita como sustrato, se realizaron aplicaciones desde agosto en adelante cada 15 días, donde las primeras se suministraron en forma foliar con productos como Bayfolan (200 cc) más Urea (100 gr) disueltas en 100 l de agua y las restantes vía riego aplicando una dosis de 0.5 gr de urea por planta.

También, cuando las plantas estaban al interior de la cámara oscura se realizaron algunas aplicaciones de urea vía riego a toda planta con brote etiolado mayor o igual a 5 cm en dosis de 0.2 gr por planta.

El control fitosanitario consistió en aplicaciones de los fungicidas ya mencionados anteriormente, más dos aplicaciones de Benomilo dentro la cámara de etiolación producto de un ataque fungoso severo que se generó durante los meses de noviembre y diciembre, como también una aplicación del mismo fungicida la primera semana de enero a las plantas que se encontraban en el sombreadero.

Además, bajo invernadero se hizo una aplicación contra un ataque de pulgones (*Myzus persicae*), que se produjo la primera semana de julio y que se controló en base a un insecticida del grupo de los carbamatos como es Pirimor (producto comercial; ingrediente activo pirimicarb) en dosis de 40 gr/100 l.

El control de malezas, tanto en la calle como en los contenedores, se realizó en forma manual.

3.10. Tratamientos y parámetros evaluados :

Los tratamientos fueron los siguientes :

T1 : Méxicocola + 0 ppm GA₃ + mezcla 1/3 suelo francoarcilloso, 1/3 tierra de hoja, 1/3 arena.

T2 : Méxicocola + 0 ppm GA₃ + mezcla turba-arena (1:1).

T3 : Méxicocola + 0 ppm GA₃ + perlita.

T4 : Méxicocola + 500 ppm GA₃ + mezcla 1/3 suelo francoarcilloso, 1/3 tierra de hoja, 1/3 arena.

T5 : Méxicocola + 500 ppm GA₃ + mezcla turba-arena (1:1).

T6 : Méxicocola + 500 ppm GA₃ + perlita.

T7 : Topa topa + 0 ppm GA₃ + mezcla 1/3 suelo francoarcilloso, 1/3 tierra de hoja, 1/3 arena.

T8 : Topa topa + 0 ppm GA₃ + mezcla turba-arena (1:1).

T9 : Topa topa + 0 ppm GA₃ + perlita.

T10 : Topa topa + 500 ppm GA₃ + mezcla 1/3 suelo francoarcilloso, 1/3 tierra de hoja, 1/3 arena.

T11 : Topa topa + 500 ppm GA₃ + mezcla turba-arena (1:1).

T12 : Topa topa + 500 ppm GA₃ + perlita.

Una vez terminado el trasplante de plántulas a contenedores se realizó la evaluación del crecimiento vegetativo de las plantas a través de la medición del largo de brote semanalmente y su diámetro cada 15 días previo a la primera injertación. Para realizar las mediciones de largo se empleó una huincha milimétrica y para las de diámetro se utilizó un pie de metro, midiendo el diámetro a una altura constante de 5 cm.

Finalmente, como una forma de chequear el proceso de rizogénesis, al cabo de 30 días de aplicados los distintos manejos que favorecen la formación de raíces (etiolación, lesionado, auxinas, anillo y acodo), se realizó una caracterización de cada una de las plantas que en diferentes fechas alcanzaron a llegar a esta fase del proceso, la cual consistió en un análisis visual del tejido tratado, observando si hubo formación de tejido de callo y/o iniciales de raíces. Además, en este mismo período, se procedió a estimar el grado de aclimatación de dichas plantas que fueron sacadas de la cámara oscura, tratadas y transferidas a un sombreadero, para lo cual se evaluó el porcentaje de plantas que sobrevivieron y presentaron un buen desarrollo posterior.

3.11. Diseño del experimento :

La unidad experimental estuvo constituida por una planta y cada tratamiento tuvo 40 repeticiones. La disposición espacial del ensayo se muestra en el Anexo 6. Se utilizó esta disposición espacial sólo como una forma de facilitar el manejo del ensayo, y se realizó una vez efectuados los respectivos sorteos que sustentan el diseño experimental empleado, es decir, cada planta de una misma combinación tuvo la misma probabilidad de estar en cualquiera de los tratamientos.

El diseño estadístico utilizado correspondió a un diseño completamente al azar, con arreglo factorial $2 \times 2 \times 3$, donde los factores fueron dos niveles de ácido giberélico, dos variedades y tres tipos de sustrato. Los promedios fueron analizados mediante el Test de Tukey, cuando no hubo interacción significativa, y por comparación independiente de cada factor usando el mismo test de separación de medias cuando la interacción fue significativa.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Ensayo 1: EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACIDO GIBERELICO, USO DE DISTINTOS SUSTRATOS Y VARIEDAD, SOBRE EL CRECIMIENTO EN ALTURA DE LA PLANTA NODRIZA.

4.1. Influencia sobre el crecimiento en altura de la planta :

Los resultados obtenidos del análisis estadístico señalan que no existió interacción entre el ácido giberélico, sustrato y variedad durante el primer período comprendido desde los 35 hasta los 105 días después de siembra (momento en que se inició la injertación de las primeras plantas), es decir, que en este lapso el comportamiento relativo de estos factores no varió en las diferentes fechas de observación para los distintos grupos de tratamientos.

Sin embargo, a inicios de septiembre (133 días después de siembra), mes en el cual más de la mitad del total de los tratamientos tuvo a lo menos tres repeticiones injertadas y que se estableció como fecha final de comparación, los tres factores por separado siguieron siendo significativos. No obstante, el análisis de varianza de los resultados en este mismo período demostró además, que existía una interacción entre los factores sustrato y variedad.

En cuanto al comportamiento de cada uno de los factores durante el primer período de desarrollo comprendido entre los 35 a 105 días después de siembra, se puede señalar que respecto a los resultados de la aplicación de ácido giberélico sobre el crecimiento en altura de las plantas, se evidenció un claro efecto de este factor en todos los tratamientos en que se utilizó una dosis de 500 ppm, independientemente del uso de distintos sustratos y

variedad, ya que en éstos (T4, T5, T6, T10, T11 y T12), se produjo un mayor crecimiento en altura para todas las fechas de muestreo (Cuadro 1).

A su vez, el hecho que los tratamientos que incluyeron uso de GA₃ en dosis de 500 ppm alcanzaran alturas mayores de planta, puede atribuirse a los conocidos efectos que produce este regulador de crecimiento en cuanto a adelantar la germinación y favorecer el crecimiento de los tejidos, lo que concuerda con los resultados obtenidos en palto por BURNS *et al.* (1966), quienes demostraron que si se sumergían semillas de palto cv. Duke post-escarificación en una solución con giberelinas previo a la siembra, éstas mostraban una germinación y crecimiento comparativamente rápidos.

Además, también coincide con los resultados de trabajos anteriores realizados en cereales como cebada y arroz en donde se obtuvo un más rápido crecimiento con la aplicación de giberelinas (HAYASHI, 1940, citado por WEAVER, 1980); en flores como camelia donde el uso de GA₃ incrementó la tasa de germinación y crecimiento inicial (WEAVER, 1972); en especies frutales tales como cítricos donde el GA₃, además de aumentar el porcentaje de germinación, indujo un crecimiento más rápido de las plantas durante varios meses (BURNS y COGGINS, 1969 ; WEAVER, 1980) ; y en manzano, vid y duraznero, en que su uso incrementó y/o adelantó la germinación en algunos días acelerando además el subsiguiente crecimiento de las plántulas (WEAVER, 1980).

CUADRO 1. Efecto del ácido giberélico sobre el crecimiento en altura (cm) alcanzado por las plántulas de distintos tratamientos, en seis fechas de observación.

	Crecimiento en Altura (cm)					
Acido Giberélico	Días después de siembra					
	35 (24/5)	49 (7/6)	63 (21/6)	77 (5/7)	91 (19/7)	105 (5/8)
0 ppm	0.62 a*	2.36 a	4.70 a	7.40 a	10.17 a	13.51 a
500 ppm	1.89 b	4.23 b	7.37 b	9.59 b	12.32 b	15.82 b

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren estadísticamente según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

Por otro lado, cabe mencionar que la función de las giberelinas en la elongación celular aún no se conoce muy bien, existiendo muchas teorías atractivas en cuanto a su modo de acción (WEAVER, 1980). Por lo tanto, el mayor crecimiento en altura logrado en los tratamientos en que se incluyó el uso de GA₃, pudo deberse quizás a la hipótesis propuesta por MACLEOD y MILLAR (1962), donde este regulador de crecimiento produciría la inducción de las enzimas que debilitan las paredes celulares.

