

# **INTRODUCCIÓN**

## ANTECEDENTES

De acuerdo con un informe de la Agencia Agraria de Noticias (2023), el consumo de paltas a nivel mundial ha ido en constante aumento durante los últimos años, posicionando a la variedad Hass como una de las preferidas, impulsada en parte por cambios en los hábitos alimenticios hacia productos más saludables, por otra parte, los mercados se han estado familiarizando más con esta especie. Siendo popular por su sabor, numerosos beneficios para la salud y diversos tipos de preparación.

Propagación de portainjertos: En Chile se han estandarizado protocolos para la clonación de portainjertos específicos (como Duke 7) demostrando la uniformidad lograda *in vitro* se traduce en huertos con producción hasta un 30 % más homogéneas en comparación con patrones de semilla.

En el contexto a nivel nacional, la documentación científica sobre biotecnología aplicada a la palta es escasa.

### Situación de los viveros en Tarija

La producción de palta en los valles de Tarija se basa históricamente en métodos de injerto convencional sobre patrones de semilla (criollos). Informes técnicos del SEDAG (Servicio Departamental Agropecuario) mencionan la vulnerabilidad de estos patrones ante enfermedades como la “Tristeza de palto” (*Phytophthora cinnamomi*), pero no se reportan el uso de herramientas biotecnológicas para mitigar este riesgo.

La micropropagación de aguacate se hace por medio de meristemos axilares con el fin de clonar plantas para tener producciones más homogéneas en producción, adaptación a condiciones climáticas y del suelo (Bernal y Díaz, 2008).

Para la producción comercial es indispensable tener uniformidad genética en los cultivos y es necesario investigar más a fondo el tema de propagación del aguacate con el fin de llegar a tener uniformidad genética en las plantaciones y así mismo acortar el tiempo de establecimiento de patrones comerciales propagándolos masivamente (Lavarie, 2013).

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La palta (*Persea americana* Mill.) se ha consolidado como uno de los productos frutícolas de mayor importancia a nivel mundial, debido principalmente a su valor nutritivo y su creciente demanda en los mercados internacionales.

En Bolivia la producción de palta, ha cobrado una relevancia económica creciente, especialmente con la expansión de variedades comerciales como la Has, Ettinger y Bacon. Sin embargo, el sector enfrenta limitaciones críticas.

- Escasez de material genético certificado: la mayoría de los productores dependen de semillas de procedencia desconocida, lo que genera una alta variabilidad genética y dificulta la estandarización de la producción.
- Problemas fitosanitarios: enfermedades como la pudrición de la raíz causada por *Phytophthora cinnamomi* afectan severamente el rendimiento y la vida útil de las plantaciones.
- Limitaciones de la propagación tradicional: la propagación por semilla es lenta y no garantiza la clonación de las características de la “planta madre”, lo que hace que la micropropagación *in vitro* es una alternativa estratégica necesaria para producir plantas uniformes, libres de patógenos a gran escala.

## JUSTIFICACIÓN

La implementación de nuevas variedades de palta en Tarija requiere patrones de portainjertos confiables que aseguren la adaptación y productividad del cultivo. Sin embargo, los métodos tradicionales de propagación no garantizan uniformidad ni sanidad, lo que limita la disponibilidad de portainjertos de calidad.

En países vecinos se han desarrollado protocolos de cultivo *in vitro* para palta, pero en Bolivia no existe antecedentes documentados. Esta carencia tecnológica impide contar con una herramienta moderna para la producción de portainjertos, lo que retrasa la innovación en viveros y la expansión ordenada del cultivo en zonas con alto potencial productivo.

Surge entonces la necesidad de evaluar el comportamiento de palta en diferentes medios de cultivo durante la fase de establecimiento *in vitro*, con el objetivo de

identificar condiciones óptimas que permitan iniciar procesos de multiplicación de patrones de portainjertos. Esto contribuirá directamente a la implementación de nuevas variedades en Tarija y al fortalecimiento de la producción nacional del país.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

Evaluar el comportamiento *in vitro* de la palta (*Persea americana* Mill. Var. Anisada) en tres medios de cultivo durante la fase de establecimiento, en el Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro* de la F.C.A. y F.

### **Objetivos específicos**

- Determinar la eficacia de dos métodos de desinfección de explantes de palta (*Persea americana* Mill. Var. Anisada)
- Evaluar el efecto de 3 medios de cultivo de inicio en la regeneración *in vitro* de explantes de palta (*P. americana* Mill. Var. Anisada)

## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis de investigación**

En el establecimiento *in vitro* de la palta (*Persea americana* Mill. Var. Anisada) al menos uno de los tratamientos provoca un porcentaje de regeneración diferente.

### **Hipótesis Nula**

En el establecimiento *in vitro* de la palta (*Persea americana* Mill. Var. Anisada) ninguno de los tratamientos provoca un porcentaje de regeneración diferente.

# **CAPÍTULO I**

## **REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA**

## **Capítulo I: MARCO TEÓRICO**

### **1.1. ORIGEN**

La palta (*Persea americana* Mill), denominada, también aguacate en México y Centro América. Mientras que, en Bolivia y países de América del Sur, se la conoce con el nombre de palta, y Avocado pear en inglés. El nombre de aguacate deriva de la palabra nativa azteca: ahuacatl = testículo y cuahuatl = árbol: árbol de los testículos. A partir de las pruebas arqueológicas encontradas en Tehuacan, México, se la considera como centro de origen norte de México y regiones tropicales de Centro América, desde estos lugares se extendió a Sud América y Norte América (Acosta, 2016).

