

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE VALPARAÍSO

FACULTAD DE AGRONOMÍA

ÁREA DE FRUTICULTURA



TALLER DE LICENCIATURA

**IMPLEMENTACIÓN DE LAS TÉCNICAS DE ETIOLACIÓN Y ACODO Y
MICROCLONACIÓN EN PALTOS (*Persea americana* Mill.).**

ALVARO CRISTIÁN RODRÍGUEZ NAVAS

QUILLOTA CHILE

2003

INDICE DE MATERIA

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Propagación.....	5
2.2. Etiolación y su efecto en la rizogénesis.....	10
2.3. Reguladores del crecimiento.....	14
2.3.1. Giberelinas y su efecto en el crecimiento vegetativo.....	15
2.3.2. Auxinas y su efecto en la rizogénesis.....	17
2.3.3. Citocininas y su efecto en la brotación.....	21
2.4. Efecto de la temperatura en el crecimiento vegetativo.....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
3.1. Ubicación del ensayo.....	25
3.2. Obtención de las semillas.....	25
3.3. Acondicionamiento de las semillas.....	26
3.4. Siembra de semillas.....	27
3.4.1. Germinación de las semillas.....	27
3.4.2. Transplante a contenedores.....	28
3.4.2.1. Contenedores para propagación por etiolación y acodo (Ensayo 1).....	28
3.4.2.2. Contenedores para propagación por etiolación y microcontenedores (Ensayo 2).....	29
3.5. Crecimiento de plantas e injertación.....	29
3.6. Desarrollo del injerto.....	32
3.7. Propagación por etiolación y acodo (Ensayo 1).....	32
3.7.1. Aplicación de GA ₃ y etiolación.....	32
3.7.2. Tratamientos y parámetros evaluados.....	34
3.7.3. Diseño experimental.....	34
3.8. Propagación por etiolación y microcontenedores.....	35
3.8.1. Aplicación de bencilaminopurina y etiolación.....	35
3.8.2. Descripción de los ensayos y tratamientos.....	37
3.8.2.1. Descripción de ensayo 2A.....	37
3.8.2.2. Descripción de ensayo 2B.....	38
3.8.2.3. Descripción de ensayo 2C.....	38
3.8.3. Diseño experimental.....	39
3.9. Aplicación de AIB, levantamiento de bolsas para el acodado y utilización de microcontenedores para acodo aéreo.....	40

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	41
4.1. Ensayo 1: Efecto de la aplicación de ácido giberélico y calefacción sobre el crecimiento en longitud del brote injertado durante la etiolación.....	46
4.2. Ensayo 2: Efecto de la aplicación de BAP sobre el porcentaje de crecimiento de brotes laterales en paltos.....	48
4.2.1. Ensayo 2A: Efecto de la aplicación de BAP a los brotes laterales con eliminación del brote central.....	48
4.2.2. Ensayo 2B: Efecto de la aplicación de BAP en la longitud de dos brotes laterales de paltos sin brotación de yema apical....	51
4.2.3. Ensayo 2C: Efecto de la aplicación de BAP en el incremento en el porcentaje de crecimiento de brotes laterales de paltos en situación de dominancia apical	52
4.3. Observaciones a la implementación de la técnica.....	56
5. CONCLUSIONES.....	58
6. RESUMEN.....	60
7 LITERATURA CITADA.....	61
8. ANEXOS	

1. INTRODUCCIÓN

El palto, constituye una de las especies frutales de mayor importancia en Chile, no sólo por la amplia superficie plantada sino también por el alto valor de las tierras que ocupa (RAZETO, 1999).

En Chile, durante los últimos años, la superficie cultivada de paltos ha aumentado en más de un 150%, teniendo en cuenta que en 1990 era de 7.665 ha y que en la actualidad ha llegado a las 20.000 ha (ODEPA, 2001).

Este aumento en la superficie cultivada ha incrementado las exportaciones a EE.UU., principal mercado, que según antecedentes de ASOEX (2002)*, ha sido de un 10,39% respecto de la temporada 1998-1999, alcanzando las 49.637,18 ton en la temporada 2000-2001, principalmente con la variedad Hass.

Por otra parte, las exportaciones de paltas a Europa también han tenido un crecimiento significativo, ya que de 3,28 ton exportadas en la temporada 1998-1999, en la temporada 2000-2001 éstas alcanzaron 393,09 ton, es decir, un aumento del 99,16% (ASOEX, 2002)*.

Dada la importancia que esta especie está logrando, es necesario optimizar los procesos tendientes a obtener una mayor productividad, facilidad de manejos y mejor calidad de fruta.

* ASOEX, 2002. Comunicación Personal.

Dentro del proceso productivo de cualquier vegetal, la propagación es uno de los pasos que reviste gran importancia ya que es determinante en el número final de plantas, sanidad vegetal, productividad y el comportamiento que tendrá el árbol adulto en el huerto.

Tradicionalmente, en Chile la propagación del palto se realiza injertando una variedad comercial sobre un patrón franco, es decir, de semilla. Este tipo de propagación, aunque está ampliamente difundido tanto en los huertos como en los viveros nacionales, implica obtener una gran heterogeneidad de individuos con características particulares.

La reproducción del palto por semilla no es interesante para plantaciones comerciales, ya que la semilla del palto no tiene la capacidad de producir embriones apogámicos y, por tanto, todas las plantas que se obtienen provienen de reproducción sexual y poseen por ello su propio código genético (CALABRESE, 1992).

Por estas razones se hace necesario estudiar, utilizar e implementar nuevas técnicas que permitan disminuir dichas diferencias en los portainjertos a propagar.

Respecto del cultivo *in vitro*, CALABRESE (1992) afirma que dicha propagación ha revolucionado las técnicas clásicas de vivero, permitiendo un fuerte ahorro económico en la obtención de plántulas.

Pero según HOFSHI (1997), hasta esta fecha la mayoría de los intentos para cultivar tejidos de palto no han sido exitosos, aunque un acercamiento prometedor para la micropropagación, que está siendo desarrollado actualmente por los Doctores Litz y Mohamed-Yasseen, en Florida, es la

formación de embriones somáticos desde extractos de nucela. Además, técnicas de hibridación somática también están siendo estudiadas por los mismos investigadores. Estos métodos, aún no han sido implementados comercialmente.

FROLICH y PLATT (1971), desarrollaron una técnica de propagación clonal de paltos por etiolación y acodo, modificada por BROKAW (1987) y ERNST (1999), que es la técnica de propagación clonal de portainjertos más utilizada, actualmente, a escala internacional (HOFSHI, 1997).

Observando los antecedentes anteriormente mencionados y basándose en dichos estudios, se plantea esta investigación para evaluar algunas modificaciones y adaptar a la realidad chilena las técnicas de propagación clonal por etiolación y acodo y microcontenedores, sustentada en los siguientes objetivos:

- Adaptar la metodología de la técnica de propagación clonal múltiple en microcontenedores.
- Evaluar distintas dosis de bencilaminopurina (BAP) en el desarrollo de brotes laterales en el injerto clonal y determinar la efectividad de este producto bajo una situación de dominancia apical.
- Evaluar el efecto del control de la temperatura (utilizando calefacción), sobre la velocidad de crecimiento de los brotes en túneles de etiolación.
- Evaluar el efecto de la aplicación de dos dosis de giberelinas en el desarrollo de los brotes durante la etiolación.

- Determinar la duración de cada una de las etapas del proceso, de las distintas técnicas, bajo condiciones locales.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Propagación:

Por muchos años, la propagación por semilla fue el principal método para producir nuevas plantas de muchas ornamentales leñosas. Era la forma más barata de propagación para producir un gran número de nuevas plantas, desde un mínimo material almacenado. La propagación por semilla aún es usada frecuentemente para multiplicar muchas plantas que no pueden ser propagadas asexualmente. La mayor desventaja de la reproducción por semilla o propagación sexual, es el fracaso en producir plantas de la misma variedad y el largo tiempo requerido para obtener una planta para la venta (HAMILTON y MIDCAP, 2002).

Los árboles que son el resultado de la siembra de semillas provenientes de una fruta, podrían producir frutos que no son en absoluto comestibles, o estos árboles podrían no fructificar por muchos años. La mejor manera para producir fruta de buena calidad, es hacer crecer las semillas de ésta y luego adosar o adjuntar, por medio de injerto, material de árboles que son conocidos por ser buenos productores (ELAM, 2002).

BARRIENTOS-PRIEGO *et al.* (2000) indican que en la actualidad los árboles de paltos se forman por lo general de dos partes: la copa y la raíz, donde tanto el tronco como la copa tienen origen del cultivar injertado, mientras que la raíz es parte del portainjerto.

CALABRESE (1992) señala que en la propagación del palto se adopta el método del viverismo clásico, que consiste en hacer germinar las semillas e injertar la planta obtenida trasladándola al terreno de asiento, o mejor, en una fase intermedia, a recipientes o contenedores.

Respecto de las características del palto, BEN-YA'ACOV y MICHELSON (1995) señalan que esta especie es originaria del trópico, siendo ésta muy sensible a factores climáticos predominantes en el subtrópico, especialmente a sequías y temperaturas extremas. Las temperaturas extremas resultan en una baja productividad y a veces, incluso, en severo daño al dosel del árbol.

CALABRESE (1992), también indica que en el palto el elevado grado de heterocigosis hace que los individuos que se obtienen de la germinación de semillas provenientes de una determinada planta, suelen ser muy diferentes de ésta. Tales diferencias en hábito vegetativo y comportamiento, constituyen también un problema para los patrones, los cuales al propagarse por semilla las transmiten luego al cultivar injertado sobre ellos.

En algunos países, los patrones para las plantaciones de palto aún se propagan por semilla, esta es la razón por la cual se observa bastante heterogeneidad en los pies de las plantas, no prestándose suficiente atención, en muchos casos, a usar material con un origen genético específico (CALABRESE, 1992).

Es así, como la heterogeneidad de los portainjertos de semilla y la necesidad de superar problemas de suelo, dieron ímpetu a la búsqueda de un método de propagación clonal que pudiese asegurar una cierta uniformidad de plantas (BEN-YA'ACOV y MICHELSON, 1995).

PHILLIPS (1985), ya hacía mención a que resultados más uniformes y comparables podrían ser obtenidos usando portainjertos propagados clonalmente, existiendo cuatro métodos importantes de propagación asexual en paltos: Injertación, “marcottage” o acodo aéreo, cultivo de tejidos y la técnica de etiolación.

Con relación a la técnica de injertación, BEN-YA´ACOV y MICHELSON (1995) señalan que hasta finales de los años 50, en los viveros de California, los portainjertos se hacían crecer al aire libre y se injertaban después de un año. Con posterioridad, las semillas fueron sembradas bajo condiciones protegidas y las plantas fueron injertadas muy temprano, cuando los portainjertos eran juveniles. Este método, con algunas variaciones, es el método principal utilizado actualmente por los viveros de paltos de portainjertos de semilla, debido a que es fácil de utilizar, es relativamente barato y porque el traslado de los árboles al huerto es conveniente.

BEN-YA´ACOV y MICHELSON (1995) señalan que el grosor del brote tomó relevancia cuando el método de propagación fue cambiado de injerto en el campo a injerto de púa apical bajo condiciones protegidas.

CALABRESE (1992) agrega que el injerto de púa, para que tenga éxito, debe llevarse a cabo en ambiente protegido (simple abrigo de plástico), donde las temperaturas deben estar comprendidas entre 15 y 30°C y la humedad en torno al 70-80%. Las plantas deben mantenerse en este ambiente hasta comprobar claramente que el injerto ha prendido y se va desarrollando (4-8 semanas), siendo posteriormente trasladadas al exterior y sombreadas mediante redes o mallas al 50%.