Sin embargo, VAN OVERBEEK (1966) señala que las giberelinas también podrían provocar la formación de enzimas proteolíticas de las que se esperaría una liberación de triptofano (precursor del ácido indol acético). Con frecuencia las giberelinas incrementan el contenido de auxinas. KURAISHI y

MUIR (1963), citados por WEAVER (1980), mencionan que las giberelinas pueden transportar a las auxinas a su lugar de acción en las plantas.

Otra causa puede ser que las giberelinas estimularían la biosíntesis de ácidos polihidroxicinámicos (compuestos que inhiben la AIA oxidasa), promoviendo por consiguiente los procesos mediados en las plantas por las auxinas (KOGEL y ELEMA, 1960).

Como también, que estas fitohormonas estimularían la elongación celular mediante la hidrólisis del almidón, pudiendo incrementar la concentración de azúcares y elevando así la presión osmótica en la savia celular, de modo que el agua entra a la célula y tiende a expandirla (SALISBURY y ROSS, 1994).

En relación al efecto del tipo de sustrato sobre el crecimiento en altura de las plántulas durante este mismo período, se pudo apreciar que a los 35 días después de siembra, no existieron diferencias significativas al utilizar cualquiera de los tres sustratos en estudio, ya que en todos los tratamientos en cuestión se alcanzó el mismo nivel de crecimiento.

Sin embargo, en las mediciones siguientes realizadas desde los 63 hasta 105 días después de siembra, se vio que hay efecto del sustrato sobre el crecimiento en altura de las plantas, el cual fue mayor cuando se utilizó la mezcla de sustrato turba-arena (1:1) correspondiente a los tratamientos T2, T5, T8 y T11, siendo el sustrato con que se obtuvieron los mejores resultados.

Por su parte, con los sustratos 1 y 3 se obtuvo un menor crecimiento de las plantas y su efecto fue similar, es decir, da lo mismo utilizar cualquiera de los dos sustratos (Cuadro 2).

CUADRO 2. Efecto del tipo de sustrato sobre el crecimiento en altura (cm) alcanzado por las plántulas de distintos tratamientos, en seis fechas de observación.

Sustratos	Crecimiento en Altura (cm)					
	Días después de siembra					
	35 (24/5)	49 (7/6)	63 (21/6)	77 (5/7)	91 (19/7)	105 (5/8)
1*	1.01 a*	2.76 a	5.41 a	7.81 a	10.56 a	13.78 a
2	1.37 a	3.83 b	6.97 b	9.83 b	13.06 b	16.85 b
3	1.37 a	3.29 ab	5.72 a	7.86 a	10.11 a	13.37 a

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

- 1: 1/3 arena + 1/3 suelo franco-arcilloso + 1/3 tierra de hoja.
- 2 : turba-arena (1 :1).
- 3: perlita.

El hecho que el conjunto de tratamientos que incluyó el sustrato turba-arena (1 :1), tuviera una mayor respuesta respecto a los otros tratamientos en que se usó tanto una mezcla constituida por 1/3 de suelo franco-arcilloso, 1/3 de tierra de hoja, más 1/3 de arena, como así también perlita, podría deberse a

las distintas propiedades químicas que posee cada uno de estos sustratos en estudio, donde al parecer características como el pH principalmente estarían influyendo en el crecimiento final de las plántulas, ya que con la mezcla turba-arena (1:1) que al final del ensayo presentó el pH más bajo de los tres (igual a 4,8), se obtuvo los mayores crecimientos en altura corroborando de este modo lo señalado por GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991), en relación a que el palto por ser una especie originaria de un clima semitropical, su crecimiento y desarrollo se ve favorecido en suelos con pH más ácidos.

Por otro lado, en base a lo reportado por BAKER (1957), citado por TAPIA (1977); GOH y HAYNES (1977); HARTMANN y KESTER (1981); y ODNEAL y KAPS (1990), dichos resultados también pueden ser producto de las propiedades físicas que presenta cada uno de los sustratos utilizados, ya que la porosidad y aireación del medio, como la capacidad de retención de humedad, entre otros, es notoriamente diferente en cada uno de ellos y estarían influyendo en cierta medida sobre el crecimiento alcanzado por las plantas.

Por otra parte, al analizar los resultados obtenidos durante este primer período en relación a la variedad y su efecto sobre el crecimiento en altura de las plántulas, se puede señalar que hasta los 91 días después de siembra existe un efecto significativo de la variedad sobre el crecimiento, ya que con el cultivar Mexícola se obtuvieron los mayores valores de altura de planta respecto a lo ocurrido con Topa Topa.

No obstante, a los 105 días después de siembra no se vio un efecto significativo de la variedad en el crecimiento alcanzado por las plantas, puesto que al utilizar tanto el cultivar Mexícola como Topa Topa se obtuvieron los mismos resultados (Cuadro 3).

CUADRO 3. Efecto de la variedad sobre el crecimiento en altura (cm) alcanzado por las plántulas de distintos tratamientos, en seis fechas de observación.

Variedad	Crecimiento en Altura (cm)					
	Días después de siembra					
	35 (24/5)	49 (7/6)	63 (21/6)	77 (5/7)	91 (19/7)	105 (5/8)
<i>Mexícola</i>	1.45 a*	4.08 a	7.46 a	9.90 a	12.39 a	15.06 a
<i>Topa Topa</i>	1.05 b	2.52 b	4.61 b	7.89 b	10.10 b	14.27 a

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

Dicho comportamiento se puede atribuir quizás a que, a pesar de pertenecer ambos cultivares a la raza mexicana, es decir, formar parte de un grupo genéticamente diferenciable por características de orden fisiológicas, cada uno posee ciertas peculiaridades que le son propias, como es por ejemplo la lenta y desuniforme germinación que se produce en Topa Topa a diferencia de Mexícola, lo cual pudo ser la causa del menor tamaño alcanzado inicialmente por las plantas de dicho cultivar antes de los 105 días desde siembra.

Además, si estos resultados se relacionan con los obtenidos por BURNS et al. (1966), estarían indicando que la dosis de 500 ppm de GA₃ en el cv Topa Topa sería un poco baja en un principio para adelantar la germinación de las semillas, crecimiento de las plántulas y uniformidad (Cuadros 1 y 3).

Finalmente, en cuanto al comportamiento de cada uno de los factores en la fecha final de análisis correspondiente a los 133 días después de siembra, se puede señalar que respecto al ácido giberélico los resultados indican que hay un efecto independiente de este factor sobre el crecimiento en altura alcanzado por las plantas. Por lo tanto, es diferente aplicar una dosis de 0 ó 500 ppm, ya que cuando se usó esta última concentración, se alcanzó un mayor tamaño de planta que cuando se aplicó la otra dosis de GA₃ (Cuadro 4).

CUADRO 4. Efecto de la aplicación de ácido giberélico sobre el crecimiento en altura (cm) de plántulas de palto de distintos tratamientos, a los 133 días después de siembra.

ACIDO GIBERELICO	CRECIMIENTO EN ALTURA (cm) (PROMEDIO DE TRATAMIENTOS)
0 ppm	17.6 a*
500 ppm	19.7 b

* Promedios con letras iguales no son estadísticamente diferentes, según Test de Tukey (p=0.05).

Por otro lado, en la misma fecha de observación también se produjo una interacción entre el tipo de sustrato y variedad utilizada, la que al ser analizada respecto al efecto que produce cada uno de los factores de la combinación, ésta mostró que al utilizar tanto el sustrato 1 como el 2, con el cv. Mexíola no se produce el mismo resultado en el tamaño de la planta que al ocupar dichos sustratos con el cv. Topa Topa (son significativamente distintos los crecimientos en altura obtenidos en cada uno de los sustratos), a diferencia de lo que sucede al usar el sustrato 3 en donde se obtiene el mismo tamaño en ambos cultivares. Por lo tanto, en los sustratos 1 y 2 es donde se produce una dependencia con la variedad (Cuadro 5).

CUADRO 5. Efecto del sustrato y variedad sobre el crecimiento en altura (cm) de plántulas de palto, a los 133 días después de siembra.

VARIEDAD	CRECIMIENTO EN ALTURA (cm)		
	SUSTRATO		
	1	2	3
Mexíola	16.5a*	17.8a	18.1a
Topa Topa	19.6 b	22.2 b	17.2a

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren estadísticamente según la prueba de comparación múltiple de Tukey (p=0.05).

Del mismo modo, al analizar la interacción en el otro sentido, ésta demuestra que no hay dependencia entre los factores involucrados al usar cualquiera de los tres sustratos con el cv Mexícola, ya que en éstos se alcanza el mismo tamaño de planta a diferencia de lo acontecido en Topa Topa, en donde claramente hay disparidad en el crecimiento obtenido al ocupar cada uno de los tres sustratos, siendo mayor en la mezcla turba-arena (1:1) y menor en la perlita (Cuadro 6).