En Bolivia la palta (género *Persea*) pertenece a la familia de árboles perennifolios (Lauraceae), está distribuido principalmente en la zona tropicales, parece que ecosistemas característicos del chaco boliviano, valles Mesotérmicos y los Yungas favorecen el crecimiento, y la producción de palta. Por lo que, se encuentra poblaciones de palta en los valles de Tarija, hasta 2100 msnm de altura, las especies de los valles aparentemente cargan menos frutos por planta y de menor tamaño. (Acosta, 2016)

### **1.2.IMPORTANCIA DEL CULTIVO**

El aguacate es un cultivo de gran importancia en el comercio agrícola internacional, con flujos comerciales significativos entre diversos países. Entre las naciones que experimentan los mayores flujos comerciales de aguacate se encuentran México, líder mundial en la producción y exportación de esta fruta, seguido de cerca por países como Estados Unidos, que es tanto un importante productor como un consumidor clave de aguacate. Además, otros países latinoamericanos como Chile, Perú y Colombia también tienen una participación destacada en el mercado internacional del aguacate, contribuyendo a su dinámica comercial global. Estas naciones representan un entorno favorable para la producción y el comercio del aguacate, y su intercambio comercial impulsa la disponibilidad y la demanda de esta popular fruta en todo el mundo (Olmo, 2026).

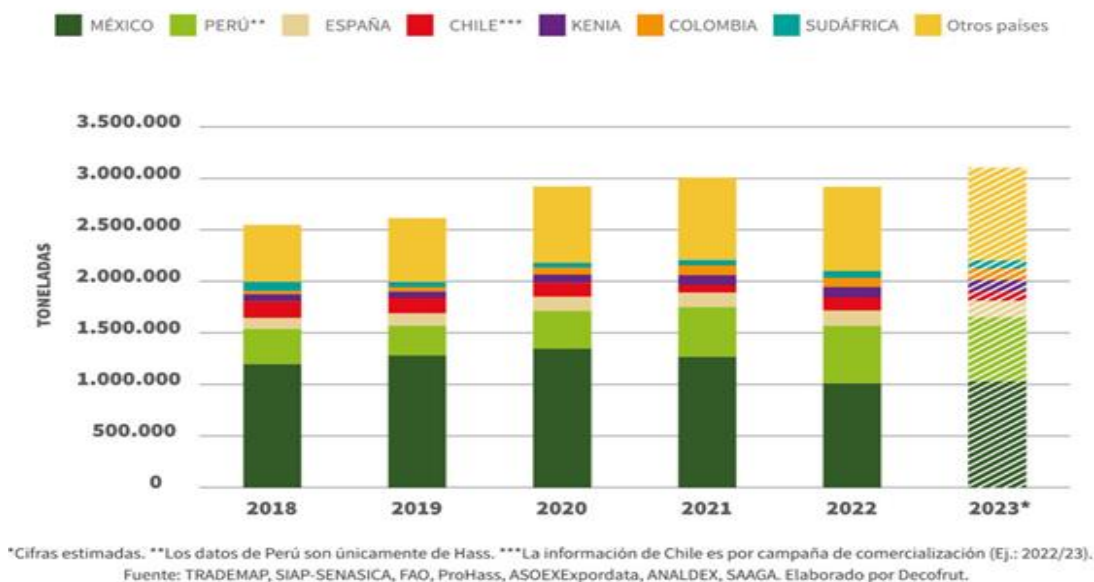
### 1.3.PRODUCCIÓN MUNDIAL

(Agraria.pe) En los últimos años, la preferencia por frutas como la palta, el arándano y la cereza ha mostrado un crecimiento constante. La palta, en particular, se perfila como la fruta tropical de mayor movimiento comercial a nivel global. Se estima que hacia el 2030 la producción mundial superará los 12 millones de toneladas, y un tercio de ese volumen se destinará a exportaciones.

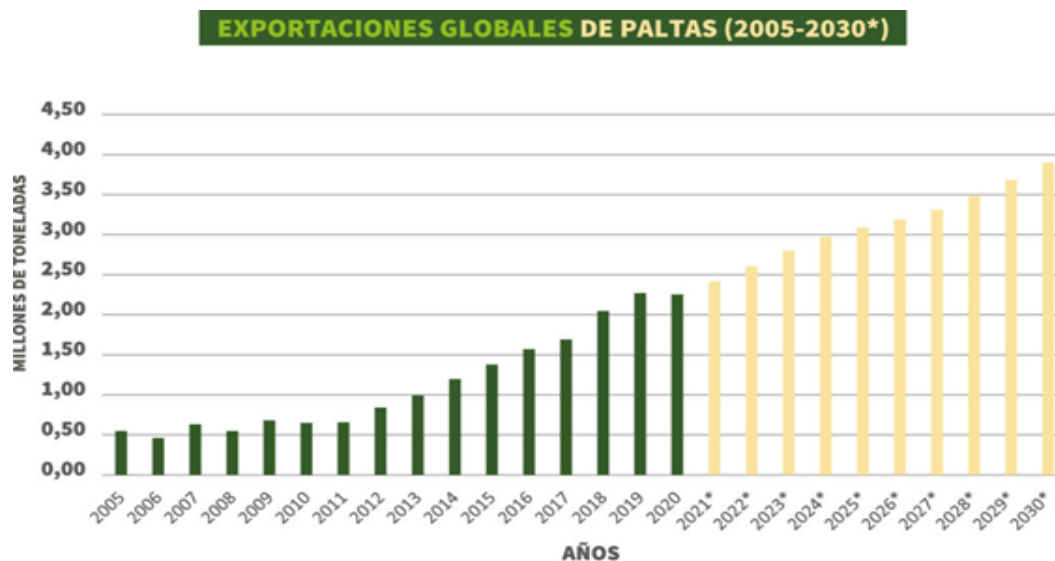
México sigue al frente como principal proveedor internacional, con envíos de valores muy superiores a los del Perú. Aunque ambos países dominan el comercio global, juntos representan la mitad del total exportado. (AgrariaPe, 2025)

Actualmente, el negocio de la palta genera cerca de US\$ 10.000 millones al año, con gran demanda en Estados Unidos y Europa, y una expansión progresiva al Asia y Medio Oriente. (AgrariaPe, 2025)

**Figura 1:** Principales países exportadores de palta (*Persea americana* Mill) 2018-2023.



**Figura 2:** Exportaciones globales de palta (*Persea americana* Mill) 2005-2030



**Fuente:** FAO (2021).

#### 1.4.PRODUCCIÓN DE PALTA EN BOLIVIA

La producción de palta en Bolivia es baja, concentrándose principalmente en regiones de La Paz (Yungas), Cochabamba, zonas orientales Beni, Pando, Santa Cruz (el cultivo de palta tiene éxito en localidades como Saipina, Samaipata, Mairana, El Torno, Limoncito, Yapacaní y Warnes, y actualmente se están investigando nuevas oportunidades en Cuatro Cañadas y Charagua).