Con relación a la técnica de acodado, WEAVER (1980) señala que esta técnica se utiliza con frecuencia al propagar especies que no producen raíces o las producen con gran dificultad, siendo éste el caso del palto (BEN-YA'ACOV y MICHELSON, 1995).

Por su parte, SCHROEDER (1979) opina que la propagación *in vitro* ha dado muy buenos resultados aún cuando no está totalmente desarrollada. En general, las investigaciones realizadas al respecto han demostrado que trozos de tejidos de paltos pueden permanecer por largos períodos de tiempo formando masas de callo para, posteriormente, ser inducidas con éxito a formar raíces.

FROLICH y PLATT (1971) propusieron una técnica de propagación clonal. Esta técnica consiste en hacer crecer una planta nodriza de semilla, la que al alcanzar un diámetro adecuado es injertada con una púa de la variedad a ser enraizada. Luego, se permite crecer el injerto hasta que está bien establecido, los brotes de la púa son posteriormente cortados cerca de la base y cuando los brotes muestran nuevamente signos de crecimiento, toda la planta es llevada a un cuarto oscuro. Una vez que los brotes etiolados han alcanzado una cierta altura, son sacados a la luz, se cubre la zona basal con sustrato de enraizamiento para seguir excluyendo la luz y cuando éstos han enraizado y han alcanzado una cierta altura, se injertan con la variedad comercial deseada.

Posteriormente, BROKAW (1987) modifica la técnica propuesta por FROLICH y PLATT (1971). En este caso, consiste en injertar material clonal sobre un patrón nodriza, el que luego de un determinado tiempo es llevado a un cuarto oscuro para producir la etiolación de los brotes del injerto. Luego se coloca un anillo entre el patrón nodriza y el injerto y se cubre con medio

enraizante la sección del injerto y el brote etiolado. Una vez que el brote etiolado emerge del medio enraizante, la planta es llevada nuevamente a la luz para permitir el crecimiento del brote y cuando éste ha alcanzado un diámetro adecuado, se injerta la variedad comercial deseada. Por aproximadamente un año más, la planta sigue creciendo en condiciones de invernadero, el anillo permite la formación de raíces en la zona etiolada y luego la planta enraizada es separada de la planta nodriza.

ERNST (1999) ha realizado una de las últimas modificaciones a la llamada técnica de Frolich. Esta técnica de clonación múltiple consiste en injertar material clonal sobre una planta nodriza de semilla y cuando los brotes empiezan a eclosionar, la planta es llevada a una cámara de etiolación. Cuando los brotes han alcanzado la altura y diámetro necesarios, son llevados a la luz, se les realiza una incisión en la base de los brotes y se les aplica un enraizante (AIB, en este caso). En esta técnica se utilizan microcontenedores, los que son ubicados en la zona de la incisión y son llenados con sustrato de enraizamiento. Las plantas son llevadas a sombreadero y se les permite crecer y enraizar. Una vez que las raíces se han formado, los microclones son separados de la planta madre.

Las ventajas de esta técnica, sobre las propuestas anteriormente, son que se puede obtener un mayor número de plantas clonales por semilla, son de tamaño pequeño con un mejor aprovechamiento del espacio, ahorro de plantas nodrizas, presenta un alto estándar fitosanitario y una facilidad de transporte y distribución (ERNST, 1999).

Con relación a la propagación clonal de portainjertos, ERNST (1999) señala que el principal propósito de clonar portainjertos de paltos, es asegurar la

uniformidad genética respecto de la tolerancia a *Phytophthora cinnamomi* (pudrición de la raíz), y lograr ciertas características hortícolas beneficiosas.

Por su parte, GOH y MONTEUUIS (2002) señalan que otra opción de la propagación clonal en masa, es seleccionar genotipos superiores basados en sus características visibles (fenotipo).

Con la técnica de la microclonación, es posible producir un alto número de plantas de palto totalmente desarrolladas (clones). El proceso de propagación toma aproximadamente de ocho a 10 meses desde semilla hasta la separación en estado de microclon y 10 a 18 meses desde semilla hasta lograr un estado de tamaño de árbol trasplantable a campo (ERNST, 1999).

2.2. Etiolación y su efecto en la rizogénesis:

La etiolación, simplemente se refiere al crecimiento de las plantas en la ausencia de luz. Sin embargo, como el término se ha estado usando entre los propagadores, también se refiere al crecimiento de las plantas en sombra intensa (BASUK y MAYNARD, 1987). Indistintamente, este término también se utiliza cuando la etiolación es usada en plantas madres, en forma localizada, como pre-tratamiento en la multiplicación por estacas, en la cual brotes en activo crecimiento se desarrollan en ausencia de luz, generando internudos largos con tejido succulento y deficientes en clorofila (HARTMANN, KESTER y DAVIES, 1990).

Según BASUK y MAYNARD (1987), la etiolación aumenta considerablemente la sensibilidad del tallo a la auxina. Factores traslocados que han sido producidos lejos de un segmento etiolado, también aumentan el efecto de la etiolación. La etiolación induce cambios anatómicos en los tejidos del tallo que podrían incrementar la iniciación de primordios radicales, principalmente por las células parenquimáticas indiferenciadas y la falta de barreras mecánicas. La etiolación también ha sido asociada con cambios en las sustancias fenólicas, las que podrían actuar como cofactores auxínicos o inhibidores de la AIA oxidasa, pero de todos los trabajos realizados en etiolación éste es el menos sólido.

Según lo observado por HANSEN (1987), la formación de raíces en estaquillas está influenciada por las condiciones de luz durante el crecimiento de las plantas. La exclusión de luz a la totalidad del brote, antes de la propagación, estimula la formación de raíces en algunas plantas leñosas.

Así lo demuestra el ensayo realizado por KARHU (1992), quien estudiando el efecto de la etiolación y sombreamiento en el enraizamiento potencial de ornamentales leñosas, reportó que tanto el número como el porcentaje de raíces fueron mayores en las estaquillas etioladas.

Respecto del enraizamiento en paltos, BORYS (1991) señala que si se enraizaran estacas de palto, éstas deberían ser de la raza mejicana, ya que de acuerdo con la opinión general, es la que enraíza más fácilmente comparándola con las otras razas.

La inhibición por luz parece tener una directa relación con la cantidad total de ésta, es decir, los tiempos de intensidad de luz y el tiempo total expuesto (FROLICH y PLATT, 1972).

Sin embargo, BASUK y MAYNARD (1987) señalan que existe una práctica relacionada con la etiolación llamada blanqueamiento, la que se refiere a plantas hechas crecer en luz y que subsecuentemente son puestas en sombra.

El “sombreamiento”, que se refiere simplemente a cualquier planta hecha crecer bajo condiciones reducidas de luz, también ha estado siendo usada como un exitoso pre-tratamiento de propagación en un cierto número de géneros (BASUK y MAYNARD, 1987).

Por otra parte, ECONOMOU y READ (1987) señalan que en propagación *in vitro*, existe un número de casos donde la oscuridad promueve la habilidad de enraizamiento en los tejidos, mientras que en otros casos la luz aumenta la formación de raíces. Estos autores mencionan que la luz monocromática también puede ser aplicada a los cultivos madre durante la proliferación de brotes y tener un efecto posterior en la formación de raíces en la siguiente etapa de la micropropagación o directamente durante el proceso de enraizamiento. En ambos casos, la calidad de luz ha sido reportada por influenciar la formación de raíces.

En relación con el acodo, HARTMANN y KESTER (1987) mencionan que junto con la etiolación, el acodo aéreo induce la formación de raíces adventicias en tallos adheridos a la planta mediante una interrupción en la traslocación basipétala, acumulando materiales orgánicos, auxinas y otros factores de crecimiento en el punto de formación de raíces adventicias.

Como señalan SALAZAR-GARCÍA y BORYS (1989), este método de franqueamiento o acodo aéreo fomenta la rizogénesis porque se anilla una rama o un tallo de una planta, se le agrega auxina y medio de enraizamiento

humedecido. En cambio, en un estudio realizado por BARRIENTOS-PRIEGO, BORYS y BARRIENTOS-PEREZ (1986) trabajando con dos variedades de paltos demostraron que la combinación de etiolación y auxinas no aumentó el porcentaje de estacas enraizadas, número de raíces ni su longitud.

Por el contrario, BASSUK y MAYNARD (1987) señalan que la etiolación incrementa de modo significativo la sensibilidad del tallo frente a las auxinas e induce cambios anatómicos en este tejido, lo que favorecería la iniciación de primordios radicales, principalmente debido a la indiferenciación de las células parenquimáticas y la ausencia de barreras mecánicas.

En cambio, los autores PORLINGIS, PETRIDOU y VOYIATZIS (1999) señalan que al parecer, tanto el anillado como la constricción del tallo, son necesarios para el enraizamiento.

Por otra parte, KOUKORIKOU-PETRIDOU, VOYIATZIS y PORLINGIS (1999) trabajando con dos variedades de olivos, Chalkidikis y Kalamon, señalan que la etiolación con cintas de plástico negro no afectó el enraizamiento, mientras que cubriendo con arena, se obtuvo un incremento en el número de raíces en ambos cultivares y del peso fresco en Kalamon. Es importante mencionar que todos los acodos etiolados enraizaron antes y produjeron raíces más largas que los no etiolados

En relación con los contenedores utilizados para el acodo, ODDIRAJU *et al.* (1994) señalan que la restricción de las raíces afecta el crecimiento y desarrollo de muchas especies de plantas, pero la importancia del contenedor ha sido ignorada en muchas investigaciones.

FROLICH y PLATT (1972) señalan que en el pasado se usaron grandes contenedores, pero las estacas no enraizaron tan bien como aquéllas que estaban en pequeños contenedores. Además, agregan que los brotes de plantas nodrizas desarrolladas en contenedores de tamaño pequeño, tendieron a ser menos vigorosos y produjeron raíces más rápido que los brotes con fuerte crecimiento de plantas nodrizas desarrolladas en contenedores grandes.

GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991) señalan que los principales factores que hay que considerar al momento de elegir el contenedor son: costo, durabilidad del material, densidad de plantas que se puede lograr por metro cuadrado, facilidad de manejo y permeabilidad del contenedor.

Por otra parte, ODDIRAJU *et al.* (1994) mencionan que en estudios realizados en *Prunus serotiana* var. *virens* se ha observado, que al parecer el tamaño del contenedor ejerce una cierta influencia sobre el desarrollo en longitud de las raíces antes que la masa radicular llegue a limitar y sobrepoblar el contenedor.

2.3. Reguladores del crecimiento:

WEAVER (1980) señala que las hormonas de las plantas (o fitohormonas), son reguladores producidos por las mismas plantas, que en bajas concentraciones, regulan los procesos fisiológicos de aquéllas. Por lo común, las hormonas se desplazan en el interior de las plantas de un lugar de producción a un sitio de acción. En cambio, al referirse a productos

sintéticos que se utilicen para controlar cultivos, éstos deben ser llamados reguladores del crecimiento.

Respecto de los reguladores del crecimiento, PREECE (1987) afirma que la actividad de éstos, generalmente, ocurre porque la sustancia de crecimiento aplicada, sustituta de la hormona, afecta su síntesis, catabolismo, conjugación, transporte o sitios de recepción.

Debe destacarse que la respuesta de una planta o una parte vegetal a cierta sustancia del crecimiento puede variar según la especie y la variedad. Tanto los estudios experimentales como los resultados de investigaciones básicas, han recomendado el empleo de sustancias sintéticas de crecimiento en la agricultura, donde adquieren una importancia similar a la de los pesticidas y fungicidas (WEAVER, 1980).

2.3.1. Giberelinas y su efecto en el crecimiento vegetativo:

GIL (1997) señala que las giberelinas (GA_s) parecen jugar un papel preponderante en el crecimiento por elongación del brote.