CUADRO 6. Efecto del sustrato y variedad sobre el crecimiento en altura del tallo (cm) de plántulas de palto, a los 133 días después de siembra.

SUSTRATO	CRECIMIENTO EN ALTURA (cm)	
	VARIEDAD	
	Mexícola	Topa Topa
1	16.5 a*	19.6 b
2	17.8 a	22.2 c
3	18.1 a	17.2 a

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren estadísticamente según la prueba de comparación múltiple de Tukey (p=0.05).

Ensayo 2 : EFECTO DE LA APLICACIÓN DE ACIDO GIBERELICO, USO DE DISTINTOS SUSTRATOS Y VARIEDAD, SOBRE EL CRECIMIENTO EN DIÁMETRO DE LA PLANTA NODRIZA.

4.2. Influencia sobre el crecimiento en diámetro de la planta :

El análisis estadístico de los datos demuestra que no existe interacción entre los factores ácido giberélico, sustrato y variedad, y que sólo hubo un efecto independiente de cada uno de ellos en las fechas de muestreo analizadas desde los 49 hasta los 119 días después de siembra.

A su vez, en la subsiguiente fecha de muestreo establecida como la final de análisis, correspondiente a los 133 días después de siembra, cuando más de la mitad del total de los tratamientos tuvo a lo menos tres repeticiones injertadas, los tres factores por separado siguieron siendo significativos ; sin embargo, el análisis de varianza también mostró significativa la interacción entre los factores sustrato y variedad.

En cuanto al comportamiento de cada uno de los factores durante el primer período de desarrollo comprendido entre los 49 a 119 días después de siembra, se puede señalar que respecto al efecto que produjo el ácido giberélico sobre el desarrollo de las plántulas, el análisis de los resultados indica que durante dicho período los tratamientos que incluyeron este factor en dosis de 500 ppm fueron quienes alcanzaron en promedio un mayor crecimiento en diámetro de tallo, medidos a los 5 cm desde el cuello de la planta, a diferencia del conjunto de tratamientos en que se usó una dosis de 0 ppm donde se logró un diámetro menor (Cuadro 7).

CUADRO 7. Efecto del ácido giberélico sobre el diámetro (mm) alcanzado por las plántulas de distintos tratamientos, en seis fechas de muestreo.

	Crecimiento en Diámetro (mm)					
Ácido Giberélico	Días <i>después de siembra</i>					
	49 (7/6)	63 (21/6)	77 (5/7)	91 (19/7)	105 (5/8)	119 (19/8)
0 ppm	0.15 a*	0.78 a	1.64 a	2.38 a	2.99 a	3.47 a
500 ppm	0.38 b	1.51 b	2.23 b	2.75 b	3.35 b	3.66 b

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

Los mejores resultados obtenidos al aplicar ácido giberélico, pueden atribuirse a los efectos que produce este regulador de crecimiento sobre la germinación, división y/o la elongación celular, ya que en éstos provoca un adelanto en la germinación y una activación tanto del crecimiento como del desarrollo de los tejidos respectivamente, lo que coincide con los resultados obtenidos en palto por BURNS et al. (1966), quienes obtuvieron plantas de mayor diámetro al ocupar dosis de GA₃ superiores a 100 ppm.

Además, corrobora lo señalado por PALEG (1965) en relación a que las giberelinas estimulan la división y/o la elongación celular.

De igual forma, el mayor crecimiento en diámetro de planta con el uso de ácido giberélico en dosis de 500 ppm puede ser quizás producto del adelanto en la germinación de las semillas, ya que con ésto las plantas habrían dispuesto de un más largo tiempo para su crecimiento y desarrollo.

Por otro lado, cabe mencionar que los resultados obtenidos difieren con los de WHITSELL et al. (1989), quienes señalan que al remojar semillas de palto en una solución con ácido giberélico en concentraciones de 500 a 1000 ppm, los tallos resultantes pueden ser largos y delgados, no deseables para la multiplicación.

A su vez, se midió el efecto del sustrato durante el mismo período de observación señalado anteriormente, y en base a los resultados obtenidos del análisis, se pudo determinar que hubo diferencias significativas al usar cada uno de los tres sustratos en estudio en cada una de las fechas de muestreo. Es así que al usar la mezcla turba-arena (1:1) siempre se obtuvo un mayor aumento en el diámetro de las plantas, debido quizás, a las características físicas y químicas que presenta dicho sustrato que lo hacen ser el más recomendable para la propagación, confirmando de esta forma lo reportado por BAKER (1957), citado por TAPIA (1977) y ODNEAL y KAPS (1990).

Por otro lado, también se puede señalar que usando tanto el sustrato 1 como el 3, se obtuvo los mismos resultados sobre el diámetro de planta en todas las fechas del período analizado, existiendo una similitud en los efectos producidos al usar el sustrato 2 o 3 solamente en el día 49 y 77 de muestreo (Cuadro 8).

CUADRO 8. Efecto del tipo de sustrato sobre el crecimiento en diámetro (mm) alcanzado por las plántulas de distintos tratamientos, en seis fechas de observación.

	Crecimiento en Diámetro (mm)					
Sustrato	<i>Días después de siembra</i>					
	<i>49 (7/6)</i>	<i>63 (21/6)</i>	<i>77 (5/7)</i>	<i>91 (19/7)</i>	<i>105 (5/8)</i>	<i>119 (19/8)</i>
1*	0.17 a*	0.96 a	1.70 a	2.38 a	2.97 a	3.45 a
2	0.42 b	1.46 b	2.21 b	2.93 b	3.51 b	3.84 b
3	0.22 ab	1.01 a	1.90 ab	2.39 a	3.03 a	3.41 a

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

- 1: 1/3 arena + 1/3 suelo franco-arcilloso + 1/3 tierra de hoja.
- 2 : turba-arena (1 :1).
- 3 : perlita.

La razón de estos resultados es la misma que la expuesta anteriormente respecto al crecimiento en altura de las plantas durante el primer período.

Por otro lado, existe un claro efecto de la variedad sobre el diámetro de planta obtenido al usar uno u otro cultivar, ya que en cada uno de los días de muestreo analizados, se produjo una diferencia significativa al usar Mexícola o Topa Topa, siendo mayor el desarrollo logrado cuando se utilizó Mexícola (Cuadro 9).

CUADRO 9. Efecto de la variedad sobre el crecimiento en diámetro (mm) alcanzado por las plántulas de distintos tratamientos, en seis fechas de observación.

	Crecimiento en Diámetro (mm)					
Variedad	<i>Días después de siembra</i>					
	<i>49 (7/6)</i>	<i>63 (21/6)</i>	<i>77 (5/7)</i>	<i>91 (19/7)</i>	<i>105 (5/8)</i>	<i>119 (19/8)</i>
<i>Mexícola</i>	0.38 a*	1.63 a	2.39 a	3.00 a	3.55 a	3.77 a
<i>Topa Topa</i>	0.16 b	0.67 b	1.49 b	2.13 b	2.78 b	3.78 3.36 b

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

Dicho comportamiento se podría atribuir a que, a pesar de pertenecer ambos cultivares a la raza mexicana, es decir, formar parte de un grupo genéticamente diferenciable por características de orden fisiológicas, cada uno posee ciertas peculiaridades que le son propias, como es por ejemplo la lenta y desuniforme germinación que se produce en Topa Topa a diferencia de Mexícola, lo cual pudo ser la causa del menor diámetro alcanzado por las plantas de dicho cultivar, ya que contaron con un menor tiempo de desarrollo.

Finalmente, en cuanto al comportamiento de cada uno de los factores en la fecha final de análisis correspondiente a los 133 días después de siembra, se puede señalar que se observó un aumento en el diámetro de tallo alcanzado

por las plántulas cuando se aplicó ácido giberélico en dosis de 500 ppm, tanto en el cv Méxicocola como Topa Topa en los tres diferentes sustratos cuyos tratamientos corresponden a T4, T5, T6, T10, T11, y T12 (Cuadro 10).

CUADRO 10. Efecto de la aplicación de ácido giberélico sobre el crecimiento en diámetro (mm) de plántulas de palto de distintos tratamientos, a 133 días después de siembra.

ACIDO GIBERELICO	CRECIMIENTO EN DIAMETRO (mm) (PROMEDIO DE TRATAMIENTOS)
0 ppm	3.70 a*
500 ppm	3.94 b

* Promedios con letras iguales no son estadísticamente diferentes, según Test de Tukey ($p=0.05$).