Con respecto al rendimiento, Soliz destacó que se está llevando a cabo una evaluación, sin embargo, algunos clientes reportan una producción que oscila entre 3 a 4 años, con un rendimiento de 15 toneladas por hectárea, siempre que se efectúe una adecuada gestión del cultivo. (Soliz, 2023)

Tal como indica Soliz (2023), una de las principales innovaciones de Viveros Agrovalle es el desarrollo de productos exclusivos para la palta, destacando que se están trayendo portainjertos de alta calidad que son resistentes a *Phytophthora* y a la salinidad, además de investigar nuevos patrones. El principal obstáculo en el cultivo de palta radica en la gestión adecuada, ya que muchos productores aún no cuentan con el conocimiento necesario para maximizar su producción. A pesar de las dificultades en

la gestión del cultivo, los productores creen firmemente que la palta sigue siendo una opción muy rentable.

En Tarija, principalmente en las zonas tropicales Triangulo de Bermejo, zonas del chaco, Padcaya, provincia Méndez.

#### 1.4.1. Producción y rendimiento de Palto, año Agrícola 2024 - Bolivia

**Tabla 1:** *Datos de producción y rendimiento de palta a nivel nacional en Bolivia*

| Departamento      | Producción Tm | Superficie ha | Rendimiento Tm/ha |
|-------------------|---------------|---------------|-------------------|
| <b>LA PAZ</b>     | 7.176         | 1.464         | 4,90              |
| <b>COCHABAMBA</b> | 3.169         | 520           | 6,10              |
| <b>SANTA CRUZ</b> | 1.282         | 161           | 7,98              |
| <b>BENI</b>       | 522           | 72            | 7,24              |
| <b>CHUQUISACA</b> | 154           | 25            | 6,06              |
| <b>PANDO</b>      | 135           | 27            | 5,07              |
| <b>TARIJA</b>     | 78            | 35            | 2,21              |
| <b>POTOSI</b>     | 7             | 1             | 7,10              |
| <b>Total</b>      | <b>12.523</b> | <b>2.321</b>  | <b>5,43</b>       |

**Fuente:** (MDRyT, Elaboración DAPRO, 2024)

#### 1.5.PRODUCCIÓN DEPARTAMENTAL

Según Agosta Arce (2016), también en Bolivia, se encuentra poblaciones de palta en los valles de Tarija, hasta 2100 msnm de altura, las especies de los valles aparentemente cargan menos frutos por planta y de menor tamaño, pero son más preferidas sus frutos por las características organolépticas y culinarias, aparentemente los ecosistemas de altura provén mejores fragancias de los sabores en la fruta. En los valles meso térmicos de Tarija y las zonas del chaco se encuentran las mayores poblaciones de plantas de palta, es común encontrar de 1 a 3 plantas en el patio de la casa, en producción.

Principales zonas productoras de palta en Tarija: Yacuiba, triangulo de Bermejo (la Merced, Rio Negro, etc). Otras zonas como Padcaya, Entre Ríos, Carapari, Villa Montes, San Josecito, Alto de Cajas, Rio Pilaya.

### 1.5.1. Producción departamental de plantines certificados

**Tabla 2:** *Tarija producción de plantines de palto 2023-2024.*

| 2023       |                  | 2024       |                  |
|------------|------------------|------------|------------------|
| Variedades | N°- de plantines | Variedades | N°- de plantines |
| ETTINGER   | 600              | HASS       | 16.125           |
| FUERTE     | 2.648            | FUERTE     | 6.245            |
| HASS       | 14.793           | SANTA ANA  | 500              |
| TONNAGE    | 1.180            | BOTH 08    | 500              |
| TORREZ     | 1.180            | LAMB HASS  | 1.320            |
| TOTAL      | 20.401           | TOTAL      | 24.690           |

Fuente: INIAF (2025)

### 1.6.TAXONOMÍA

**Tabla 3:** *Taxonomía*

|                          |                              |
|--------------------------|------------------------------|
| <b>Reino</b>             | Vegetal.                     |
| <b>Phylum</b>            | Teleomorphytae.              |
| <b>División</b>          | Tracheomorphytae.            |
| <b>Sud división</b>      | Tracheomorphytae             |
| <b>Clase</b>             | Angiospermae.                |
| <b>Subclase</b>          | Dicotyledoneae               |
| <b>Grado Evolutivo</b>   | Ramales Archichlamydeae.     |
| <b>Grupo de Ordenes</b>  | Corolinos.                   |
| <b>Orden</b>             | Ranales o Policarpales.      |
| <b>Familia</b>           | Lauraceae.                   |
| <b>Nombre Científico</b> | <i>Persea americana Mill</i> |
| <b>Nombres Común</b>     | <i>Palto</i>                 |

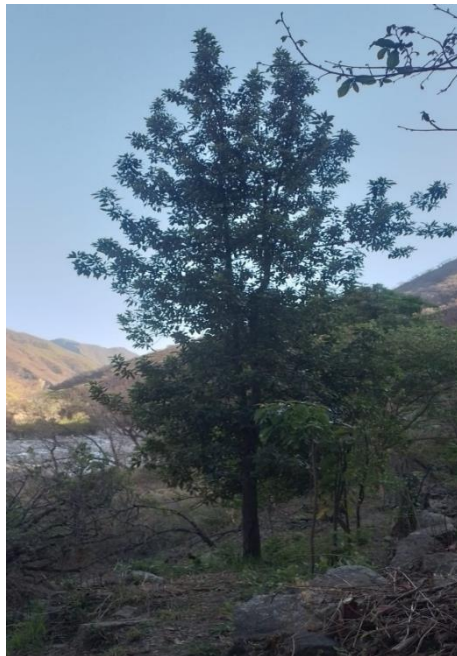
Fuente: (Herbario Universitario (T.B.), 2025)

### 1.7.DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El aguacate o palta es el fruto del aguacatero (*persea americana*), un árbol de la familia de las Lauraceas, a la que pertenecen especies tan conocidas como el laurel, la canela o el alcanforero (*Laurus camphora*).