TAIZ y ZEIGER (1998) afirman que además de la elongación del tallo, las giberelinas controlan varios aspectos de la germinación de la semilla, incluyendo la pérdida de dormancia y la movilización del endosperma. En el desarrollo reproductivo, las giberelinas pueden afectar la transición de los estados juveniles a estados adultos, así como también la iniciación floral, determinación sexual y cuajado de fruto.

Refiriéndose también a este punto, WEAVER (1980) menciona que las giberelinas pueden provocar la floración en muchas especies que requieren de temperaturas frías, como son la zanahoria, la lechuga escarola, la col y el nabo. También pueden terminar con el reposo de las semillas de muchas especies y, en muchas plantas la dominancia apical se realza mediante el tratamiento con giberelinas.

A esto se le suma lo señalado por SALISBURY y ROSS (1997), indicando que en la mayoría de las dicotiledóneas y en algunas monocotiledóneas, las aplicaciones de giberelina exógena hacen que éstas crezcan más rápido. Así, muchas especies que poseen entrenudos cortos pueden, en ocasiones, crecer hasta los 2 m tras la aplicación de GA_3 .

Por otra parte, WEAVER (1980) señala que las aplicaciones de giberelinas incrementan el tamaño de muchos frutos jóvenes, como las uvas y los higos.

Apoyando el efecto de las giberelinas, RATNA BABU y LAVANIA (1985) reportan que en su ensayo con plantas de limoneros de 5 años, la aplicación de 10 a 40 mg/l de giberelinas (GA_3), aumentó significativamente todos los aspectos del crecimiento, siendo más pronunciados a 20 y 40 mg/litro.

El efecto más sorprendente de asperjar plantas con giberelinas es la estimulación del crecimiento, se estimula el crecimiento en los entrenudos más jóvenes y frecuentemente se incrementa la longitud de los entrenudos individuales. Esta prolongación de los brotes se observa en muchas especies, pero resulta particularmente notable cuando se aplica a ciertos mutantes enanos (WEAVER, 1980).

TAIZ y ZEIGER (1998) confirman el alargamiento de los entrenudos en plantas enanas, pero agregan que va acompañado de disminución en el grosor del tallo, menor crecimiento y coloración verde clara en las hojas.

SALAZAR-GARCÍA y LOVATT (1999), en un estudio realizado con inyecciones de GA_3 en dosis de 25 y 50 mg de GA_3 en árboles de paltos jóvenes, reportaron un desarrollo precoz, tres semanas más temprano, de inflorescencias y antesis respecto de los árboles control. Las inyecciones de GA_3 no afectaron el número de brotes vegetativos producidos. Los resultados de su investigación son los primeros en demostrar que una alta concentración de GA_3 inyectada en el tronco, en invierno en estado de yema hinchada puede, a través del incremento de la abscisión de yemas o su inactividad, reducir el número de inflorescencias sin un efecto en el número de brotes vegetativos, aumentando el número de inflorescencias indeterminadas y un mayor crecimiento vegetativo del brote apical y de sus ejes secundarios.

RATNA BABU y LAVANIA (1985) reportaron que las giberelinas en todas sus concentraciones, incrementaron significativamente la longitud del brote respecto del control, en su ensayo con limoneros

2.3.2. Auxinas y su efecto en la rizogénesis:

El rol del AIA (ácido indolacético) en la dominancia apical ha sido conocido desde hace mucho tiempo, aunque no es muy claro el rol directo de las auxinas en el crecimiento de los brotes de especies frutales leñosas. Todo apunta a un control del crecimiento por un cambio en el equilibrio entre

estimuladores e inhibidores endógenos, en respuesta al ambiente y al propio estado de desarrollo de la planta (GIL, 1997).

TAIZ y ZEIGER (1998) señalan que el AIA es conocido por demorar los estados tempranos de abscisión de las hojas y promover los estados tardíos.

Las auxinas estimulan también la división celular; por ejemplo, frecuentemente fomentan el desarrollo de callos, de los que se desprenden crecimientos similares a raíces. Las auxinas son muy efectivas en iniciar la formación de raíces de varias especies vegetales. Las auxinas pueden iniciar la floración (por ejemplo en la piña), e inducir el amarre de fruto y su desarrollo en algunas especies (WEAVER, 1980).

TAIZ y ZEIGER (1998), indican que las raíces se forman porque el AIA se tiende a acumular inmediatamente sobre cualquier herida, en brotes o raíces, como resultado del transporte polar de auxinas.

Secundando lo señalado anteriormente, WEAVER (1980) señala que la iniciación de raíces en tallos acodados, puede facilitarse ya sea mediante el cingulado o el anillado estrecho del tallo con alambre. Con cualquiera de éstas técnicas, se interrumpe el floema y se detiene el desplazamiento descendente de las hormonas y los asimilados de carbohidratos, de modo que se acumulan por encima del anillo estimulando el enraizamiento. A menudo se ha señalado que la aplicación de auxinas exógenas estimula aún mejor el enraizamiento.

Se debe aclarar que los tratamientos con estas sustancias pueden, como máximo, aumentar una latente potencialidad rizógena pero no crearla (BALDINI, 1992).

TAIZ y ZEIGER (1998) señalan que ya que el efecto que produce la auxina depende de la identidad del tejido objetivo, la respuesta de este tejido a la auxina está gobernada por su determinado programa genético de desarrollo y, posteriormente, es influenciado por la presencia o ausencia de otras moléculas señaladoras.

Un hecho característico y decisivo de la propagación por estacas y en general de todos los métodos basados en el auto enraizamiento, es el proceso de la rizogénesis o formación de raíces adventicias (BALDINI, 1992).

En horticultura, el efecto estimulador de las auxinas en la formación de raíces adventicias ha sido muy útil para la propagación vegetativa de plantas por estaquillado (TAIZ y ZEIGER, 1998).

Al respecto, BALDINI (1992) señala que en el estudio de diferentes productos rizógenos, el más eficaz ha resultado ser el AIB (ácido indolbutírico).

Parece ser que el enraizamiento y por ende el efecto de las auxinas, está relacionado con la luz. Así lo demuestra el estudio realizado por CHRISTENSEN, ERIKSEN y ANDERSEN (1980), quienes en ensayos de enraizamiento de portainjertos de manzano M26, encontraron que las estaquillas con las mayores irradiaciones (W/m^2) no tuvieron respuesta a los tratamientos de AIB, pero a medida que se fue disminuyendo la irradiación, la respuesta al tratamiento de auxinas se incrementó. A menores irradiaciones

y mayores concentraciones de auxinas, el número de raíces por estaquilla se incrementó en ocho veces comparadas con el control. A menor irradiación, el AIB incrementó el porcentaje de enraizamiento y acortó el tiempo entre el corte y la iniciación radical.

Por otra parte, cuando BARRIENTOS-PRIEGO, BORYS y BARRIENTOS-PEREZ (1986) trabajaron con estacas de dos variedades de paltos relacionando auxinas (AIB a 10.000 ppm y 300 ppm de ANA) con etiolación, reportaron que el tratamiento con etiolación + auxinas, no difirió del tratamiento solo con etiolación. Pero una interacción significativa alta fue encontrada entre etiolación, anillado y auxinas, para el porcentaje de estaquillas enraizadas en ambas variedades.

Con relación al uso de auxinas en acodos, PORLINGIS, PETRIDOU y VOYIATZIS (1999) señalan que la pasta de lanolina y Tween 20, comparada con lanolina sola, en presencia de AIB, aceleró el enraizamiento y finalmente incrementó el porcentaje de enraizamiento y el número de raíces y su peso, existiendo una correlación directa positiva entre las concentraciones de AIB (0, 1, 2, 3, 4%), y el porcentaje de enraizamiento, el número de raíces y su peso. En este ensayo, el AIB solo, probó ser inadecuado para causar enraizamiento; la formación de raíces fue inducida por AIB luego que el periderma y corteza fueron estrangulados o cortados y fue mucho mejor con la combinación de ambos.

El efecto beneficioso del surfactante Tween 20 en el enraizamiento, puede ser atribuido exclusivamente a la mejor toma de auxinas y su difusión, porque en ausencia de AIB su efecto en el enraizamiento fue insignificante (PORLINGIS, PETRIDOU y VOYIATZIS, 1999).

KOUKORIKOU-PETRIDOU, VOYIATZIS y PORLINGIS (1999), también señalan que la aplicación de AIB al 4%, favoreció el enraizamiento de la variedad con más dificultad para enraizar.

Las investigaciones de HUNTER y NORTON (1985), también arrojaron resultados positivos en el enraizamiento con la aplicación de auxinas.

La interacción de factores externos e internos en la efectividad del enraizamiento, se puede observar en el estudio realizado por BORYS (1991), el que señala que la formación de raíces adventicias dentro de troncos de paltos en descomposición, podrían ser el resultado de la interacción de incrementos en los niveles de auxinas y la formación de ácidos húmicos, que favorecen la composición nutricional de la materia descompuesta en contacto con la corteza en cicatrización.

Es bien conocido por las prácticas hortícolas, que auxina aplicada a una herida acelera el proceso de cicatrización. Las raíces se iniciaron dentro del tronco en el cielo de la cavidad, en condiciones de baja intensidad lumínica; así, altos niveles de auxinas podrían ser la causa principal de la iniciación de raíces adventicias y su crecimiento dentro de troncos descompuestos (BORYS, 1991).

2.3.3. Citocininas y su efecto en la brotación

Las citocininas son sustancias del crecimiento de las plantas que provocan la división celular (WEAVER, 1980).

AZCÓN y TALÓN (2000) señalan que son muchos los efectos fisiológicos de la citocinina, ya sea sola o en conjunto con otras hormonas. Dentro de estos efectos, podemos encontrar división celular, proliferación de yemas axilares causando ruptura de la dominancia apical, neo formación de órganos *in vitro*, retraso de la senescencia foliar, desarrollo de cloroplastos y floración.

WEAVER (1980) indica que las citocininas también pueden participar de la elongación de segmentos de tallo en brotes etiolados y de algunas hojas.

SALISBURY y ROSS (1994) señalan que el uso de citocininas para estimular el desarrollo lateral de yemas es ampliamente estudiado. Se ha determinado que la aplicación de citocininas sintéticas a yemas que no se encuentran en crecimiento y que están bajo una dominancia apical, con frecuencia las induce a crecer, siendo la benciladenina la que logra mayor elongación.

Una aplicación de citocininas en forma directa a las yemas axilares, estimula el crecimiento de la yema en muchas especies, sobreponiéndose al efecto inhibidor del brote apical (TAIZ y ZEIGER, 1998).

GIL (1997) señala que las citocininas producen exactamente lo opuesto al AIA. Su aplicación post invernal a yemas, induce brotación y vigor, reduciendo la acrotonía y el ángulo de crecimiento. También han sido usadas en los viveros para producir plumas y brotes prolépticos anticipados en cultivares de gran dominio apical de manzanos y perales.

SAIDHA, GOLDSCHMIDT y MONSELISE (1985) indican que en cítricos, las citocininas participan en la regulación del cuajado de fruto, así como en determinar el tamaño final de éste.

Las hojas jóvenes de inflorescencias mixtas podrían suministrar más citocininas locales a inflorescencias con hojas que sin ellas, de esta forma, frutos que han crecido en estas inflorescencias pueden aumentar sus niveles de citocininas, como fue observado por SAIDHA, GOLDSCHMIDT y MONSELISE (1985).

2.4. Efecto de la temperatura en el crecimiento vegetativo:

SALISBURY y ROSS (1994) señalan que el crecimiento vegetal es extremadamente sensible a la temperatura.