Además, en la misma fecha de observación (133 días después de siembra), se produjo una interacción entre el tipo de sustrato y variedad utilizada, la que al ser analizada respecto al efecto que produce cada uno de los factores de la combinación demuestra que no se producen los mismos resultados en el diámetro de las plantas al utilizar tanto el sustrato 1 como el 3, con el cv. Méxicocola, ya que los valores obtenidos en éstos son superiores a los alcanzados cuando se ocupan dichos sustratos con el cv. Topa Topa (son significativamente distintos los crecimientos en diámetro obtenidos en cada uno de los sustratos), a diferencia de lo que sucede al usar el sustrato 2 en donde se obtienen diámetros de planta similares para ambos cultivares. Por

lo tanto, en los sustratos 1 y 3 es donde se produce una dependencia entre los factores involucrados (Cuadro 11).

CUADRO 11. Efecto del sustrato y variedad sobre el crecimiento en diámetro (mm) de plántulas de palto, a los 133 días después de siembra.

VARIEDAD	CRECIMIENTO EN ALTURA (cm)		
	SUSTRATO		
	1	2	3
Mexicola	4.10 a*	4.04 a	3.99 a
Topa Topa	3.58 b	3.95 a	3.36 b

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren estadísticamente según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

Por otro lado, al analizar dicha interacción respecto a cada variedad por separado, ésta demuestra que el crecimiento en diámetro alcanzado por el cv. Topa Topa depende del tipo de sustrato que se esté utilizando, ya que los más altos valores obtenidos se produjeron al usar el sustrato 2 (turba-arena); mientras que con los sustratos 1 y 3 se tuvieron menores e iguales crecimientos en diámetro, no existiendo diferencias entre ambos.

En cambio, en el cv Méxicocola con los tres sustratos en estudio se obtuvieron diámetros de planta similares y por consiguiente, no hubo dependencia entre los factores involucrados (Cuadro 12).

CUADRO 12. Efecto del sustrato y variedad sobre el crecimiento en diámetro (mm) de plántulas de palto, a los 133 días después de siembra.

SISTRATO	CRECIMIENTO EN DIAMETRO (mm)	
	<i>Méxicocola</i>	<i>Topa Topa</i>
1	4.10 a	3.58 a
2	4.04 a	3.95 b
3	3.99 a	3.36 a

* Valores seguidos de una misma letra en una misma columna no difieren estadísticamente según la prueba de comparación múltiple de Tukey ($p=0.05$).

4.3. Caracterización de las plantas procedentes de distintos tratamientos al mes de realizado los manejos que favorecen la rizogénesis:

Las observaciones realizadas en dicho período arrojaron los siguientes resultados :

T 1 : en este tratamiento fueron evaluadas ocho plantas, de las cuales sólo dos presentaron formación de tejido de callo sobre la zona del tejido etiolado que fue sometido a lesionado, encontrándose en buen estado sanitario. El resto de las plantas presentó problemas fungosos.

T2 : en este tratamiento fueron evaluadas nueve plantas, de las cuales sólo tres presentaron formación de tejido de callo en la base del brote etiolado por sobre el anillo (2 están en buen estado y 1 no). El resto de las plantas se perdieron por problemas fungosos.

T3 : en este tratamiento fueron evaluadas sólo dos plantas, de las cuales una de ellas presentó formación de tejido de callo sobre la zona del tejido etiolado que fue sometida a lesionado y la otra se perdió.

T4 : en este tratamiento fueron evaluadas siete plantas, de las cuales dos mostraron formación de tejido de callo, más una que presentó la formación de dos primordios de raíz sobre la zona del tejido etiolado que fue sometido a lesionado (las tres plantas en buen estado sanitario). El resto de las plantas se perdieron al parecer por problemas fungosos.

T5: en este tratamiento fueron evaluadas once plantas, de las cuales ninguna presentó formación de tejido de callo y/o primordios de raíces sobre la zona del tejido etiolado que fue sometido a lesionado, ya que todas se perdieron por problemas de manejo (lesionado muy drástico), y fungosos.

T 6: en este tratamiento fueron evaluadas seis plantas, de las cuales sólo una presentó formación de tejido de callo sobre la zona del tejido etiolado que fue

sometido a lesionado. Las demás plantas se perdieron al parecer por problemas fungosos.

T7 : en este tratamiento no hubo evaluación, ya que ninguna planta alcanzó a llegar a esta etapa del proceso.

T8 : en este tratamiento fue evaluada sólo una planta, la cual no presentó formación de tejido de callo y/o primordios de raíces, debido a la pérdida de ésta por la pudrición del tejido etiolado.

T9 : en este tratamiento fueron evaluadas dos plantas, las cuales presentaron formación de tejido de callo y tres primordios de raíces sobre la zona del tejido etiolado que fue sometida a lesionado.

T10 : en este tratamiento fueron evaluadas dos plantas, de las cuales una de ellas presentó formación de tejido de callo y tres primordios de raíces sobre la zona del tejido etiolado que fue sometida a lesionado y la otra no, estando ambas en buen estado sanitario.

T11 : en este tratamiento fueron evaluadas cinco plantas, de las cuales sólo una presentó formación de tejido de callo y primordio de raíz sobre la zona del tejido etiolado que fue sometido a lesionado. Las demás plantas presentaron pudrición del tejido.

T12 : en este tratamiento no hubo evaluación, ya que ninguna planta alcanzó a llegar a esta etapa del proceso.

Es importante señalar que la totalidad de plantas evaluadas por tratamiento no fueron caracterizadas todas en una misma fecha, sino que se realizó a medida que las plantas cumplieran un mes después de realizado los manejos para favorecer la rizogénesis en una de las cinco fechas establecidas, de observación.

En relación a los resultados obtenidos, se puede apreciar que con el tratamiento T5 se logró el mayor número de plantas que alcanzó a llegar a la fase 2 (con plantas aptas para realizar manejos que favorecen rizogénesis). En cambio, con los tratamientos T7 y T12 fue con los que se obtuvo el menor número de plantas en dicha fase (Cuadro 13).

CUADRO 13. Porcentaje plantas que alcanzaron la fase 2 respecto al total por tratamiento.

TRATAMIENTOS	Nº DE PLANTAS	%
T1*	8	22.8
T2	9	25.7
T3	2	5.7
T4	7	20.0
T5	11	31.4
T6	6	17.1
T7	0	0
T8	1	2.8
T9	2	5.7
T10	2	5.7
T11	5	14.3
T12	0	0

* Cada tratamiento consta de 35 plantas.

Por otro lado, respecto al número de plantas que sobrevivieron y presentaron un buen desarrollo posterior, después de un mes de realizado los manejos que favorecen la rizogénesis (lesionado, aplicación de auxinas, anillo de metal y acodo), los resultados obtenidos muestran que los tratamientos T9 y

T10 fueron los que tuvieron el mayor porcentaje de sobrevivencia de plantas en comparación a los tratamientos T5 y T8 en donde se produjeron las peores respuestas. No obstante, cabe señalar que los malos resultados obtenidos en T5 pueden ser atribuidos a problemas iniciales de manejo (lesionado muy drástico), ya que el 40% de las plantas que llegaron a la fase dos fueron las primeras en ser sometidas a dicho manejo (Cuadro 14).

CUADRO 14. Porcentaje de plantas que comenzaron el proceso de rizogénesis y resistieron el período de aclimatación, del total de plantas que alcanzó la fase 2.

TRATAMIENTOS	Nº DE PLANTAS	%
T1*	2	25.0
T2	1	11.1
T3	1	50.0
T4	3	42.7
T5	0	0.0
T6	1	16.7
T7	0	0.0
T8	0	0.0
T9	2	100
T10	2	100
T11	1	20.0
T12	0	0.0

* Cada tratamiento consta de 35 plantas.

En términos generales, el grado de aclimatación de las plantas en la totalidad de los tratamientos en relación a las plantas que llegaron a la fase 2, fue de un 24,5%.

4.4. Observaciones realizadas durante la implementación de la técnica :

Al tiempo que fueron cumpliéndose cada una de las distintas etapas del proceso, se llevaron a cabo las siguientes observaciones :

- En la fase correspondiente a la escarificación de la semilla, producto de estar trabajando con dos cultivares diferentes, se pudo apreciar en términos de manejo que la labor específica de remoción de la testa fue bastante más fácil de realizar en Topa Topa que en Mexícola, debido a que dicha cubierta estaba mucho menos adherida a los cotiledones de la semilla en el primer cultivar. Por consiguiente, esta labor en Topa topa se llevó a cabo de manera fácil y rápida (en la mitad del tiempo que demoró la escarificación en Mexícola).

- En cuanto al tiempo que se necesitó para alcanzar cada uno de los estados de desarrollo de la planta durante la ejecución de la técnica, y basados en los datos obtenidos por BROKAW (1987), se puede señalar que para los distintos tratamientos correspondientes al cultivar Mexícola con y sin ácido giberélico en los tres sustratos evaluados, se logró la germinación de la totalidad de las semillas de cada tratamiento en un período de 3 semanas, lo que coincide con lo reportado por dicho autor. No obstante, cabe señalar que para el caso del cultivar Topa Topa esta fase se completó 1 -2 semanas más tarde.