En estado silvestre, el árbol puede alcanzar alturas de alrededor de 20 m, más comúnmente entre 8 y 12 m, y un diámetro a la altura del pecho de 30-60 cm, con tronco erecto o torcido. Los árboles en plantación, generalmente derivados de injertos y sujetos a podas de formación, muestran una apariencia muy distinta. Copa: extendida, globulosa o acampanulada, con ramas bajas, ramas jóvenes al principio, de color verde amarillento, que después se tornan opacas y con cicatrices prominentes dejadas por las hojas. Corteza: áspera, a veces surcada longitudinalmente (Jardín Botánico Prof. Eugenio de Js. Marcano, s.f.)

**Figura 3:** *Planta joven de palta o aguacate*



**Fuente:** Elaboración propia.

## 1.8.CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS

### a) Raíz

Las raíces de la palta generalmente son superficiales, profundidad alcanzada de 1 a 1.5 m; en suelos sueltos puede ser mayor, se caracteriza por tener muy pocos pelos absorbentes, la absorción de agua y nutrimentos se realiza principalmente en las puntas de las raíces a través de los 4 tejidos primarios; esto determina la susceptibilidad del árbol al exceso de humedad que induce a la asfixia y ataques de hongos que pudren los tejidos radiculares. Se ha encontrado una alta asociación simbiótica de esta especie con hongos endomicorrízicos arbusculares las cuales facilitan la absorción de todos los elementos minerales, pero sobre todo los de baja movilidad en el suelo como fósforo, cobre y zinc (Mamani, 2019, p. 5).

### b) Tallo

El aguacate es una planta leñosa de tronco erecto que puede alcanzar alturas de 8 a 12 metros; sin embargo, en árboles provenientes de semilla y longevos, las alturas podrían ser mayores. Las ramas son gruesas, de madera liviana y en ciertas variedades tienden a desarrollar una curvatura hacia el suelo (Mamani, 2025).

**Yemas:** Las hay apicales y axilares, las yemas axilares permanecen latentes o en ocasiones cuando se cosecha el aguacate se activan algunas dando origen a una nueva rama lateral, en otras ocasiones no se activan y se desprenden, por esta razón el principal medio de crecimiento, desarrollo y producción del aguacate son las yemas apicales. Thomas Davenport, dice que en un momento determinado las yemas en el aguacate son todas iguales, y en el momento del cambio hormonal promovido por bajas de temperatura y estrés hídrico, unas yemas se activan y son finalmente las yemas reproductivas ó loralbbes, por esto igual puede haber racimos terminales (apicales) o axilares. Las yemas loraes se diferencian porque adquieren una coloración café y se hinchan o embuchan dando lugar a las inflorescencias (Vélez, 2025).

### c) Hojas

Están dispuestas de forma alterna. Son pedunculadas, muy brillantes, de forma lanceolada, con base aguda, margen entero y ápice agudo. El color de las hojas maduras es verde mate, el peciolo presenta estrías o surcos y el relieve de la venación por el haz es intermedio, usualmente levantado. Cuando jóvenes presentan un color rojizo (contenido de pigmentos en las vacuolas) y una epidermis pubescente; pero maduras, el haz es verde oscuro y con brillo escaso, el envés glauco y opaco, al principio densamente pubescente en ambas caras, después glabras, pinatinervadas, con 4-10 pares de nervaduras laterales. Peciolo largo, semicilíndrico, al principio poco pubescente, de 1.5 a 5 cm de largo (Mamani, 2019, p. 6).

### d) Flor

Las flores son hermafroditas, actinomorfas, de color verde amarillento y de un diámetro aproximado de 1 cm. La inflorescencia es una panícula (racimo de racimo) que puede ser axilar o terminal (Instituto Tecnológico José Luis San Juan García, s.f., p. 1).

Se desarrollan inflorescencias en racimos axilares, las flores se presentan en grandes cantidades, insertadas cerca de la base del brote nuevo; raquis cilíndrico o comprimido, densamente pubescente con numerosas brácteas oblongas, lanceoladas de colores verde amarillento; pubescentes cortas y fugaces. Flores 5 pequeñas, verdosas, hermafroditas, densamente pubescente, pedicelos cortos (Mamani, 2019, p. 6).

Alguna de las variedades efectúa su primera abertura en horas de la mañana, mientras otras lo hacen en la tarde. Por ello se las divide en dos grupos de acuerdo al mecanismo de apertura:

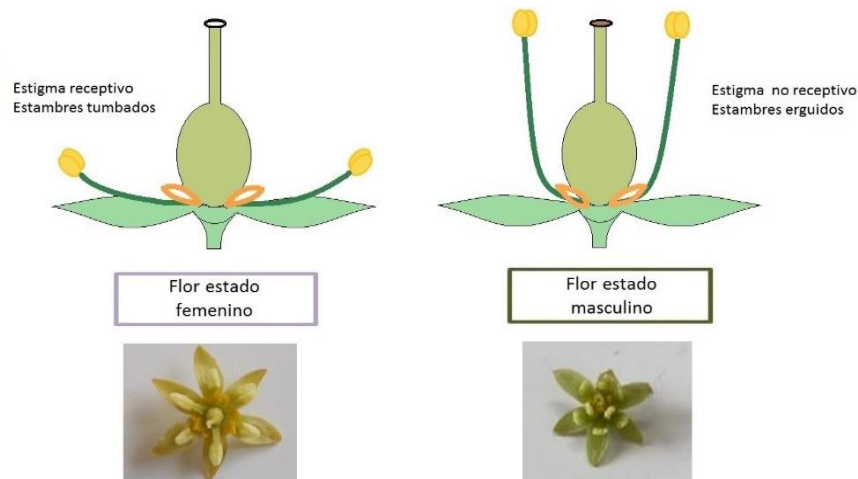
**Grupo A:** La flor formada permanece cerrada para abrirse el primer día por la mañana, estando receptivo el órgano femenino, pero el masculino permanece en un estado indehiscente. Por la tarde la flor se cierra, continuando así hasta la noche. Al segundo día, las flores A aún continúan cerradas por la mañana abriéndose por la tarde, pero con el gineceo no receptivo y los estambres en su forma dehiscente. (Studocu, 2025).

**Grupo B:** Después de su formación en el primer día, la apertura se realiza por la tarde con los estigmas receptivos. Por la noche las flores permanecen cerradas y se abren al segundo día por la mañana con los estambres dehiscente, pero no así el gineceo. (Studocu, 2025).

La sincronización dicogámica es mayor en las flores tipo A respecto a las del tipo B; las primeras abarcan desde la mañana del primer día a la tarde hasta la tarde del segundo, en cambio las Llores del tipo B, lo hacen desde la tarde del primer día hasta la mañana del segundo día.

Las flores del tipo A solo son fecundadas por el polen de las flores tipo B, coincidiendo la apertura del primer día de la flor A por la mañana, con la apertura del segundo día de la flor tipo B, que también es por la mañana; en este caso se complementan un óvulo receptivo A con el polen fértil B (Studocu, 2025).

**Figura 4:** *Flor de palta o aguacate.*



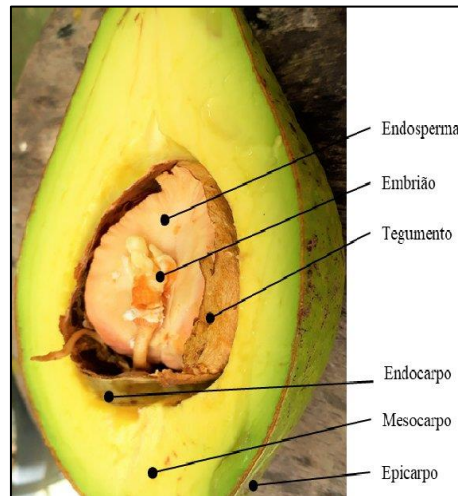
**Fuente:** (Sanchez, 2025)

### e) Fruto

Es una baya con una única semilla. Las formas (obovado, esferoide, piriforme, claviforme entre otros) color de la cáscara a la madurez (rojo, púrpura, verde, amarilla, negra o intermedias de las anteriores) y corteza del fruto (lisa, rugosa, muy fina,

surcada, delgada, intermedia o gruesa) son todas muchas variedades se presentan tonalidades rojizas cuando jóvenes que vira al verde más o menos opaco a la madurez (Alayon Luaces & Ibran, 2025, pág. 4).

**Figura 5:** *Fruto del palto*

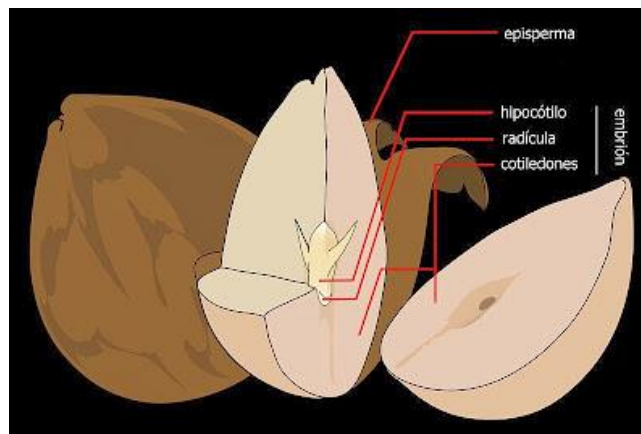


**Nota:** *La imagen esquemática de un fruto muestra principalmente el pericarpio (formado por epicarpio/piel, mesocarpo/ pulpa y endocarpo/ capa interna) y la semilla (Santana, 2019).*

#### **f) Semilla**

El aguacate está constituido por una sola semilla (por ser una planta monovular). Las semillas están formadas por dos cotiledones (dicotiledónea) y un solo embrión (monoembrionica); no obstante, algunas veces da la impresión de que se desarrollan varios embriones, aunque no sean más que brotes que germinan de las yemas axilares que se encuentran en un principio rudimentario en las axilas de las escamas y hojas del embrión (Tito , 2018).

**Figura 6:** *Partes de la semilla de Palto*



*Nota: Es un esquema ilustrado que muestra las partes internas de la semilla, destacando el embrión visible y sus componentes visibles (Blogtecnos , 2014).*

### 1.9.REQUERIMIENTOS CLIMÁTICOS Y EDÁFICOS

- **Altitud:** El palto puede cultivarse desde el nivel del mar hasta los 2700 msnm, sin embargo; su cultivo es recomendable en altitudes entre 800 – 2500 (IDMA, 2023).
- **Temperatura:** En cuanto a la temperatura se considera que, entre los 17°C y 24°C, siendo ideal alrededor de los 20°C, sin embargo, las variedades tienen un comportamiento diferente de acuerdo a la raza. La raza antillana es poco resistente al frío, mientras que las variedades de raza guatemalteca son más resistentes y las mexicanas las que presentan la mayor tolerancia al frío.
- **Humedad:** El exceso de humedad relativa puede ocasionar el desarrollo de algas y líquenes sobre el tallo, ramas y hojas, además de desarrollarse enfermedades fúngicas que afectan el follaje, la floración y el desarrollo de los frutos debilitando al árbol (IDMA, 2023).
- **Vientos:** Los vientos fuertes son desfavorables para los paltos, pueden producir ruptura de ramas. Caída de frutos cuando estos están pequeños incluso producir manchas y/o raspaduras en los frutos. En estos casos es indispensable contar con plantas rompe vientos, para atenuar el efecto de los fuertes vientos (IDMA, 2023).