MENZEL y PAXTON (1985), trabajando con lychee (*Litchi chinensis* Sonn.), reportaron que altas temperaturas día/noche, incrementaron la elongación del tallo, de los nudos y la producción de hojas.

De la misma forma, PHILLIPS (1985) señala que en la etapa de etiolación en la propagación de paltos, las plantas necesitan condiciones medioambientales precisas, siendo la temperatura óptima 25°C.

Esta precisión en las temperaturas la explican SALISBURY y ROSS (1994) afirmando que, a menudo, variaciones de baja intensidad implican un cambio significativo en la tasa de crecimiento.

Por otra parte, BROKAW (1987) indica que la temperatura ideal para el desarrollo de brotes etiolados fluctúa entre los 21 y 24°C.

Según datos de CIREN-CORFO (1989), las temperaturas óptimas de crecimiento para el palto, se encuentran, dependiendo del estado fenológico y variedad, entre los 20 y 26°C, con un límite máximo de 35°C y uno mínimo de 10°C.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación del ensayo:

El experimento se realizó en el invernadero, sombreadero y Laboratorio de Propagación “Profesor Gregorio Rosenberg” de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso, que se encuentra ubicada en el sector La Palma s/n, comuna de Quillota, V región de Valparaíso, en los 32°48′S y 71°16′O, entre los meses de agosto de 2001 y junio de 2002.

3.2. Obtención de las semillas:

Las semillas se obtuvieron de la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso, siendo éstas de la variedad Mexícola, variedad comúnmente utilizada por su resistencia al frío y por ser menos proclive a las deficiencias de hierro (RAZETO, 1999).

Además, CASTRO (1990) señala que es la más utilizada en Chile debido a que en vivero entregan cierto vigor y uniformidad.

Previas a la obtención, las semillas estaban almacenadas en las bodegas de las dependencias de la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía, lo que permitió obtener semillas de buena calidad y condición fitosanitaria al momento de comprarlas.

Se adquirieron 700 semillas, las que pesaron en promedio 45,13 g y midieron (en promedio), 57,80 mm de largo y 36,8 mm de ancho. No se observó presencia de insectos, larvas, hongos o ruptura de cotiledones.

3.3. Acondicionamiento de las semillas:

El día 6 de septiembre, previo a ponerlas a germinar, a las semillas se les retiró la testa y se les realizó en la parte superior de los cotiledones un corte de 1 a 2 cm aproximadamente y de 0,2 a 0,5 cm en la base de los mismos.

Según CASTRO (1990), este procedimiento se realiza porque los cotiledones son una barrera mecánica y en la testa existen inhibidores bioquímicos que dificultan la germinación.

CALABRESE (1992) también hace mención a este tratamiento, señalando que la semilla del palto presenta una envoltura que la rodea a modo de película, cuya eliminación favorece la germinación.

Si se compara la siembra de la semilla intacta, con la que le ha sido removida la testa, resulta estadísticamente significativo el incremento en los porcentajes de germinación de esta última, así como también el realizar el corte de la punta de las semillas. La combinación de la extracción más el corte de las puntas, resulta en un incremento significativo de la germinación respecto sólo de la extracción de la testa (BERGH, 1988).

Posteriormente, las semillas fueron sumergidas en una solución fungicida de Benlate-Captan en dosis de 80 y 100 g por 100 litros de agua,

respectivamente. Según GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991), esta práctica se realiza para prevenir el ataque de hongos del complejo Dumping-off.

3.4. Siembra de semillas:

3.4.1. Germinación de las semillas:

Luego de haberse realizado el tratamiento de acondicionamiento, las 700 semillas fueron dispuestas en forma ordenada en una bandeja de madera en altura (Anexo 1), la que contenía como sustrato 50% de arena y 50% de aserrín, que es el sustrato recomendado por GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991). Luego se cubrieron con una pequeña capa de aserrín de 1 a 1,5 cm de altura y posteriormente fueron regadas hasta lograr la adecuada humedad del sustrato.

Los riegos posteriores a la cama de semillas, se realizaron una vez por semana o según necesidad. La mezcla de arena con aserrín se mantuvo húmeda, tomando como parámetro de riego adecuado el que no liberara agua al apretarlo firmemente en la mano.

Los especialistas en propagación aconsejan que la punta de la semilla permanezca fuera del sustrato: esta forma de colocar la semilla es aconsejable donde la germinación, por existencia de temperatura propicia, sea inmediata (CALABRESE, 1992).

El día 4 de octubre, luego de aproximadamente cuatro semanas, cuando el crecimiento de radículas alcanzó en promedio los 2 cm de longitud, las semillas se seleccionaron y se separaron para ser llevadas a los contenedores, los que serían utilizados posteriormente para dos ensayos.

Se hace mención a la heterogeneidad observada en la germinación de las semillas, las que presentaron longitudes de radícula, al momento del trasplante, entre 0,8 y 3,6 cm. Esto se puede explicar por la alta heterocigosis que presentan las semillas de palto, lo que conlleva a diferencias en el hábito vegetativo (CALABRESE, 1992).

3.4.2. Trasplante a contenedores:

Para ambos ensayos se utilizó bolsas con fuelle de polietileno negro de 0,1 mm de espesor, 35 cm de largo y 10 cm de diámetro.

3.4.2.1. Contenedores para propagación por etiolación y acodo (Ensayo 1):

Los contenedores, para este ensayo, se doblaron hacia abajo dejando sólo un tercio de su capacidad inicial. Luego fueron llenados a tres cuartos de su capacidad final, con una mezcla, en partes iguales, de arena, perlita y suelo.

Se ubicaron las semillas en estos contenedores, se cubrieron en su totalidad con otro poco de sustrato y se regaron en forma abundante, tanto para dar humedad como para eliminar posibles bolsas de aire en el contenedor.

Posteriormente se dispusieron al azar, sobre una bandeja, dentro de un invernadero frío.

3.4.2.2. Contenedores para propagación por etiolación y microcontenedores (Ensayo 2):

Para este ensayo, se utilizaron los contenedores a su capacidad total. Se rellenaron a tres cuartos de su capacidad con el mismo sustrato utilizado para el ensayo anterior. Los manejos de las semillas, mezclas y cuidados posteriores a la siembra, fueron exactamente los mismos que se utilizaron para el ensayo 1.

3.5. Crecimiento de plantas e injertación:

Luego de haber trasplantado (para cada uno de los ensayos), las 341 semillas germinadas a los contenedores correspondientes, éstos se dispusieron al azar (pero ordenadamente por ensayo), en un invernadero de madera de dos aguas cubierto con polietileno transparente de 0,15 mm de espesor.

Una semana después del trasplante a contenedores, se realizó un riego corto con una solución fungicida de Benlate-Captan en dosis de 80 y 100 g por 100 litros de agua, respectivamente, para asegurar la sanidad de las semillas y el sustrato.

Al respecto, BERGH (1988) señala que si bien es cierto que el corte de los cotiledones permite una mayor germinación, es posible que sea más fácil la entrada de patógenos a la semilla.

Los primeros riegos se realizaron cada 12 días, aumentándose a un riego por semana o según necesidad a medida que avanzaba la estación primaveral. Además, se realizaron observaciones periódicas para ir determinando el crecimiento y la sanidad de las plántulas.

A mediados de noviembre se encontró la presencia de pulgones, lo que obligó a aplicar Pirimor en dosis de 50 g por 100 litros de agua. La aplicación se realizó asperjando el producto manualmente sobre las hojas y tallos hasta dejarlos completamente mojados. No fue necesaria una aplicación posterior.

A fines de diciembre, se midió el diámetro de los brotes para estimar el momento adecuado de injertación. En esta etapa, las plantas se encontraban en buenas condiciones, manteniendo el patrón de crecimiento heterogéneo observado desde el inicio.

Según CASTRO (1990) y ERNST (1999), el momento óptimo para realizar la injertación es cuando el brote ha alcanzado los 6 mm de diámetro.

Las púas utilizadas para la injertación se seleccionaron de árboles adultos de la variedad Duke 7 de la colección de paltos de la Estación Experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad Católica de Valparaíso. Se optó por esta variedad porque es en la actualidad, a nivel mundial, el portainjerto estándar para la enfermedad causada por el hongo *Phytophthora cinnamomi* (BARRIENTOS-PRIEGO *et al.*, 2000) y porque en el campo reproduce, en

gran medida, las características esenciales de los padres (CALABRESE, 1992).

Se tomaron las púas de brotaciones de la temporada, teniendo éstas entre tres y cinco yemas desarrolladas. Las púas se recolectaron temprano en la mañana y se les cortó las láminas foliares, dejando los pecíolos, para evitar su deshidratación (CASTRO, 1990).

El injerto utilizado (en ambos ensayos), fue el de cuña, hendidura o púa apical, que es el injerto más empleado en la actualidad a escala internacional, porque evita el problema de encontrar yemas falsas y posibilita un crecimiento más rápido del injerto, como se ha podido verificar en Palermo mediante ensayos comparativos (CALABRESE, 1992).

A 10 cm de altura desde la base de la planta, aproximadamente, se procedió a realizar el injerto. Como procedimiento de injertación, se arrancó todas las hojas a la planta injertada para facilitar la brotación de las púas. Al respecto, GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991) mencionan que el injerto debe hacerse de modo que las zonas cambiales coincidan plenamente para así obtener un buen prendimiento.

Como precaución, se dio un riego tres días antes de la injertación para permitir que la planta injertada tuviese suficiente humedad en el sustrato y para disminuir la posibilidad de asfixia de la planta en el siguiente riego, debido a la menor evapotranspiración ocasionada por la defoliación.

3.6. Desarrollo del injerto:

Una vez que las plantas fueron injertadas, éstas se dejaron nuevamente al azar (pero ordenadas por ensayo), dentro del invernadero. Las temperaturas registradas con un termómetro de máxima y mínima, en esta etapa, fluctuaron entre los 10 y 33°C. Ocasionalmente, mientras duró el ensayo, se debió regar el invernadero, porque las temperaturas alcanzaron hasta 33°C en el exterior por lo que se tuvo que mantener las temperaturas más bajas dentro de éste.

Durante esta etapa del cultivo, se sacó las malezas de los contenedores cada vez que éstas aparecieron, manteniendo así los contenedores libres de malezas. Además se realizaron desbrotes periódicos del portainjerto, para favorecer el prendimiento y desarrollo de las púas injertadas.

3.7. Propagación por etiolación y acodo (Ensayo 1):

3.7.1. Aplicación de GA₃ y etiolación:

A finales de enero, los brotes de las plantas alcanzaban en promedio 1,5 cm de longitud, por lo que se procedió a la aplicación de GA₃. La giberelina se disolvió en algunas gotas de etanol y luego se completó con agua bidestilada, ajustando a pH 7,0 con KOH. Se preparó dos soluciones a dos diferentes concentraciones, una de 20 ppm y otra de 30 ppm.

Ambas soluciones de giberelinas fueron aplicadas a 94 individuos cada una, lo que correspondió a cuatro tratamientos del ensayo. Las restantes 94 plantas fueron asperjadas con agua bidestilada, para ser usadas como testigos.

La aplicación de las soluciones se realizó con un rociador manual sólo a la púa correspondiente al injerto. Se tomó la precaución de mantener aisladas las plantas de los distintos tratamientos al momento de la aplicación y asperjar primero el placebo, luego la solución de concentración menor de giberelina y posteriormente la mayor concentración, para así evitar interferencias de las concentraciones mayores sobre las menores concentraciones.

Posteriormente, las plantas fueron llevadas a túneles oscuros (Anexo 2), para producir la etiolación de los brotes.