Por otro lado, respecto al tiempo requerido por la planta nodriza en alcanzar el desarrollo mínimo necesario para realizar la primera injertación, en los distintos tratamientos en estudio se obtuvieron cifras bastante dispares a las señaladas por BROKAW (1987), quien alcanzó esta etapa en sólo 3 a 5

semanas, ya que en el presente ensayo dicho período duró 14 a 18 semanas, ocupando el triple de tiempo que el citado autor.

La razón de esta gran diferencia de tiempo se podría deber a que las condiciones internas del medio ambiente dentro del invernadero no fueron las adecuadas, ya que pese a trabajar con calefactores, costó bastante mantener regulada la temperatura y humedad relativa a niveles óptimos, registrando una amplitud térmica diaria relativamente alta, sobretodo en invierno, lo que demuestra la gran importancia de este elemento dentro del sistema y cómo influye en el tiempo total de obtención de portainjertos clonales, lo que implica contar necesariamente con un cierto nivel de infraestructura básica para que el método de propagación sea comercialmente viable.

En cuanto a las demás fases que se alcanzaron a realizar dentro del proceso (brotación púa portainjerto clonal; residencia en cámara de etiolación; estado para injertación de la variedad comercial), en términos generales estas coincidieron en tiempo con las obtenidas por BROKAW (1987).

- Al ocupar bolsas de 8 litros no se requirió de una lámina de soporte para doblar el extremo sobrante de éstas hasta dejarlas a 1/3 de su capacidad en la gran mayoría de los contenedores, pero una vez finalizado el proceso, se determinó que era necesario utilizar este tipo de estructura de apoyo al trabajar con sustratos como perlita, debido a que se tienen bastantes problemas con la estabilidad y deformación de las bolsas al momento de realizar los distintos manejos, además de aumentar la probabilidad de daño por ruptura de raíces.

- Otro factor importante a tener en consideración por lo observado durante el proceso, fue lo necesario que se hace contar con un buen control de la temperatura y humedad relativa dentro de la cámara de etiolación, como también, de las medidas de sanidad existentes dentro de ésta, puesto que si no se mantienen dentro de rangos óptimos provocan una serie de desventajas, tales como :

1. Incurrir en un mayor tiempo de permanencia de las plantas al interior de la cámara, debido a un mal control de estos factores, que afectan el crecimiento y desarrollo del brote etiolado (implica un mayor costo en dinero y energía).
2. Dar las condiciones adecuadas para que se produzca el desarrollo de microorganismos fitopatógenos, principalmente hongos, los cuales se propagan rápidamente pudiendo provocar una gran pérdida de plantas si los ataques son severos y/o aumentar la probabilidad de transmisión de enfermedades vía portainjerto.
3. Provocar la abscisión del brote etiolado por deshidratación del tejido generalmente, lo que implica tener que reinjertar e incurrir en una mayor cantidad de tiempo y manejos.

- Por otro lado, es importante señalar que aunque no se analizó el efecto de las distintas épocas de injertación y el tipo de injerto usado, por no estar dentro de los objetivos principales del ensayo, se obtuvo un buen índice de prendimiento mayor al 98% en las distintas fechas en que se realizó la injertación, lo que coincidió con lo indicado por WHITSELL et al. (1989).

- Es importante señalar respecto a los manejos realizados durante el proceso, que en la etapa previa a introducir las plantas injertadas dentro de la cámara de etiolación, se dejen brotar éstas hasta alcanzar una altura de 3 cm, ya que cuando se ingresaron plantas con muy poco crecimiento del brote (púa portainjerto clonal), éstos se demoraban mucho en crecer o se caían a los pocos días de ingresar a la cámara oscura, teniendo que volver a injertar las plantas.

- Respecto a los tratamientos realizados para favorecer la rizogénesis, es importante indicar que se debe considerar muy bien el nivel o grado de lesionado a efectuar sobre el tejido etiolado dependiendo del vigor del brote, ya que en un principio se tuvieron varias pérdidas de plantas producto de un lesionado muy severo que terminó matando a las plantas.

- En este ensayo, también se observó que tanto la formación de tejido de callo, como la aparición de iniciales de raíces, se produjo sólo en la zona etiolada y lesionada por encima de la región en donde se colocó el anillo de metal, lo cual podría atribuirse a que en dicha área se efectuó un conjunto de manejos que favorecen los procesos de rizogénesis, lo que corrobora lo señalado por KADMAN y BEN-YAACOV (1965) respecto a que con la combinación de tratamientos favorables se logran mejores resultados en el enraizamiento.

- Por otro lado, en cuanto al tiempo requerido por la planta nodriza en alcanzar el estado de desarrollo necesario para injertación, en el Cuadro 15 se muestra la cantidad de plantas que alcanzaron diámetro injertable en los diferentes períodos de medición para los distintos tratamientos.

De acuerdo a los datos obtenidos, se puede apreciar que a los 165 días después de siembra, el tratamiento T5 es quien tiene el mayor número de plantas (29 de un total de 35, casi el 83%), con diámetro injertable igual a 5 mm, medidos a los 5 cm de altura desde el cuello de la planta. En cambio, el tratamiento T9, en igual período de observación es el que tiene el menor número de plantas (2 de 35 correspondiente al 5,7%), con diámetro injertable. No obstante, cabe señalar además, que en la misma fecha de observación los tratamientos T1, T4, T6 y T11 tuvieron más del 60% de las plantas con diámetro de injertación, a diferencia de los otros tratamientos en los que estos valores fueron menores.

Del mismo modo, se puede mencionar que antes de los 196 días después de siembra, en los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T8 y T11 casi la totalidad de las plantas (alrededor del 90%), alcanzaron diámetro de injertación.

Por último, es importante señalar que se obtuvo diámetro de injertación en la totalidad de las plantas de los distintos tratamientos, desde los 196 hasta los 258 días después de siembra.

CUADRO 15. Días en alcanzar diámetro injertable para los distintos tratamientos.

Tratamientos	Número de plantas con diámetro injertable				
	<i>Días después de siembra</i>				
	<i>104 - 134</i>	<i>135 - 165</i>	<i>166 - 196</i>	<i>197 - 227</i>	<i>228 - 258</i>
<i>T1</i>	3	18	11	0	3
<i>T2</i>	11	8	16	0	0
<i>T3</i>	6	10	17	1	1
<i>T4</i>	11	16	4	4	0
<i>T5</i>	14	15	5	1	0
<i>T6</i>	4	17	10	3	1
<i>T7</i>	0	9	11	8	7
<i>T8</i>	1	8	26	0	0
<i>T9</i>	0	2	12	14	7
<i>T10</i>	2	13	14	3	3
<i>T11</i>	5	17	13	0	0
<i>T12</i>	0	5	16	10	4

Cada tratamiento consta de 35 plantas.

5. CONCLUSIONES

Se demostró la factibilidad de desarrollar la técnica de etiolación, lesionado, auxinas, anillado y acodo como método de propagación en la obtención de portainjertos clónales de palto, bajo condiciones de invernadero.

Existió un efecto independiente del ácido giberélico sobre el crecimiento en altura y diámetro de la planta nodriza en los diferentes períodos de observación, el cual fue mayor con dosis de 500 ppm de GA₃.

Existió un efecto independiente del sustrato sobre el crecimiento en altura y diámetro de la planta nodriza hasta los 119 días después de siembra, donde los mejores resultados sobre las variables ya mencionadas, se obtuvieron con la mezcla de sustrato turba-arena (1 :1).

Existió un efecto independiente de la variedad sobre el crecimiento en altura y diámetro de la planta nodriza hasta los 119 días después de siembra, obteniéndose los mejores resultados al usar el cultivar Mexícola.

Al mes de aplicar los tratamientos de lesionado, auxinas en dosis de 2000 ppm de AIB (potásico) + 1000 ppm de ANA, colocación de un anillo de metal y acodo sobre brotes etiolados del cv Hass, se logró obtener formación de tejido de callo y primordios de raíces en la zona etiolada por sobre el anillo.

Es necesario contar con una infraestructura mínima con la cual se pueda mantener un buen control de la temperatura y humedad relativa, tanto en el invernadero como la cámara de etiolación para el buen éxito del método.

6. RESUMEN

En el invernadero y Laboratorio de Micropropagación de la Facultad de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso, se realizó un ensayo con el objetivo de implementar la técnica de etiolación y acodo como método de propagación para la obtención de portainjertos clonales en palto (Persea americana Mill.), efectuando variaciones en una de sus etapas para lo cual se propuso probar el efecto de la aplicación de ácido giberélico, tipo de sustrato y variedad sobre el crecimiento en altura y diámetro del portainjerto franco (planta nodriza), hasta el momento previo a su injertación.