- **Suelos:** Los suelos más recomendados son los de textura ligera, profundos bien drenados con un pH neutro o ligeramente ácidos o ligeramente ácidos (5,5 a 7), pero puede cultivarse en suelos arcillosos o franco arcillosos siempre que exista un buen drenaje, pues el exceso de humedad propicia un medio adecuado para el desarrollo de enfermedades de la raíz, fisiológicas como la asfixia radical.

## 1.10. VARIEDADES COMERCIALES DE PALTA

### i) Variedad Ettinger

El aguacate Ettinger es una variedad de alto rendimiento, muy valorada en plantaciones profesionales como **excelente polinizador de Hass**. Presenta un **porte erecto y vigoroso**, ideal para optimizar el espacio en cultivo, y cuenta con una destacada **tolerancia al ácaro cristalino**, lo que lo hace más resistente en zonas propensas a esta plaga (Viveros Axarplant, 2025).

El fruto tiene una forma periforme característica, con piel muy delgada y verde brillante, salpicada de puntos amarillos y con una textura ligeramente rugosa. Su tamaño es mediano (200–400 g) y posee una semilla de tamaño medio, lo que permite un aprovechamiento de pulpa del 75–90%. La calidad gustativa de la pulpa es excelente, ideal para consumo fresco, aunque su vida útil en el árbol es corta, se compensa con una gran capacidad de almacenaje tras la recolección (Viveros Axarplant, 2025).

### ii) Variedad Fuerte

(Barragán 1999 citado por Carranza, 2016) hace mención que el:

**Origen:** La variedad fuerte resultó de una cruce de la raza guatemalteca con la mexicana, se originó en Atlixco, Puebla, famosa desde la antigüedad por la producción de la palta. Se introdujo en Estados Unidos en 1911, convirtiéndose en una de las primeras variedades cultivadas en huertas de producción intensiva.

**Características:** Puede producir de 1 000 – 1 500 frutos cada diez años, es la de mayor producción después de la Hass. La drupa es piriforme, tiene un peso de 180 a 300 g, la epidermis es flexible y elástica, de color verde sin brillo, su calidad y resistencia al

transporte la ubica como una de las más difundidas en América y Europa (Carranza, 2016).

### iii) **Variedad Hass**

El aguacate Hass es la variedad más cultivada y consumida mundialmente, destacando por su sabor, textura, beneficios para la salud y su historia única.

Su piel rugosa, resistencia postcosecha y alto contenido en grasas saludables lo hacen especial frente a otras variedades (JARDINERIA ON , 2025)

El aguacate Hass es un híbrido natural entre la raza mexicana y la guatemalteca. Se diferencia del resto por:

- **Piel rugosa y gruesa**, que permite mayor duración postcosecha y resistencia al transporte.
- **Cambio de color al madurar**, de verde oscuro a negro-violeta.
- **Textura cremosa y poco fibrosa**, ideal para todo tipo de preparaciones.
- **Sabor intenso y aroma característico** con notas a frutos secos (JARDINERIA ON , 2025).

### iv) **Variedad Torres**

La palta Torres es una variedad argentina desarrollada en Tucumán, caracterizada por su gran tamaño, pulpa cremosa y sabor agradable, y es una de las variedades tardías, cuya cosecha se da entre agosto y diciembre. Al madurar, su piel cambia de verde a un color negro o morado oscuro, es entre lisa y rugosa, y el fruto puede llegar a ser muy grande, aunque a veces es periforme u ovalada (La Huertina Garden 2026).

Fruta de forma piriforme color verde, peso promedio de 600g, cascara gruesa y lisa, pulpa de color amarillo, contenido de grasa 5%.

### v) **Variedad Bth 08**

Variedad Guatemalteco x antillano, se adapta bien en climas cálidos y medios, con fructificaciones abundantes en ramillete. Los frutos son de buena calidad con 12% de

grasa y 430 gramos por fruto. Los árboles son vigorosos y exigentes en nutrición. Se cultiva en una densidad entre 204 y 278 árboles por hectárea. Ideal como polinizante de otras variedades que se cultiven cerca (PROAGROCAFE, 2017)

vi) **Variedad Lamb Hass**

Es muy similar a la palta Hass, pero a diferencia de esta última es más ancha y su color de piel se torna negro en su madurez. También es de mayor tamaño que la Hass y su recolección suele tardar más tiempo. Otro aspecto que la diferencia es su mayor capacidad de tolerar vientos y altas temperaturas

## **1.11. LABORES CULTURALES**

### **1.11.1. Preparación del suelo**

La preparación del terreno depende la topografía y de la vegetación existente. Si el terreno es plano y ha sido cultivado previamente, no necesita preparación, solo se marca y se hacen hoyos con 60 cm de diámetro y 50 a 60 cm de profundidad. Si es plano, pero tiene malas hierbas, debe aplicar previamente algún herbicida y posteriormente arar y rastrear. Posteriormente se hace el marcaje que puede ser un cuadro real, tresbolillo y otros (Sfarcich, 2024).