Se utilizó dos túneles de etiolación, el primero ubicado dentro del invernadero del Laboratorio de Propagación “Profesor Gregorio Rosenberg” de la UCV y el otro en el sombreadero del mismo Laboratorio. Al túnel ubicado en el sombreadero se le instaló un sistema de calefacción mediante termoventilador, para permitir controlar y mantener las temperaturas de crecimiento óptimas para los brotes. El túnel bajo el invernadero sufrió las variaciones térmicas del medio en el que se encontraba. Éste estaba bajo malla Rushell, para evitar la incidencia de luz directa y el aumento excesivo de la temperatura dentro de él.

El riego se distanció un poco y fue realizado de acuerdo a necesidad, haciendo una inspección semanal del sustrato y comprobando la humedad de éste.

En ambos túneles, se llevó el registro de temperaturas máximas y mínimas durante todo el proceso de etiolación y se realizaron mediciones quincenales a partir del día de ingreso de las plantas al túnel de etiolación.

3.7.2. Tratamientos y parámetros evaluados:

Los tratamientos fueron los siguientes:

- T1: Túnel no calefaccionado + agua bidestilada.
- T2: Túnel no calefaccionado + 20 ppm de GA₃.
- T3: Túnel no calefaccionado + 30 ppm de GA₃.
- T4: Túnel calefaccionado + agua bidestilada.
- T5: Túnel calefaccionado + 20 ppm de GA₃.
- T6: Túnel calefaccionado + 30 ppm de GA₃.

Se evaluó largo de todos los brotes de los injertos durante la etapa de etiolación y se llevó un registro de las temperaturas ocurridas en los túneles de etiolación (Anexos 3, 4, 5 y 6).

3.7.3. Diseño experimental:

Como al inicio del período de etiolación los brotes ya presentaban una cierta longitud, se evaluó el crecimiento porcentual de estos brotes. Este crecimiento se calculó como:

$$\% \text{ de crecimiento de brote} = \frac{\text{Longitud final} - \text{Longitud inicial}}{\text{Longitud final}} * 100$$

Se utilizó como diseño estadístico un Diseño Completamente al Azar, con arreglo factorial de 3 x 2, donde los factores fueron tres dosis de giberelinas (0, 20 y 30 ppm) y dos regímenes térmicos (con y sin calefacción).

La elección de cada planta para los distintos tratamientos fue realizada al azar, donde cada planta tuvo la misma probabilidad de estar en cualquier tratamiento. Del mismo modo, la disposición espacial de las plantas dentro de los túneles fue determinada en forma aleatoria.

Se asumió como unidad experimental cada planta, donde se realizaron seis tratamientos de 47 repeticiones cada uno, por lo que se utilizaron 282 plantas para este ensayo.

3.8. Propagación por etiolación y microcontenedores (Ensayo 2):

3.8.1. Aplicación de BAP (bencilaminopurina) y etiolación:

A finales de la primera semana de febrero, una vez que las yemas eclosionaron y cuando los brotes comenzaron a expandir sus hojas, las plantas fueron separadas según el número de yemas brotadas y la disposición de éstas, para realizar los tratamientos.

Las plantas fueron separadas en tres grupos los que corresponderían a los tres ensayos realizados. En el ensayo “2A” el número total de plantas fue de 84, en el ensayo “2B” de 85 plantas y en el ensayo “2C” de 42 plantas.

Se preparó dos soluciones de BAP a diferentes concentraciones, la primera a 150 ppm y la segunda a 250 ppm. En ambos casos se ajustó el pH a 7,0.

La aplicación de las soluciones se realizó con un rociador manual sólo a los brotes correspondientes. Se tomó la precaución de aislar las plantas de los distintos tratamientos al momento de la aplicación y de asperjar primero las plantas testigo, luego la concentración menor de BAP y posteriormente la mayor concentración, para así evitar interferencias de las distintas concentraciones. Además se tuvo cuidado en cubrir el resto de la planta con un plástico para evitar que la deriva del producto llegase al vegetal restante.

Posteriormente, las plantas fueron llevadas a túnel oscuro bajo invernadero para permitir la etiolación de los brotes. El túnel utilizado para este ensayo fue el mismo que se utilizó para el ensayo 1.

Al igual que para el ensayo 1, el riego se distanció un poco y fue realizado de acuerdo a los requerimientos, haciendo una inspección semanal del sustrato y comprobando la humedad de éste.

La última semana de abril, cuando se realizó la tercera medición, se observó algunas plantas marchitas en cada uno de los tratamientos, las que fueron eliminadas. Al ir pasando los días, eventualmente aparecieron más plantas con la misma sintomatología, las que se iban eliminando, pero para mediados de mayo hubo una expansión explosiva del síntoma.

La sintomatología observada, cuando ya fue evidente, fue un decaimiento de la planta y las hojas empezaron a tornarse grisáceas, partiendo por la punta de las hojas para luego abarcar la totalidad de la lámina foliar y en algunos casos el tallo.

Es así como se tomó una muestra de plantas y se les realizó un análisis fitopatológico, cuyo resultado arrojó contaminación por *Pythium* sp y la presencia de *Phytophthora* sp (Anexo 7).

En esta fecha, alrededor del 50% de las plantas murieron y fueron eliminadas.

3.8.2. Descripción de los ensayos y tratamientos:

3.8.2.1. Descripción de ensayo 2A:

Las plantas seleccionadas para este ensayo fueron aquellas en las que brotaron la yema apical y dos laterales. El brote central fue cortado para eliminar el efecto de la dominancia apical y se aplicó la solución de BAP a los dos brotes laterales.

Los tratamientos para este ensayo son los que siguen:

T1: desbrote central + agua bidestilada.

T2: desbrote central + 150 ppm de BAP.

T3: desbrote central + 250 ppm de BAP.

3.8.2.2. Descripción de ensayo 2B:

Las plantas seleccionadas para este ensayo fueron aquellas en las que no brotó la yema apical, pero sí las dos laterales. En estas plantas no existió el efecto de la dominancia apical por parte del brote central, por lo que se aplicó la solución de BAP a ambos brotes.

Los tratamientos para este ensayo son los que siguen:

T1: agua bidestilada.

T2: 150 ppm de BAP.

T3: 250 ppm de BAP.

3.8.2.3. Descripción de ensayo 2C:

Las plantas seleccionadas para este ensayo fueron aquellas en las que se obtuvo un brote dominante (brote 1) y un pequeño brote lateral (brote 2). La solución de BAP se aplicó al brote con menor crecimiento para determinar el efecto de este producto bajo una situación de dominancia apical.

Los tratamientos para este ensayo son los que siguen:

T1: agua bidestilada.

T2: 150 ppm de BAP.

T3: 250 ppm de BAP.

Se evaluó el largo de todos los brotes de los injertos durante la etapa de etiolación, según las distintas dosis de citocininas empleadas y la duración de cada una de las etapas.

3.8.3. Diseño experimental:

Al igual que para el ensayo 1 se evaluó el crecimiento porcentual de éstos brotes, ya que presentaban una cierta longitud al inicio del período de etiolación. El porcentaje de crecimiento de brotes se calculó de la misma forma que para el ensayo 1.

Se utilizó como diseño estadístico un modelo Completamente al Azar con un test de separación de medias de Tukey al 5% de significancia.

La elección de cada planta para los distintos tratamientos (en cada uno de los ensayos) fue realizada al azar, donde cada planta tuvo la misma probabilidad de estar en cualquier tratamiento. Del mismo modo, la disposición espacial de las plantas dentro del túnel fue determinada en forma aleatoria.

Se asumió como unidad experimental cada planta, donde para los ensayos 2A y 2B se realizaron tres tratamientos de 28 repeticiones cada uno y para el ensayo 2C, tres tratamientos de 14 repeticiones cada uno. Para este ensayo, tomando el total de todos los tratamientos, se utilizaron 211 plantas.

3.9. Aplicación de AIB, levantamiento de bolsas para el acodado y utilización de microcontenedores para acodo aéreo:

Lamentablemente, a principios de junio, la zona central del país sufrió los estragos de un frente de mal tiempo. Este frente produjo copiosas lluvias, que llegaron a alcanzar solamente el día 3 de junio los 237,80 mm, desbordando ríos y arroyos. El caudal del arroyo que corre por el límite este de la Facultad desbordó, provocando la inundación de los túneles de etiolación, los que quedaron cubiertos por el material arrastrado. Por esta razón no se pudo completar lo planificado para los ensayos, ya que se perdió todo el material de estudio.

4. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

De las 700 semillas iniciales puestas a germinar, 18 de ellas (2,6%) no germinaron, por lo cual fueron desechadas. Las restantes 682 semillas se separaron al azar y en partes iguales, en dos grupos de 341 semillas, las que fueron trasplantadas a contenedores y conformaron los individuos utilizados para ambos ensayos.

Se observó que la etapa desde germinación hasta trasplante a contenedores demoró aproximadamente cuatro semanas. Estos resultados no concuerdan en forma exacta con los obtenidos por BROKAW (1987), BERNALES (1997), LAPUENTE (2001) quienes señalan que esta etapa duró tres semanas. Esto puede deberse a la alta heterogeneidad de germinación que presentaron las semillas en este ensayo, debiendo esperar a que las semillas que estaban más atrasadas llegaran a un desarrollo mínimo para poder ser trasplantadas.

A mediados de octubre, luego de dos semanas desde el trasplante a contenedores, aproximadamente el 60% de las semillas seleccionadas para el ensayo 1 había emergido en buenas condiciones. El resto de las semillas lo hizo una semana después, salvo cuatro semillas (1,1% aproximadamente), que no emergieron, las cuales fueron eliminadas.

En las semillas seleccionadas para el ensayo 2 se observó un porcentaje menor de emergencia, que alcanzó aproximadamente a un 50%. Las semillas restantes germinaron sucesivamente en el transcurso de las dos semanas siguientes.

A mediados de noviembre se realizó una inspección y conteo de plantas. En el ensayo 1, se encontró siete plantas muertas (2,1% del total inicial) las que fueron eliminadas. En el ensayo 2, en esta misma fecha, la sobrevivencia de plantas fue del 100%. Es importante mencionar que se mantuvo la tendencia de crecimiento heterogéneo de las plantas en cada uno de los ensayos, encontrándose éstas en diferentes estados de crecimiento.

A fines de diciembre, en una posterior inspección, se encontró nueve plantas muertas del ensayo 2 (2,6% del total inicial para este ensayo) las que fueron eliminadas. En el ensayo 1 no se observó muerte de plantas.

La medición realizada a las plantas del ensayo 1, arrojó un diámetro promedio de tallo de 5 mm, con diámetros entre 2,2 y 7 mm. Del total de plantas medidas, 23 de ellas (6,7% del total inicial para este ensayo), presentaron diámetros inferiores a 3 mm, por lo que al momento de la injertación fueron desechadas.

La medición realizada a las plantas del ensayo 2, arrojó un diámetro promedio de tallo de 4,2 mm, con diámetros entre 2,0 y 6,1 mm. Del total de plantas medidas, 57 de ellas (16,7% del total inicial para este ensayo), presentaron diámetros inferiores a 3 mm, por lo que al momento de la injertación fueron desechadas.

A principios de enero, la mayoría de las plantas del ensayo 1 presentaba diámetros entre los 4,5 y 7 mm, por lo que se tomó la decisión de injertar las 307 plantas que se encontraron con diámetros dentro de este rango.

Paralelamente, un gran número de las plantas del ensayo 2 presentaba diámetros entre 3,0 y 5,3 mm y 57 plantas (16,7% del total inicial para este ensayo) se encontraban bajo los 2,5 mm de diámetro. Intentando

homogeneizar el grupo de plantas en estudio en cuanto a crecimiento y viendo las futuras complicaciones que hubiese podido acarrear para el ensayo esperar el diámetro de injertación de éstas, se decidió excluirlas.