Por su parte, el material de semilla provino de los cvs. Méxicocola y Topa Topa (Raza Mexicana), ambos en iguales cantidades ; las dosis de giberelinas aplicadas a las semillas fueron de 0 y 500 ppm de GA₃; los sustratos utilizados correspondieron a una mezcla compuesta por turba-arena (1:1 v/v), una mezcla de arena-suelo francoarcilloso-tierra de hoja (1:1:1 v/v), y perlita. Posteriormente, se realizaron mediciones periódicas de altura y diámetro de planta a los 5 cm, hasta que las plántulas alcanzaran diámetro injertable de 5 mm. Después se injertaron con púas del cv. Hass, se llevaron a una cámara oscura y una vez obtenidos los brotes etiolados se les efectuó un lesionado, aplicó auxinas (en dosis de 2000 ppm de AIB + 1000 ppm de ANA), colocación de un anillo de metal y acodaron para su enraizamiento.

Se demostró la factibilidad de desarrollar la técnica de etiolación y acodo como método de propagación en la obtención de portainjertos clonales de palto, bajo condiciones de invernadero. Existió un efecto independiente del ácido giberélico sobre el crecimiento en altura y diámetro de la planta nodriza en los diferentes períodos de observación, el cual fue mayor con dosis de 500 ppm de GAs. Hubo un efecto independiente del sustrato sobre el crecimiento en altura y diámetro de la planta nodriza hasta los 119 días después de siembra, donde los mejores resultados sobre las variables ya mencionadas se obtuvieron con la mezcla de sustrato turba-arena (1:1). Existió un efecto independiente de la variedad sobre el crecimiento en altura y diámetro de la planta nodriza hasta los 119 días después de siembra, obteniéndose los mejores resultados al usar el cultivar Méxicocola.

Al mes de aplicar los tratamientos sobre brotes etiolados del cv. Hass, se logró obtener formación de tejido de callo y primordios de raíces en la zona etiolada por sobre el anillo.

Es necesario contar con una infraestructura mínima con la cual se pueda mantener un buen control de la temperatura y humedad relativa, tanto en el invernadero como la cámara de etiolación para el buen éxito del método.

7. LITERATURA CITADA

- AMEN, R. D. 1968. A model of seed dormancy. Bot. Rev. 34:1-31.
- BACHELARD, E. and STOWE, B. 1963. Rooting of cuttings of *Acer rubrum* L and *Eucalyptus camaldulensis* dehm Austral. J. Biol. Sci. 16: 751-767.
- BARRIENTOS, A.; BORYS, M.W. and BARRIENTOS, F. 1986. Rooting of avocado cuttings (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte and Colin V-33. California Avocado Society Yearbook 70: 157-163.
- BASTIN, M. 1966. Root initiation, auxin level and biosynthesis of phenolic compounds. Photochem. Photobiol. 5: 423-429.
- BERGH, B. 1988. The effect of pretreatments on avocado seed germination. California Avocado Society Yearbook 72: 215-221.
- BROKAW, W. H. 1975. Rootrot resistant avocado clonal rootstock. Proc. inter. Plant Prop. Soc. 21: 7-8.
- _____. 1977. Subtropical fruit tree production: avocado as a case study. Proceedings International Plant Propagators Society 27: 113-121.
- _____. 1987. Avocado clonal rootstock propagation. Proc. inter. Plant Prop. Soc. 37: 97-103.
- BURNS, R.M.; MIRCETICH, S.M.; COGGINS, C. and ZENTMEYER, G.A. 1966. Gibberellin increases growth of Duke avocado seedlings. California Agriculture 20: 6-7.

_____. and COGGINS, C. 1969. Sweet orange germination and growth aided by water and gibberellin seed soak. Calif. Agr. 23: 18-19.

CARLIER, A. and VAN HOVE, C. 1964. Influences of a naphthaleneacetic acid on growth, respiration and $^{14}\text{CO}_2$ production from glucose $1\text{ }^{14}\text{C}$ and glucose $6\text{ }^{14}\text{C}$. Nature, 201: 677-679.

CASTRO, S. 1983. Algunos problemas y avances del cultivo de frambuesas. Investigación y Progreso Agropecuario. La Platina 20: 25-27.

CHRISTENSEN, M.; ERIKSEN, E. and ANDERSEN, A. 1980. Interaction of stock plant irradiance and auxin in the propagation of apple rootstocks by cuttings. Sci. Hort. 12:11-17.

COCHRAN, W. y COX, G. 1980. Diseños experimentales. México, Trillas. 661p.

COUVILLON, G. A. and EREZ, A. 1980. Rooting, survival, and development of several peach cultivars propagated from semihardwood cuttings. Hortscience 15(1): 41-43.

CROZON, J. and NEYROUD, J. 1990. Etude des caractéristiques physiques de quelques substrats en horticulturas. Review Suisse Viticulture, Arboriculture, Horticultura 22 (6): 416-441.

DELARGY, J. and WRIGHT, C. 1978. Root formation in cuttings of apple in relation to auxin application and to etiolation. New Phytologist 82: 341-347.

DOMANSKY, R. T.; KOZLOWSKI, T. and SASAKI, T. 1969. Interactions of applied growth regulators and temperatura on root initiation in Salix cuttings. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 94: 39-41.

- DOUD, L. and CARLSON, F. 1977. Effects of etiolation stems anatomy and starches reserves on root initiation of layered Malus clones. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 102 (4): 487-491.
- DUARTE, O.; BALVIN, A. y FRANCIOSI, R. 1975. Efecto de diversos tratamientos con ácido giberélico sobre el crecimiento de plántulas de palto (*Persea americana Mill.*) en vivero. American Society for Horticultural Science 19: 45-55.
- ERNEST, A. and HOLTZHAUSEN, L. 1978. New promising technique for rooting avocado cuttings, Citrus and subtropical fruit. Jour. South África 532: 6-7, 10.
- FELDMAN, L. 1984. Regulation of root development. Ann. Rev. Plant Physiol. 35: 223-242.
- FELLENBERG, G. 1969. Veränderungen des nucleoproteids von erbsenepi kotylen durch synthetische auxine bei induktion der wurzelneubildung. Planta 84: 195-198.
- FROLICH, E. F. 1951. Rooting Guatamalan avocado cuttings. California Avocado Society Yearbook 36: 136-138.
- _____. 1961. Etiolation and the rooting of cuttings. Proc. Ann. Mtg. Int. Plant Prop. Soc. 11: 277-283.
- _____. and PLATT, R. G. 1971. Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. California Avocado Society Yearbook 55: 97-109.
- GALSTON, A. and HAND, M. 1949. Studies on the physiology of light action. I. Auxin and the light inhibition of growth. Amer. J. Bot. 36: 85-94.

_____. and DAVIES, P. 1969. Hormonal regulation in higher plants. Science 163: 1288-1297.

GANDULFO, L. 1983. Efecto del anillado y la aplicación de ácido indol butírico en el enraizamiento de brotes etiolados de palto (Persea americana Mill.) cv. Mexícola. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 68p.

GARDIAZABAL, F. y ROSENBERG, G. 1991. Cultivo del palto. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Agronomía. 201 P.

GARDNER, E. F. 1937. Etiolation as a method of rooting apple variety stem cuttings. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 34: 323-328.

GOH, K. and HAYNES, R. 1977. Evaluation of potting media for comercial nursery production of container plants (IV). New Zealand Journal of Agricultura! Research 21: 449-456.

GORTNER, C. J. 1962. Further experiments on auxin synergist. Physiol. Plant. 15: 88-95.

GUSTAFSON, C. D. and KADMAN, A. 1970. Effect of some plant hormones of the rooting capacity of avocado cuttings. California Avocado Society Yearbook 53:97-100.

HAMDY, Z.; KHALIFA, A.; EL-MASRY, H. y AZZOUZ, S. 1980. Vegetative propagation in avocado "Fuerte variety" by means of air layering. Agricultural Research Review 58: 3, 25-34.

HARTMANN, H. T. y LORETI, F. 1965. Seasonal variation in the rooting of olive cuttings. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 87: 194-198.

_____ . 1974. New frontiers in plant propagation. Plant Prop. Soc. 24: 178-185.

_____ . y KESTER, D. E. 1981. Propagación de plantas: principios y prácticas. México, CECOSA. 814p.

HERMANN, D. E. and HESS, C. E. 1963. The effect of etiolation upon the rooting of cutting. Proc. Int. Plant Prop. Soc, 13: 42-46.

HIGDON, R. J. and WESTWOOD, M. N. 1963. Some factors affecting the rooting of hardwood pear cuttings. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 83: 193-198.

KADMAN, A. and BEN-YAACOV, A. 1965. A review of experiments on some factors influencing the rooting avocado cutting. California Avocado Society Yearbook 49: 67-72.