### **1.11.2. Marcos de plantación**

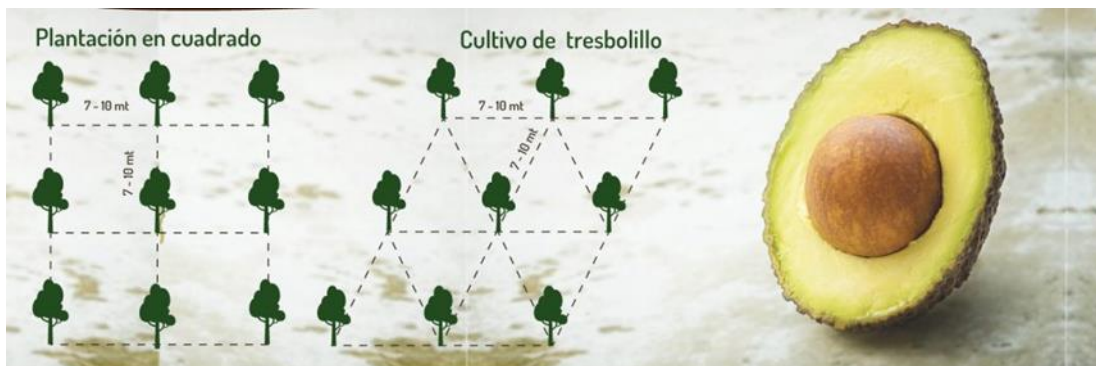
Los marcos de plantación podemos definirlo como el arte de organizar el establecimiento de una nueva plantación para que, independientemente del marco que se elija, conseguir que las líneas formadas por las nuevas plantas en el terreno estén todas a la misma distancia y para que desde cualquier punto que se mire formen líneas rectas, facilitando así el aprovechamiento del terreno y las labores posteriores que es preciso realizar en las plantaciones, además de obtener un conjunto estético agradable (Sfarcich, 2026).

- **Marco real.**

En el marco real, o el cuadrado, las plantas, una vez colocadas en el terreno, ocupan cada una el vértice del ángulo de un cuadrado, por lo que la distancia entre plantas y

entre las filas formadas, siempre es la misma, o sea, la del marco elegido. Por este sistema de marcos de plantación, las labores culturales pueden darse, por igual, en dos direcciones perpendiculares (Infoagronomo, 2026)

**Figura 7:** Marco de plantación del palto



Fuente: (Infoagronomo, 2026)

- **Marco en calles (rectangular).**

En el sistema de calles las plantas ocupan, en el terreno, cada uno de los vértices de los ángulos de un cuadrilátero rectángulo. El lado menor de este rectángulo es lo que se denomina «distancia entre plantas»; el mayor, «distancia entre filas», que son, evidentemente, distintas. (Infoagronomo, 2026)

- **Sexagonal o Tresbolillo.**

Por el sistema de marqueo al tresbolillo, las plantas ocupan en el terreno cada uno de los vértices de un triángulo equilátero, guardando siempre la misma distancia entre plantas. (Infoagronomo, 2026)

A continuación, se presentan las distancias entre plantas en ambos sistemas de plantación, así como el número de árboles por hectárea en cada uno de ellos. La distancia más adecuada para cualquier variedad, incluyendo el criollo regional, es de 10 por 10 metros (AGRONOTIPS, 2019)

- Distancia entre árboles (metros) 8 x 8
- Número de árboles por hectárea Marco real: 156 Tresbolillo: 179

- Distancia entre árboles (metros) 9 x 9
  - Número de árboles por hectárea Marco real: 123 Tresbolillo: 141
  - Distancia entre árboles (metros) 10 x 10
  - Número de árboles por hectárea Marco real: 100 Tresbolillo: 115
  - Distancia entre árboles (metros) 11 x 11
  - Número de árboles por hectárea Marco real: 82 Tresbolillo: 95
  - Distancia entre árboles (metros) 12 x 12
  - Número de árboles por hectárea Marco real: 69 Tresbolillo: 79
- (AGRONOTIPS, 2019).

### **1.11.3. Poda**

La poda persigue distintos objetivos, el primero de ellos es establecer una estructura de copa en las primeras etapas de desarrollo. Posteriormente se realizará para controlar el tamaño de los árboles, la cual debe permitir el manejo eficiente de la plantación (Caspita, 2023).

#### **a) Época de poda**

La mejor época para realizar esta práctica es inmediatamente después de la cosecha, debido a que el árbol dispone de mayor tiempo para la maduración de los nuevos brotes, permitiendo que cuando existan las condiciones inductivas, los brotes puedan florecer por otra parte la poda tardía retrasa e inhibe parcial o totalmente de floración (Caspita, 2023).

#### **b) Poda de formación**

Se eliminan solo las ramas que favorezcan enfermedades o crecimiento excesivo

#### **c) Poda de apertura foliar “ventaneo”**

Cortar ramas verticales para permitir la luz y ventilación de árboles adultos.

#### **d) Poda de rejuvenecimiento**

Se realiza en arboles viejos en donde la producción ha descendido drásticamente, se corta el árbol a una altura de 1 a 1.50 m (corte inclinado), se deja brotar y posteriormente se va formando, el tronco debe protegerse contra la quemadura del sol, el objetivo es tener el árbol completamente sano (Gerencia Nacional de Agricultura, 2023)

#### **e) Poda de limpieza**

Se realiza después de cada campaña. Consiste en cortar las ramas enfermas, ramas secas por diversos motivos (ataque de plagas o enfermedades, heladas o sequias) y ramas que han producido poco en la campaña anterior. (Gerencia Nacional de Agricultura, 2023)

#### **1.11.4. Practica de anillado**

Es una técnica para evitar la alternancia productiva en algunas variedades de palto que se presentan, como Fuerte Booth 7 y Booth 8, consiste en hacer una incisión en la parte exterior de la rama y alrededor de la misma (Sfarcich, 2024).

El anillado promueve:

- El aumento de la diferenciación de yemas florales
- La aceleración de la floración
- El aumento de fructificación
- Mayor crecimiento de los frutos en formación, incrementando sus probabilidades de llegar a la final de la cosecha.
- El mayor tamaño de fruto. (Sfarcich, 2024).

#### **1.11.5. Aclareo de flores y frutos**

Se realiza para atenuar con corregir los problemas de alternancia productiva. Se ralean flores y frutos para permitir una producción adecuada que no supere la capacidad de

alimentación que pueda dar la planta. El raleo de flores se practica en plena floración (Sfarcich, 2024).