En cuanto al tiempo que se necesitó para alcanzar la siguiente etapa de este ensayo, la de injertación, éste demoró 12 semanas desde el trasplante. Los resultados obtenidos no concuerdan con los obtenidos por distintos autores como ERNST (1999), quien alcanzó este estado en 8 semanas y más alejados aún de los obtenidos por BROKAW (1987) que logró el mismo estado de 3 a 5 semanas. Según el ensayo realizado por LAPUENTE (2001), el tiempo que le tomó alcanzar este estado fue de 17 semanas, mientras que BERNALES (1997), logró obtener diámetro de injertación de 14 a 16 semanas. En condiciones locales, los resultados del presente ensayo aventajan en 2 semanas a los obtenidos por este último autor.

A fines de enero, luego de ser injertadas, las plantas fueron nuevamente inspeccionadas y contadas. La gran mayoría de las plantas del ensayo 1 se encontraba en buen estado y desarrollo, presentando brotaciones promedio de 1,5 cm de altura. Se observó también que tres púas injertadas (0,9% del total inicial de plantas para el ensayo), no prendieron, por lo que estas plantas fueron eliminadas. Así mismo, 22 plantas (6,5% del total inicial para este ensayo), no presentaban indicios de brotación, por lo que también fueron eliminadas.

En las plantas del ensayo 2, aunque también se encontraban en buen estado, se observó una mayor heterogeneidad de brotación de las púas injertadas. Se constató la falta de prendimiento de cuatro injertos (1,1% del total de plantas inicial para este ensayo), plantas que fueron eliminadas. Alrededor de 60 plantas (17,5% del total inicial para este ensayo), aún no

lograban brotes con hojas expandidas, por lo que se decidió esperar un tiempo más para lograr este estado de brotación.

La razón de la disparidad de resultados se debe a que las temperaturas máximas dentro del invernadero fueron elevadas y difíciles de controlar, lo que implicó una interferencia en la velocidad de desarrollo óptima de las plantas. Además, la heterogeneidad observada desde el principio del ensayo se mantuvo a lo largo del estudio, debiendo retrasar algunas actividades para que el promedio general de cada uno de los ensayos estuviera dentro de los parámetros mínimos necesarios, que en este caso era de 6 mm como diámetro de injertación.

A finales de enero, luego de todo el proceso anteriormente relatado, se contabilizó las pérdidas de plantas para el ensayo 1, las que sumaron 59 (17,3%). A esta fecha, los brotes de las 282 plantas restantes alcanzaban, en promedio, 1,5 cm de longitud, por lo que se procedió a la aplicación de GA₃.

La primera semana de febrero se realizó una nueva inspección de las plantas del ensayo 2. Esta inspección, varió con respecto a la última. De las plantas que aún no expandían sus hojas en la inspección anterior, 24 de ellas (7,0% de total inicial para este ensayo), no lograron el índice de brotación esperado, por lo que se eliminaron. Las restantes 36 plantas (10,5% del total inicial para este ensayo), presentaron una brotación única y débil, por lo tanto también fueron eliminadas.

De esta forma, quedaron solamente 211 plantas con las características necesarias para incluirlas en el ensayo.

Respecto del tiempo que demoró la siguiente etapa, aplicación de hormonas e introducción de las plantas a túnel de etiolación, se observó una pequeña diferencia de tiempo entre ambos ensayos. En el ensayo 1, esta etapa demoró cuatro semanas, mientras que en el ensayo 2 alcanzó cinco semanas. Es necesario mencionar, que todos los manejos agrícolas fueron realizados de igual forma y con los mismos cuidados para todas las plantas de ambos ensayos. Por esta razón, la demora en una semana del ensayo 2 respecto del ensayo 1, se explica únicamente porque las plantas del ensayo 2 acentuaron su comportamiento heterogéneo en crecimiento, debiendo esperar que las plantas con menor crecimiento lograran las longitudes mínimas para ser ingresadas a los túneles de etiolación.

Los resultados obtenidos se asemejan a los señalados por ERNST (1999), quien logró esta etapa entre las tres y cuatro semanas.

Por otra parte, el tiempo necesario para alcanzar longitudes de injertación de la variedad comercial se logró a las 16 semanas. Dichos resultados difieren completamente con los obtenidos por BROKAW (1987) y ERNST (1999), donde éste último obtuvo resultados a las cuatro semanas.

Nuevamente, la razón para obtener resultados tan disímiles fue la temperatura que se registró en los túneles de etiolación, donde las temperaturas máximas se mantuvieron, en general, sobre la temperatura óptima reportada para este período, alcanzándose un promedio aproximado de 32°C. Estas temperaturas máximas y la amplitud térmica observada, afectó el crecimiento de los brotes etiolados, disminuyendo su velocidad de crecimiento debido al estrés al que estuvieron sometidos.

4.1. Ensayo 1: Efecto de la aplicación de ácido giberélico y calefacción sobre el crecimiento en longitud del brote injertado durante la etiolación:

Según los datos obtenidos mediante el análisis estadístico, se determinó que existe un efecto significativo de las dosis de giberelinas aplicadas, pero no así de la temperatura o la interacción de ambos factores sobre el crecimiento en longitud de brotes de paltos etiolados por 10 semanas. Los resultados obtenidos no concuerdan en lo absoluto con lo reportado por casi todos los autores, donde el efecto de la temperatura sí es significativo. Por otra parte, los resultados de este ensayo también difieren con los obtenidos por LAPUENTE (2001), donde la temperatura y la interacción de temperatura con giberelinas sí fueron significativas.

Al comparar los promedios en el incremento porcentual del crecimiento de los brotes etiolados, se determinó con un error del 5%, que los brotes de las plantas testigos presentan porcentajes de crecimiento menores que los brotes tratados con giberelinas. En el Cuadro 1 se puede observar que el aplicar 20 ó 30 ppm de giberelina no produce diferencias significativas en el crecimiento porcentual de los brotes etiolados (Anexo 8).

Cuadro 1. Efecto de la aplicación de 2 dosis de giberelinas sobre el incremento porcentual de crecimiento de brotes etiolados.

Tratamiento	Crecimiento (%)
0 ppm de GA ₃	52.25 a *
20 ppm de GA ₃	64.77 b
30 ppm de GA ₃	65.33 b

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

El efecto positivo del uso de giberelinas en sus distintas dosis (20 y 30 ppm), respecto del testigo (0 ppm), concuerda con los resultados obtenidos por los investigadores.

Este efecto positivo del uso de giberelinas lo menciona GIL (1997), quien señala que las giberelinas (GA_s) parecen jugar un papel preponderante en el crecimiento por elongación del brote. Por otra parte, SALISBURY y ROSS (1997) indican que en la mayoría de las dicotiledóneas y en algunas monocotiledóneas las aplicaciones de giberelina exógena hace que éstas crezcan más rápido. Así, muchas especies que poseen entrenudos cortos pueden, en ocasiones, crecer hasta los 2 m tras la aplicación de GA_3 . RATNA BABU y LAVANIA (1985), también reportan crecimientos mayores al aplicar giberelinas, siendo éstos mayores con dosis más altas. WEAVER (1980), también menciona el efecto sorprendente de la aspersión de giberelinas en el crecimiento de entrenudos.

Respecto de la influencia de la temperatura en el crecimiento de los brotes, MENZEL y PAXTON (1985) aseveran que las altas temperaturas ocurridas a lo largo de su ensayo con lychee, incrementaron la elongación del tallo, de los nudos y la producción de hojas. Además, SALISBURY y ROSS (1994) señalan que el crecimiento vegetal es extremadamente sensible a la temperatura. A esto se suma PHILLIPS (1985), quien indica que en la etapa de etiolación las plantas deben tener temperaturas de 25°C. SALISBURY y ROSS (1994) afirman que las variaciones en la temperatura pueden producir un cambio en la tasa de crecimiento. Por otra parte, BROKAW (1987) indica que la temperatura ideal para el desarrollo de brotes etiolados fluctúa entre los 21 y 24°C.

En la Figura 1 se puede observar que las temperaturas del túnel sin calefacción son mayores que las del túnel con calefacción. Esto se debe a que el túnel sin calefacción se encontraba ubicado dentro del invernadero, teniendo temperaturas mayores durante un gran período del ensayo. La calefacción se empezó a utilizar cuando las temperaturas mínimas promedio se acercaron a los 15°C. De esta forma, se puede apreciar que las temperaturas de ambos túneles fueron muy similares en el transcurso del ensayo, esto podría explicar el resultado contrario a todas las investigaciones previas, ya que el efecto temperatura habría sido anulado y por ende la interacción con el factor hormona también.

4.2. Ensayo 2: Efecto de la aplicación de BAP sobre el porcentaje de crecimiento de brotes laterales en paltos:

4.2.1. Ensayo 2A: Efecto de la aplicación de BAP a los brotes laterales con eliminación del brote central:

De acuerdo a los resultados obtenidos por el análisis estadístico se determinó que existe un efecto de la aplicación de BAP sobre el incremento porcentual en crecimiento de los brotes tratados y que hay diferencias significativas respecto de las dosis aplicadas.

Este menor crecimiento de los brotes del tratamiento 1, podría estar dado por el hecho que éstos solo recibieron citocininas endógenas, lo que no les permitió crecer tanto como a los brotes de los tratamientos 2 y 3 los que recibieron citocininas exógenas. Esta diferencia significativa de crecimiento entre los tratamientos 2 y 3 es proporcional a la concentración de citocininas

aplicadas, donde existió mayor crecimiento en el tratamiento de mayor concentración de BAP.

Como se puede observar en el Cuadro 2, los promedios del incremento porcentual en crecimiento de los brotes de plantas tratadas con 250 ppm de BAP, son mayores que el incremento porcentual en crecimiento de las plantas tratadas con 150 ppm de BAP y las plantas testigo (Anexo 9).

Cuadro 2. Porcentaje promedio de crecimiento de brote con la aplicación de BAP y desbrote central.

Tratamiento	Crecimiento (%)
agua bidestilada	34.11 a*
150 ppm de BAP	54.35 a
250 ppm de BAP	80.55 b

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

Los resultados obtenidos concuerdan con lo mencionado por LIZAMA (2001), quien reportó resultados similares en crecimiento de brotes con aplicación de distintas dosis de BAP.

Esto se apoya en lo expresado por SALISBURY y ROSS (1994), quienes indican que el uso de citocininas para estimular el desarrollo lateral de yemas es ampliamente estudiado.

Son muchos los efectos fisiológicos de la citocinina, entre los que podemos encontrar división celular, proliferación de yemas axilares causando ruptura de la dominancia apical, neo formación de órganos *in vitro*, retraso de la senescencia foliar, desarrollo de cloroplastos y floración (AZCÓN y TALÓN, 2000).

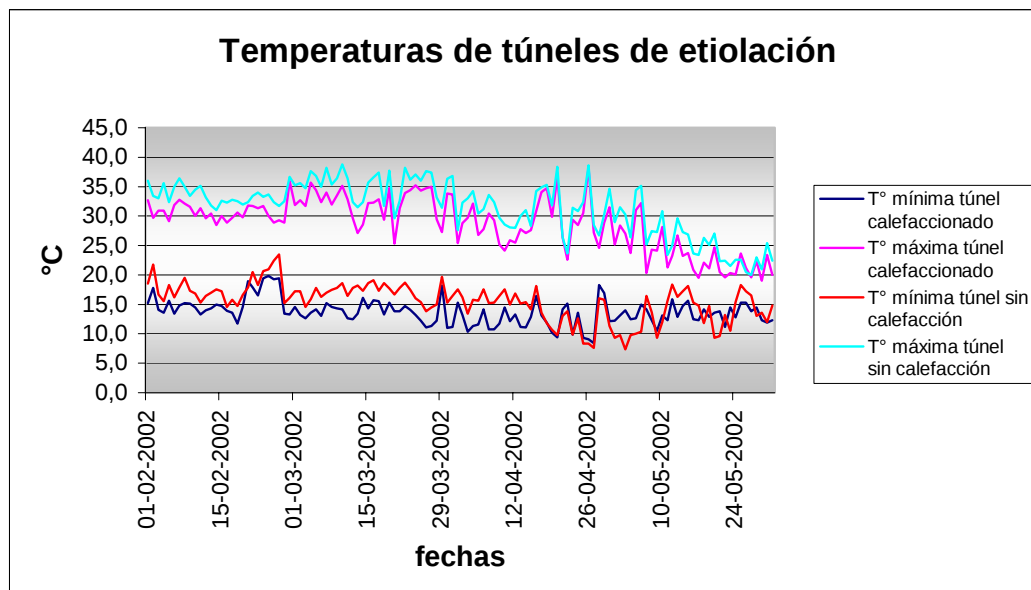


Figura 1: Temperaturas registradas en los túneles durante la etiolación.