KATO, T. e ITO, H. 1962. Physiological factors associated with the shoot growth of apple trees. Tohoku. Jour. Agric. Res. 13: 1-21.

KAWASE, M. 1965. Etiolation and rooting in cutting. Physiology Plantarum 18: 1066-1076.

KHAN, A. 1971. Cytokinins: permissive role in seed germination. Science 171: 853-859.

KÖGL, F. and ELEMA, J. 1960. Wirkungsbeziehungen zwischen Indole-3-essigsäure und gibberellinsäure. Naturwiss. 47: 90.

LEOPOLD, A. 1955. Auxins and plant growth. Berkeley, University of California 45p.

- LOONEY, N. E. 1983. Growth regulator usage in apple and pear production. In: Nickell, L. G. ed. Plant growth regulating Chemicals. Boca Raton, Fla., CRC pp. 3-27.
- MACLEOD, A. and MILLAR, A. 1962. Effects of gibberellic acid on barley endosperm. Jour. Inst. Brewing 68: 322-332.
- MARCUS, A. 1971. Enzyme induction in plants. Ann. Rev. Plant Physiol. 22: 313-336.
- MARGARA, J. 1988. Multiplicación vegetativa y cultivo in vitro. Madrid, Mundi-Prensa. 232 p.
- MAYER, A. M. and SHAIN, Y. 1974. Control of seed germination. Ann. Rev. Plant Physiol. 25: 167-193.
- MOHAMMED, S. and SORHAINDO, C. 1984. Production and rooting of etiolated cuttings of West Indian and hybrid avocado. Tropical Agriculture 61:3,200-204.
- MORANDE, P. 1990. Efecto del ácido indolbutírico y ácido naftalenacético y dos sustratos sobre capacidad rizogénica de estacas. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 82p.
- NEAL, D.C. and WAGNER, D.F. 1983. Physical and Chemical properties of coal cinders as container media component. Hortscience 18 (5): 639-695.
- ODNEAL, M. and KAPS, M. 1990. Fresh and aged pine bark as soil amendments , for establishment of highbush blueberry. Hortscience 25 (10): 1228-1229.

- OSBORNE, D. J. 1965. Interactions of hormonal substances in the growth and development of plañís. Jour. Sci. Food Agr. 16: 1-13.
- PALEO, L. G., 1965. Physiological effects of gibberellins. Ann. Rev. Plant Physiol. 16: 291-322.
- PLIEGO-ALFARO, F.; BARCELO-MUÑOZ, A.; HERRERO, A.; LOPEZ-ENCINA, C. 1990. Micropropagación de especies subtropicales. Hortofruticultura 8: 47-50.
- ROJAS-GARCIDUEÑAS, M. y RAMÍREZ, H. 1987. Control Hormonal del desarrollo de las plantas. México, Limusa. 235p.
- SALAZAR-GARCIA, S. y BORYS, M. W. 1983. Clonal propagation of the avocado through "franqueamiento". Calif. Avoc. Soc. Yrbk. 67: 69-72.
- SALISBURY, F. B. y ROSS, C. W. 1994. Fisiología Vegetal. 4- ed. México, Iberoamérica. 759p.
- SHEPLEY, C. and CHANO, J. 1972. Does gibberellic acid simulate seed germination via amylase synthesis. Plant Physiol. 49:441-443.
- SHOOG, F. and TSUI, C. 1948. Chemical control of growth and bud formation in tobacco stem and callus. Amer. Jour. Bot. 35: 782-787.
- STOLZ, L. and HESS, C. 1966. The effect of girdling upon root initiation: auxin and rooting cofactors. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 89: 744-751.
- TAPIA, J. 1977. Efectos del medio de propagación en el enraizamiento de claveles (*Dianthus carophyllus*) cv. "Sir Arthur Sim" e influencia del desarrollo radicular al momento del trasplante sobre el

crecimiento de la planta. Tesis Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 66p.

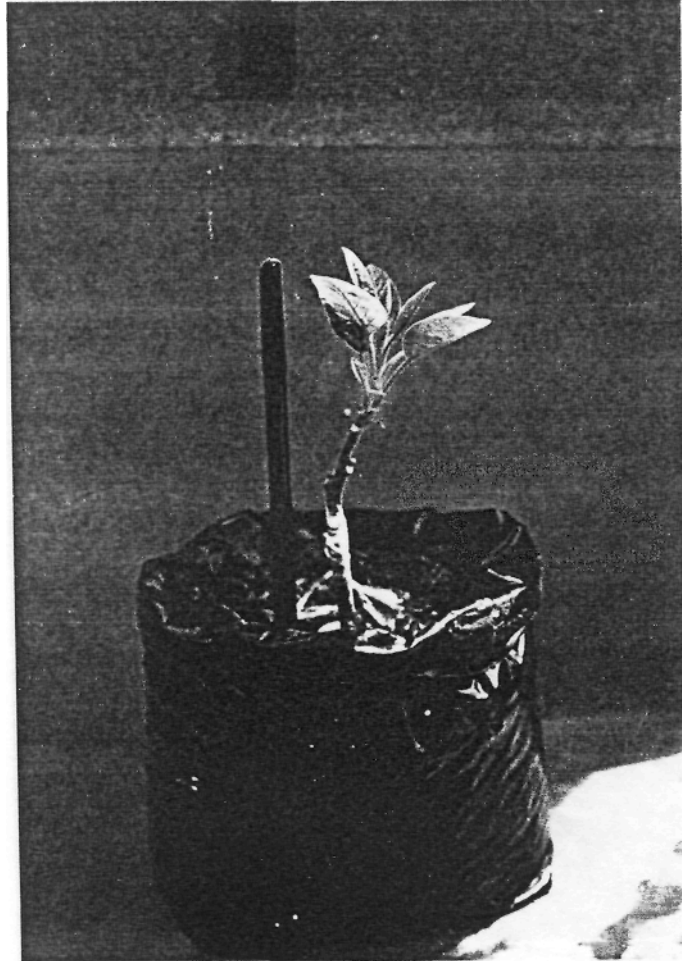
- TAYLORSON, R. and HENDRICKS, S. 1977. Dormancy in seeds. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 28: 331-354.
- TROCHOULIAS, T.; GRIFFITH, G. and SMITH, N. G. 1983. Toward a workable softwood cutting technique for propagating avocados. *Proc. Inter. Plant Prop. Soc.* 33: 160-163.
- VAN OVERBEEK, J. 1966. Plant hormones and regulators. *Science* 152: 721-725.
- VARNER, J. and CHANDRA, G. 1964. Hormonal control of enzyme synthesis in barley endosperm. *Proc. Natl. Acad. Sci. US.* 52: 100-106.
- VILLIERS, T. A. 1972. Seed dormancy. In: T.T. Kozlowski. ed. *Seed Biology*. New York, Academic pp. 219-281 (Vol II).
- WAREING, P. and SAUNDERS, P. 1971. Hormones and dormancy. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 22: 261-288.
- WEAVER, R. J. 1972. *Plant growth substances in agriculture*. San Francisco, Freeman 158p.
1980. *Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura*. México, Trillas. 622p.
- WHITSELL, R.; MARTIN, G.; BERGH, B.; LYPPS, A.; BROKAW, W. 1989. *Propagating avocados: Principles and techniques of nursery and field grafting*. University of California, División of Agriculture and Natural Resources. Publ. 21461. 30 p.

- WIESMAN, Z.; RIOV, J. and EPSTEIN, E. 1989. Characterization and rooting ability of indole-3-butyric acid conjugates formed during rooting of mung bean cuttings. *Plant Physiology* 91: 1080-1084.
- WIGHTMAN, F.; SCHNEIDER, E. and THIMANN, K. 1980. Hormonal factors controlling the initiation and development of lateral roots II. Effects of exogenous growth factors on lateral root formation in pea roots. *Physiologia Plantarum* 49: 304-314.
- WILLIAMS, M. and NORTON, R. 1972. Propagation of red raspberry from softwood cuttings. *Jour. Amer. Soc. Hort. Sci.* 74: 401-406.
- WITTWER, S. and BOKOVAC, M. 1958. Gibberellin and higher plants VIII : seed treatments for beans, peas, and sweet corn. *Quar. Bull. Mich. Agr. Exptl. Sta.* 40: 215-224.
- YOUNG, L. B. 1961. Vegetative propagation in avocado by means of marcottage and the rooting of cuttings. *California Avocado Society Yearbook.* 45: 63-66.

ANEXOS

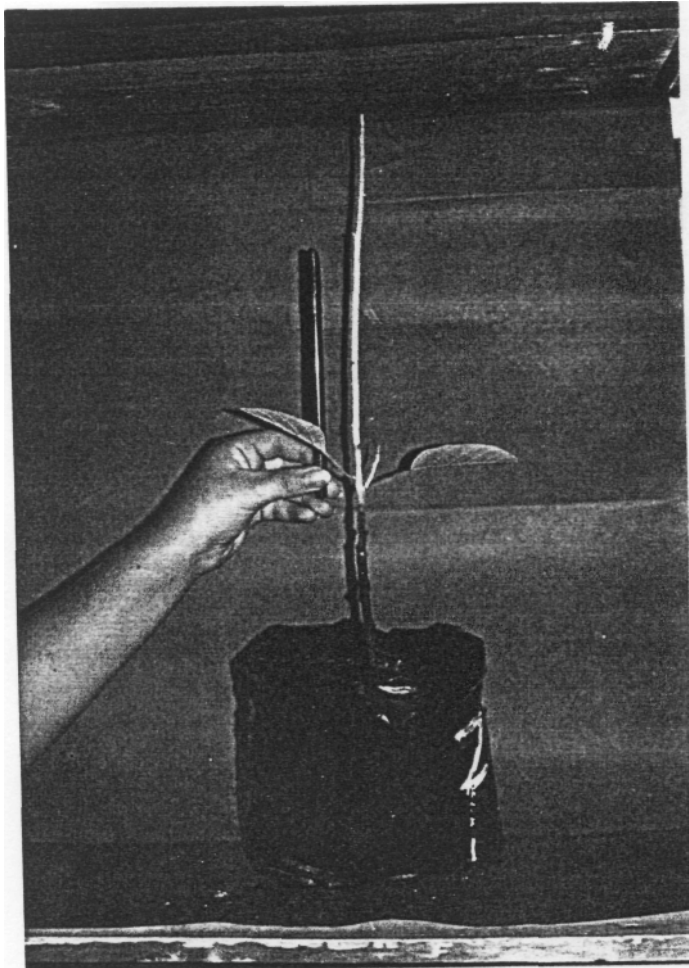
Anexo 1

Planta injertada previo a su ingreso a cámara de etiolación.



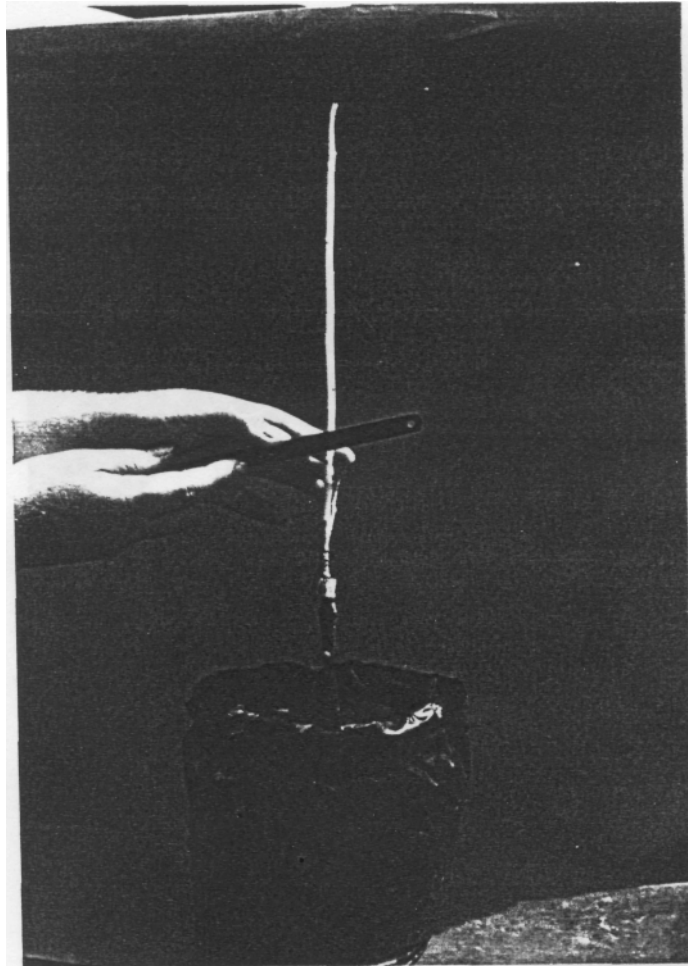
Anexo 2

Crecimiento del brote etiolado en la cámara oscura.



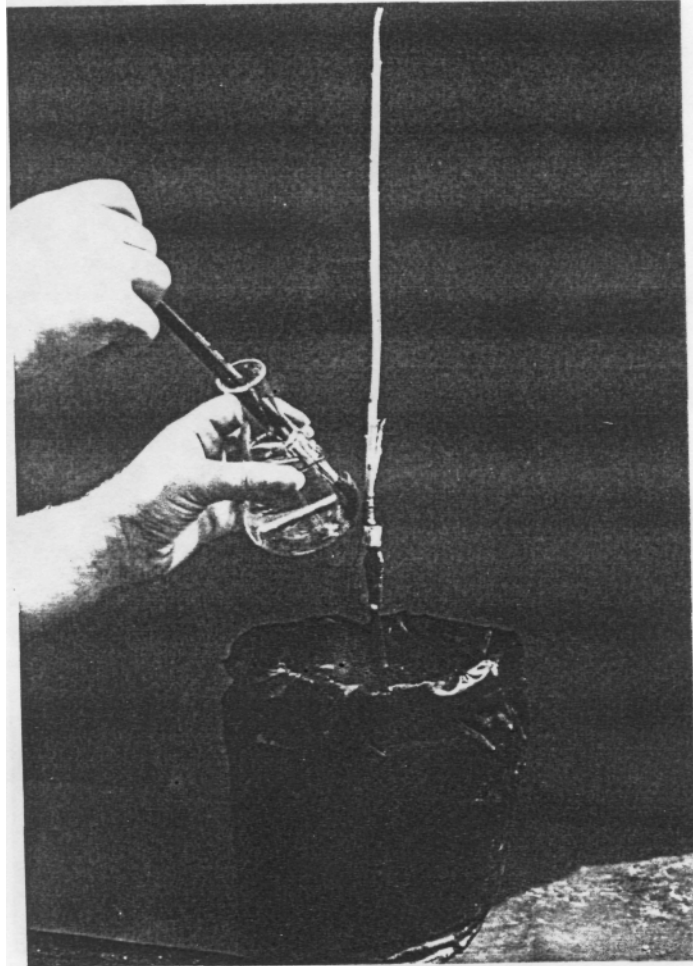
Anexo 3

Tratamiento de lesionado efectuado sobre brote etiolado.



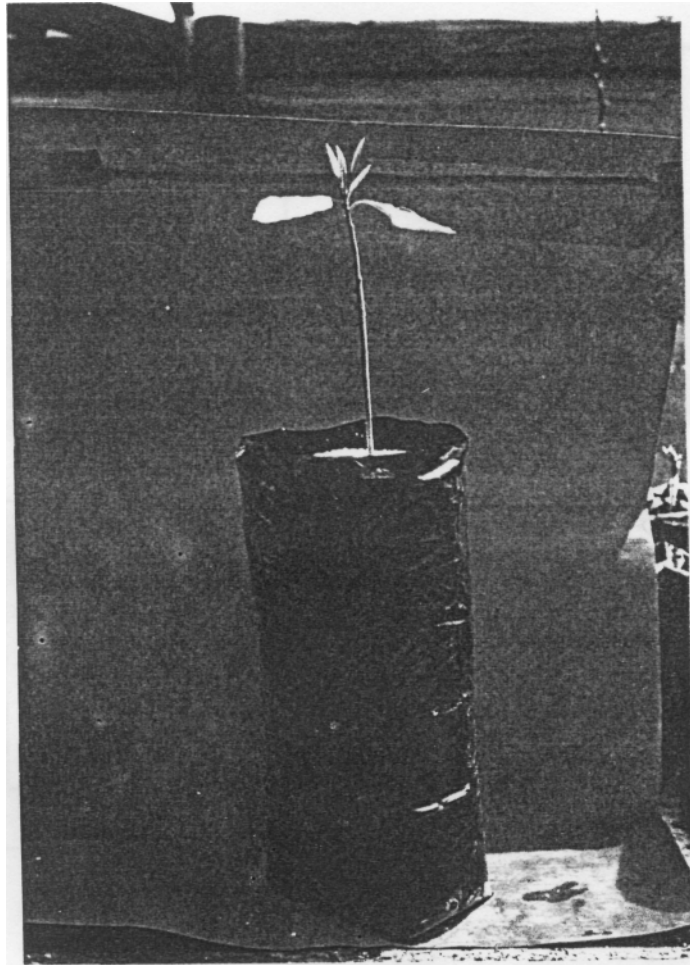
Anexo 4

Aplicación de auxinas y anillo sobre el brote etiolado.



Anexo 5 Planta tratada es

llevada nuevamente a invernadero.



Anexo 6

Disposición espacial de los tratamientos del ensayo.