Por su parte, WEAVER (1980) y TAIZ y ZEIGER (1998) señalan que la aplicación de citocininas en forma directa a las yemas estimula el crecimiento de la yema en muchas especies, provocando división celular o participando de la elongación de segmentos de tallos etiolados y de algunas hojas.

4.2.2. Ensayo 2B: Efecto de la aplicación de BAP en la longitud de dos brotes laterales de paltos sin brotación de yema apical.

De acuerdo a los resultados obtenidos por el análisis estadístico, se determinó que no existe un efecto significativo de la aplicación de BAP sobre el incremento porcentual en crecimiento de los brotes tratados respecto del testigo, ni diferencias significativas respecto de las dosis aplicadas.

El crecimiento porcentual similar, en todos los tratamientos, se podría deber a que en este ensayo está presente la yema apical, y al aplicar la citocinina exógena a los brotes laterales, los niveles endógenos de estos brotes podrían haberse igualado, logrando así un crecimiento similar.

En el Cuadro 3, se muestra que los porcentajes promedio de crecimiento de brotes de las plantas testigo son similares a los porcentajes de crecimiento de brotes de las plantas tratadas con ambas dosis de BAP (Anexo 10).

Cuadro 3. Porcentaje promedio de crecimiento de brote con la aplicación de BAP.

Tratamiento	Crecimiento (%)
agua bidestilada	32.70 a*
150 ppm de BAP	41.76 a
250 ppm de BAP	33.49 a

* Valores seguidos de una misma letra no difieren estadísticamente.

Los resultados obtenidos en este ensayo, concuerdan con los obtenidos por LIZAMA (2001), quien tampoco reportó efectos significativos en el crecimiento de brotes con aplicación de BAP, respecto del testigo.

Según WEAVER (1980), se requiere citocininas tanto en la iniciación como en la continuación de la división celular. Además, sostiene que las citocininas pueden provocar el desplazamiento de asimilados a la zona tratada.

Por otra parte, SALISBURY y ROSS (1994) señalan que la aplicación de citocinina permite el crecimiento del brote sólo por un par de semanas.

4.2.3. Ensayo 2C: Efecto de la aplicación de BAP en el incremento en el porcentaje de crecimiento de brotes laterales de paltos en situación de dominancia apical.

De acuerdo a los resultados obtenidos por el análisis estadístico, se determinó que existe un efecto significativo de las dosis de BAP en situación de dominancia apical, determinándose a un 5 % de significancia que la

aplicación de BAP, en cualquiera de sus dos dosis, produce un crecimiento porcentual mayor en los brotes tratados respecto de los brotes del testigo.

Este menor crecimiento de los pequeños brotes laterales del tratamiento 1, está dado por el hecho que éstos se encuentran bajo la influencia de dominancia apical, donde el brote con mayor crecimiento inhibe el crecimiento de los brotes sucesivos. En el caso de los pequeños brotes de los tratamientos 2 y 3, éstos recibieron citocininas exógenas, aumentando la concentración endógena de esta hormona, lo que les habría permitido disminuir el efecto inhibidor del brote dominante.

Al comparar los promedios en el incremento porcentual de crecimiento de los brotes tratados, se determinó con un error del 5%, que los brotes de las plantas testigos presentan porcentajes de crecimiento menores que los brotes tratados con BAP. En el Cuadro 4 se puede observar que el aplicar 150 ó 250 ppm de BAP, produce diferencias significativas en el crecimiento porcentual de los brotes en situación de dominancia apical.

Cuadro 4. Porcentaje promedio de crecimiento de brotes en situación de dominancia apical.

Tratamiento	Crecimiento brote 2 (%)	
Agua bidestilada	17.14	a*
150 ppm de BAP	42.46	b
250 ppm de BAP	36.98	b

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

Cabe señalar, que si bien la aplicación de BAP produjo un mayor crecimiento de los brotes tratados, éstos llegaron a tener crecimientos proporcionales

similares respecto del brote dominante, pero en ningún caso el crecimiento del brote más pequeño fue mayor que el crecimiento del brote dominante o llegó a superarlo en longitud. Esto se puede entender mejor en la Figura 2, donde se observa el promedio del incremento porcentual del crecimiento de los brotes de cada uno de los tratamientos.

Los resultados obtenidos no concuerdan con los obtenidos por LIZAMA (2001), quien no reportó efectos de la aplicación de BAP, a brotes laterales, en situación de dominancia apical.

En cambio, TAIZ y ZEIGER (1998) señalan que al aplicar citocininas en forma directa a las yemas axilares, éstas pueden sobreponerse al efecto inhibidor del brote apical.

Por su parte, AZCÓN y TALÓN (2000) afirman que uno de los efectos de las citocininas es favorecer el crecimiento de brotes laterales bajo dominancia apical, ya sea por balance entre citocininas y auxinas o por la habilidad de esta hormona de transformar la zona tratada en un fuerte "sink", elevando la actividad metabólica y favoreciendo el desarrollo.

A esto se le suma lo expresado por SALISBURY y ROSS (1994), quienes indican que se ha determinado que la aplicación de citocininas sintéticas a yemas, que no se encuentran en crecimiento y que están bajo una dominancia apical, con frecuencia las induce a crecer, siendo la benciladenina la que logra mayor elongación.

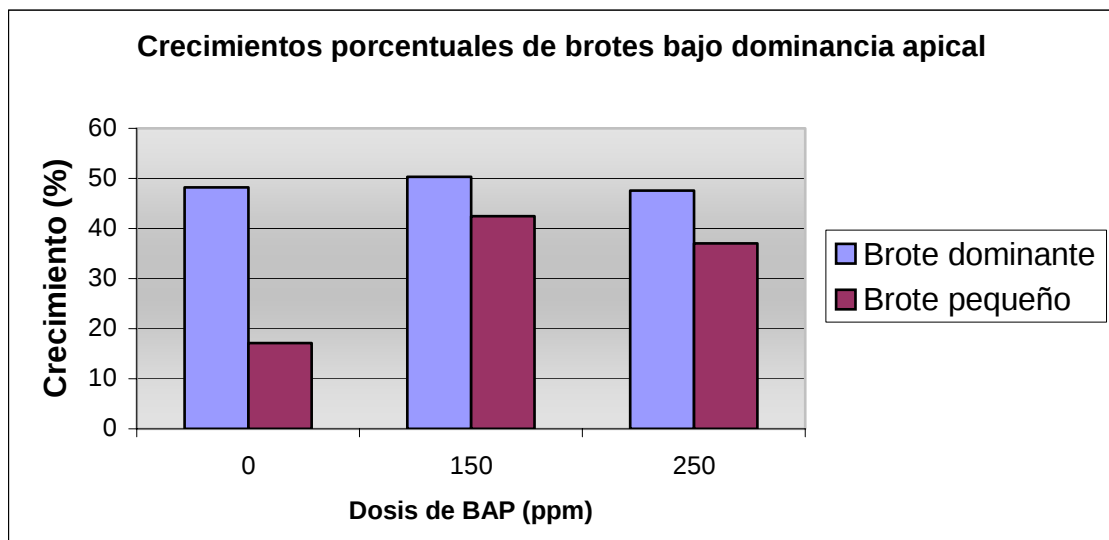


Figura 2. Efecto de la aplicación de BAP en el incremento del porcentaje de crecimiento de brotes laterales de paltos en situación de dominancia apical.

4.3. Observaciones a la implementación de la técnica:

Como primera observación, es necesario señalar la conveniencia de realizar este tipo de ensayos en la época que normalmente se realizan cada una de las actividades relacionadas con la propagación vegetal. Este ensayo empezó a realizarse en agosto y gracias a las altas temperaturas ocurridas en la estación invernal y primaveral, se logró realizar los injertos en una época favorable para dicha actividad, permitiendo un mejor desarrollo de los brotes injertados.

Por otra parte, el uso de semillas de buena calidad y de una variedad adecuada ayuda, de la misma forma, a optimizar todos los procedimientos del ensayo. En este caso se pudo utilizar semillas de la variedad Mexícola, que según CASTRO (1990), es la más utilizada en Chile por entregar cierto vigor y uniformidad. El uso de semillas de esta variedad, permitió obtener buenos individuos para el estudio y una alta tasa de supervivencia.

Sin embargo, se observó que las semillas aunque mostraron tener el vigor necesario, no presentaron la homogeneidad esperada en cuanto a comportamiento, por lo que todos los procedimientos posteriores se vieron afectados. Para ensayos posteriores sería de utilidad estudiar la factibilidad de realizar cortes en los costados de la semilla, como lo sugiere BERGH (1988), quien señala que mientras más cortes se realicen en la semilla, más homogénea es su germinación y su posterior crecimiento.

Los tratamientos con fungicidas y el uso de sustrato adecuado, como el que es recomendado por GARDIAZABAL y ROSENBERG (1991), permiten obtener un alto grado de germinación y sin problemas fitosanitarios.

Respecto de los contenedores, éstos fueron los propuestos por ERNST (1999) y dieron muy buenos resultados. Se debe utilizar, para posteriores manejos y almacenaje, contenedores con fuelle, ya que son más estables.

Un alcance importante es que para llevar a cabo un buen ensayo, la infraestructura debe ser la adecuada. Es necesario que las estructuras, tanto del invernadero como de los túneles, permitan un mejor control de las temperaturas, las que son cruciales para el buen desempeño del ensayo. En el transcurso de este estudio, la temperatura fue difícil de controlar, sobre todo las máximas, lo que interfirió en la obtención más rápida de las plantas. Lo ideal sería contar con cámaras de etiolación donde, tanto las condiciones ambientales como los riegos, pudiesen ser controlados de mejor forma y así disminuir la influencia negativa de condiciones adversas.

En lugares donde los ensayos serán conducidos en condiciones ambientales que son difíciles de controlar, sería aconsejable que los riegos sean hechos según necesidad de las plantas y no calendarizados; observar el sustrato y ver la humedad de éste, es el mejor sistema para proveer de agua a la planta en forma adecuada.

Es necesario mencionar que a lo largo del ensayo, las temperaturas máximas dentro de los túneles de etiolación fueron elevadas en casi la totalidad del transcurso del ensayo. Esto complicó el manejo de las temperaturas mínimas en el caso del túnel con calefacción, ya que al no contar con un equipo con termostato, la regulación del termoventilador se hizo en forma manual y no fue la óptima, debiendo regularse en forma constante, lo que impidió mantener una temperatura uniforme dentro del túnel.

5. CONCLUSIONES

Aunque no se pudo implementar completamente las técnicas por etiolación y acodo y microcontenedores, como método de propagación clonal para portainjertos, hasta la fecha que duró el ensayo, el desarrollo de la técnica se estaba realizando sin mayores inconvenientes.

Se demostró el efecto de la aplicación de giberelinas para el crecimiento de los brotes etiolados, pudiendo utilizarse 20 ó 30 ppm de giberelinas. No hubo efecto de la temperatura o efecto sinérgico de temperatura y giberelinas en este ensayo.

Se observó que dosis de 250 ppm de BAP y desbrote apical, lograron un efecto positivo en el incremento porcentual en crecimiento de brotes de púas injertadas de paltos. No se encontró un efecto positivo de la aplicación de BAP, en sus dos dosis, en el incremento porcentual de crecimiento en longitud de brotes de púas injertadas de paltos sin desbrote apical. La aplicación de BAP a un brote en situación de dominancia apical, mostró tener efecto en el incremento porcentual de crecimiento en longitud, respecto del testigo, donde ambas dosis produjeron el mismo efecto.

Es indispensable el control de las condiciones ambientales en todo el transcurso del ensayo para poder implementar en forma comercial y exitosa ésta técnica.

La duración de las distintas etapas fue de cuatro semanas desde germinación a trasplante (con largo promedio de radícula de 2 cms), 12 semanas desde trasplante a injerto (con diámetro promedio de tallo de 5 mm)

y 16 semanas desde injertación del patrón hasta la longitud necesaria para el injerto de la variedad comercial.

6. RESUMEN

En el invernadero y sombreadero del Laboratorio de Propagación “Profesor Gregorio Rosenberg” de la Universidad Católica de Valparaíso, se realizó un estudio entre los meses de agosto de 2001 y junio de 2002, con el objetivo de implementar las técnicas de propagación clonal de portainjertos de palto (*Persea americana* Mill.). Este estudio se dividió en dos ensayos, el primero para implementar la técnica de etiolación y acodo y el segundo la técnica de etiolación y microcontenedores. Para ambos ensayos se propuso algunas modificaciones de la técnica en algunas etapas. En el ensayo uno se probó el efecto de la aplicación de giberelinas y el uso de calefacción en el crecimiento de brotes en etiolación de púas injertadas y en el ensayo 2 se probó el efecto de la aplicación de BAP en el crecimiento de los brotes en etiolación.

Las semillas utilizadas fueron de la variedad Mexícola y la púa injertada de la variedad Duke 7, para ambos ensayos. En el ensayo 1, las dosis de giberelinas aplicadas a la púa injertada fueron de 0, 20 y 30 ppm de GA₃ y en el ensayo 2 las dosis de BAP fueron de 0, 150 y 250 ppm.

Las plantas de ambos ensayos fueron posteriormente introducidas en túneles de etiolación, donde para el ensayo 1 se utilizó un túnel con calefacción y otro sin calefacción y para el ensayo 2, las plantas fueron introducidas en el túnel sin calefacción. Al momento de ser ingresadas las plantas a los túneles de etiolación, se realizaron mediciones periódicas de longitud de brotes y de las temperaturas máximas y mínimas ocurridas en ambos túneles.

Por problemas climáticos ocurridos en la zona, todo el material en estudio se perdió. La información que se pudo obtener de las mediciones realizadas hasta la semana antes del incidente climático, demuestra que para el ensayo 1, las dosis de giberelinas aplicadas tuvieron un efecto significativo en el crecimiento de los brotes etiolados respecto del testigo, pero no existió diferencia significativa entre ambas dosis. No hubo efecto de la temperatura o efecto sinérgico de temperatura y giberelinas en este ensayo. En el ensayo 2, se observó que existió un efecto de la aplicación de BAP en el crecimiento de brotes de plantas decapitadas, teniendo un efecto mayor, dosis de 250 ppm de BAP. No existió un efecto significativo de la aplicación de BAP en plantas donde el brote apical estaba presente. Hubo efecto en el uso de BAP para revertir el efecto de dominancia apical, dando resultados similares dosis de 150 y 250 ppm de BAP.

La duración de las distintas etapas fue de cuatro semanas desde germinación a trasplante (con largo promedio de radícula de 2 cms), 12 semanas desde trasplante a injerto (con diámetro promedio de tallo de 5 mm) y 16 semanas desde injertación del patrón hasta la longitud necesaria para el injerto de la variedad comercial.

7. LITERATURA CITADA

- AZCÓN, J y TALÓN, M. 2000. Fundamentos de fisiología vegetal. España, Edicions Universitat de Barcelona. 522 p.
- BALDINI, E. 1992. Arboricultura general. Madrid. Editorial Mundi Prensa. 375 p.
- BARRIENTOS-PRIEGO, A., MUÑOZ-PEREZ, R., BORYS, M. W., MARTINEZ-DAMIAN, M. T. 2000. Cultivares y portainjertos del aguacate. In: D. Téliz. ed. El Aguacate y su manejo integrado. México, Mundi Prensa. pp. 35-54.
- _____, BORYS, M. W. and BARRIENTOS-PEREZ, F. 1986. Rooting of avocado cuttings (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte and Colín V-33. California Avocado Society Yearbook 70: 157-163.
- BASUK, N. and MAYNARD, B. 1987. Stock plant etiolation. HortScience 22 (5): 749-750.
- BEN-YA'ACOV, A. and MICHELSON, E. 1995. Avocado rootstocks. Horticultural reviews 17: 381-429.
- BERGH, B. 1988. The effect of pretreatments on avocado seed germination. California Avocado Society Yearbook 72: 215-221.
- BERNALES, C. 1997. Implementación de la técnica de etiolación y acodo en la propagación clonal de paltos (*Persea americana* Mill.). Taller de licenciatura Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 78 p.

- BORYS, M. W. 1991. Formation of adventitious roots in decaying trunks of old *Persea americana* Mill. mexican race. California Avocado Society Yearbook 75: 139-144.
- BROKAW, W. 1987. Avocado clonal rootstock propagation. Proc. Intern. Plant Prop. Soc. 37: 97-103.
- CALABRESE, F. 1992. El Aguacate. Madrid, Mundi-Prensa. 246 p
- CASTRO, M. 1990. Propagación, portainjerto y reinjertación de palto. Facultad de Agronomía UCV. Curso internacional de producción, postcosecha y comercialización de paltas. Viña del mar, 2-5 de octubre de 1990. Cap. F.
- CENTRO DE INFORMACIÓN DE RECURSOS NATURALES –
CORPORACIÓN DE FOMENTO PARA LA PRODUCCIÓN.
1989. Frutales menores y de hoja persistente. Requerimientos de clima y suelo. 65 p.
- CHRISTENSEN, M. V., ERIKSEN, E. N. and ANDERSEN, A. S. 1980. Interaction of stock plant irradiance and auxin in the propagation of apple rootstock by cuttings. Scientia Horticulturae 12: 11-17.
- ECONOMOU, A. S. and READ, P. E. 1987. Light treatments to improve efficiency of in vitro propagation systems. Hort Science 22 (5): 751-754.
- ELAM, P. 25 de julio de 2002. Budding and grafting citrus and avocados in the home garden, (on line).
<http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/8001.pdf>.
- ERNST, A.A. 1999. Micro cloning: A multiple cloning technique for avocados using micro containers. Revista Chapingo serie Horticultura 5: 217-220.

- FROLICH, E. and PLATT, R. 1971. Use of etiolation technique in rooting avocado cuttings. California Avocado Society Yearbook 55: 97-109.
- GIL, G. F. 1997. El potencial productivo. Crecimiento vegetativo y diseño de huertos y viñedos. Santiago, Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. 342 p.
- GOH, D. and MONTEUUIS, O. 20 de julio de 2002. Vegetative propagation of Teak (on line). <http://www.itto.or.jp/newsletter/v7n2/13vegetative.html>.
- HAMILTON, D. F. and MIDCAP, J. T. 20 de julio de 2002. Seed propagation of woody ornamentals, (on line). <http://edis.ifas.ufl.edu/EP029>.
- HANSEN, J. 1987. Stock plant lighting and adventitious root formation. Hort Science 22(5): 746-749.
- HARTMANN, H., KESTER, D. y DAVIES, F. 1990. Plant propagation. Principles and practices. 5th. Ed. Englewood Cliffs, Prentice Hall. 647 p.
- HOFSHI, R. 1997. Clone your own avocado at Home. Subtropical Fruit News 4 (2): 4-6.
- HUNTER, A. G. and NORTON, J. D. 1985. Rooting stem cutting of chinese chesnut. Scientia Horticulturae 26: 43-45.
- KARHU, S. T. 1992. Effects of etiolation and shading on the rooting of woody ornamental cuttings. Acta Horticulturae 314: 275-282.

- KOUKORIKOU-PETRIDOU, M., VOYIATZIS, D. and PORLINGIS, I. 1999. The effect of inorganic nutrients and etiolation on the propagation of olive with an improved method of mound layering. *Acta Horticulturae* 474: 47-50.
- LAPUENTE, M. 2001. Implementación de la técnica de etiolación y acodo en la propagación clonal de paltos (*Persea americana* Mill.). Taller de licenciatura Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía. 41 p.
- LIZAMA, M. 2001. Implementación de la técnica de etiolación y microcontenedores en paltos (*Persea americana* Mill.). Taller de licenciatura Ing. Agr. Quillota, Universidad Católica de Valparaíso. Facultad de Agronomía.
- MENZEL, C. M. and PAXTON, B. F. 1985. The effect of temperature on growth and dry matter production of lychee seedlings. *Scientia Horticulturae* 26: 17-23.
- ODDIRAJU, V., BEYL, C., BARKER, P. and STUTTE, G. 1994. Containers size alters root: growth of western black cherry as measurement vía image analysis. *Hort Science* 29(8): 910-913.
- OFICINA DE ESTUDIOS Y POLÍTICAS AGRARIAS. 2002. Mercados agropecuarios. Ministerio de Agricultura. N°116. 57 p.
- PHILLIPS, D. 1985. The clonal propagation of *Phytophthora* avocado rootstocks. *Acta Horticulturae* 166: 65-66.
- PORLINGIS, I. C., PETRIDOU, M. and VOYIATZIS, D. G. 1999. An improved method of propagating the olive by mound layering. *Acta Horticulturae* 474: 59-62.

PREECE, J. E. 1987. Treatment of the stock plant with plant growth regulators to improve propagation success. *Hort Science* 22(5): 755-759.

RATNA BABU, G. H. V. and LAVANIA, M. L. 1985. Vegetative growth and nutritional status as influenced by auxins and gibberellic acid, and their effect on fruit yield in lemon. *Scientia Horticulturae* 26: 25-33.

RAZETO, B. 1999. Para entender la fruticultura. Santiago, Chile. Vivarium. 303 p

SAIDHA, T., GOLDSCHMIDT, E. E. and MONSELISE, S. P. 1985. Endogenous cytokinins from developing "Shamouth orange fruits derived from leafy and leafless inflorescences. *Scientia Horticulturae* 26: 35-41.

SALAZAR-GARCÍA, S. and BORYS, M. 1989. Clonal propagation of the Avocado through "frankeamiento". *California Avocado Society Yearbook*. 73: 69-72.

_____ and LOVATT C. J. 1999. Winter trunk injections of gibberellic acid altered the fate of "Hass" avocado buds: Effects on inflorescence type, number and rate of development. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 74 (1): 69-73.

SALISBURY, F. B. y ROSS, C. W. 1994. Fisiología vegetal. 4ªed. México, Iberoamérica. 759 p.

SCHROEDER, C. A. 1979. Etiolation and avocado bud elongation in vitro. *California Avocado Society Yearbook* 63: 86-89.

TAIZ, L. and ZEIGER, E. 1998. Plant physiology. Sinauer Associates, Inc., publishers. Massachusetts, EE.UU.. 792 p.

WEAVER, R. 1980. Reguladores del crecimiento de las plantas en la agricultura. México, D. F. Editorial Trillas 622 p.