#### **1.11.6. Riego**

El palto tiene necesidad de tener el terreno constantemente húmedo, pero no saturado de agua. En el riego del palto no es necesario tener una elevada uniformidad de riego, en el sentido de que, sobre todo en los primeros años de la plantación, es suficiente humedecer el área del suelo bajo de que el sistema radicular se desarrolla (Sfarcich, 2024).

Hay que recordar que la gran masa radicular del palto se concentra en los primeros 60 cm de profundidad del suelo. El agua que sobrepasa esa profundidad puede considerarse prácticamente perdida (Sfarcich, 2026).

**Riego tradicional:** no inundar de agua o saturar el suelo, los riegos deben hacerse en forma circular en la proyección de la copa del árbol (Mamani, 2014).

Frecuencia de riego tradicional

- ✓ 1er riego cada 15 días en invierno
- ✓ 1er riego cada 7 días Octubre-diciembre

La frecuencia de riego superficial puede variar según la textura del suelo y retención del agua (Mamani, 2014).

#### **1.11.7. Fertilización**

Las aplicaciones de fertilizantes en aguacate se realizan 3 a 4 veces por año. Es importante una aplicación antes de la floración y otra durante la formación de frutos, siempre y cuando la humedad del suelo sea adecuada (INTA, 2023).

El Nitrógeno es el elemento más importante, seguido de Potasio y Fósforo. El Nitrógeno es el que más influye en el crecimiento y producción, el Fósforo es muy importante, especialmente en variedades que cargan profusamente y el Potasio es muy importante para los procesos fisiológicos de la planta (INTA, 2023).

## 1.12. PLAGAS Y ENFERMEDADES

### 1.12.1. Plagas

- **Mosca de la fruta (*Anastrepha spp.*)**

Provoca uno de los daños más severos, ya que las larvas se alimentan del interior del fruto, causando pudrición, deformaciones y caída prematura. Su control requiere trampas, monitoreo permanente y, cuando corresponde, aplicaciones químicas autorizadas (Publiagro, 2025).

- **Cochinilla o pulgón (*Coccus spp.* y *Pseudococcus spp.*)**

Estos insectos succionadores debilitan la planta al alimentarse de la savia de hojas y brotes. Además, favorecen el desarrollo de fumagina, lo que reduce la fotosíntesis. Su manejo combina control biológico y aplicaciones localizadas de insecticidas (Publiagro, 2025).

- **Trips (*Frankliniella spp.*)**

Afectan principalmente flores y frutos en formación, causando manchas, deformaciones y pérdida de calidad. Para su control se recomienda mantener el huerto limpio, eliminar malezas hospedantes y emplear insecticidas selectivos (Publiagro, 2025).

- **Gorgojos y picudos (*Conotrachelus spp.*)**

Su actividad perforadora deteriora la piel y pulpa del fruto, reduciendo su valor comercial. La detección temprana es clave para evitar daños extensos (Publiagro, 2025).

### 1.12.2. Enfermedades

- **Tristeza del palto (*Phytophthora cinnamomi*)**

Es una de las enfermedades más importantes causada por (*P. cinnamomi*), aunque también provocan tristeza (*P. citricola*, *P. cactorum*, *P. parasitica*, *P. palmivora*, *P. heveae*). El hongo causante ataca la base del tallo y lo coloniza totalmente, evita la

absorción de agua y su transporte al follaje, produce marchitez, secamiento y muerte repentina del árbol (Sfarcich, 2024).

Es más frecuente en sectores bajos, con exceso de humedad y/o suelos arcillosos con drenaje deficiente, (colaboran también en la aparición de la enfermedad pH levemente ácido y temperaturas de suelo elevadas) (Sfarcich, 2024).

- **Mancha negra o cercospora (*Cercospora purpura* Cooke).**

Ataca las hojas y produce lesiones pequeñas color marrón oscuro. Cuando el ataque es severo causa su caída quedando los árboles defoliados. En los frutos produce lesiones pequeñas, oscuras, de bordes irregulares y el resquebrajamiento de la corteza. Tanto las lesiones en las hojas como en el fruto facilitan la entrada para otros organismos como *Colletotrichum* (Sfarcich, 2024).

Para su combate se recomiendan aspersiones con fungicidas a base de cobre, como hidróxido de cobre, oxiclورو de cobre o sulfato de cobre, ya sea solos o mezclados con otros como clorotalonil, benomil, etc (Sfarcich, 2024).

- **Polvillo o mildiu (*Oidium* spp.)**

La enfermedad se presenta principalmente en épocas de poca lluvia. Inicialmente se manifiesta por la presencia del micelio blanco o grisáceo sobre las hojas y racimos de flores principalmente tiernas. Las hojas afectadas se deforman o arrugan y posteriormente aparecen en ellas manchas irregular color negro grisáceo (Sfarcich, 2024).

- **Mancha negra o antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides*)**

Esta enfermedad es bastante corriente en aguacate. Penetra por lesiones viejas causadas por *Cercospora* o mildiu, tanto en las hojas como en los frutos. Ataca a los frutos cuando casi están para cosechar, reventando su cáscara. Inicialmente se manifiesta con manchas redondas color marrón, paralelamente, el hongo produce una pudrición en la pulpa de fruto, que ocasiona un sabor desagradable y avanza hasta colonizar el hueso (Sfarcich, 2026).

- **Sarna o roña del fruto (*Sphaceloma persea*)**

Observada principalmente causando daños en la provincia de Tucumán. Los síntomas se dan sobre los frutos, ocasionando lesiones superficiales más o menos redondeadas y de aspecto corchoso, que no afecta la pulpa. los frutos pueden quedar pequeños, de mala calidad y las lesiones dan entrada a otros patógenos (Sfarcich, 2024).

### **1.13. COSECHA**

Momento de Cosecha: Se deben cosechar cuando han alcanzado su punto de madurez adecuado, lo cual garantiza que continúen su proceso de maduración (Tenorio , 2007).

Técnica de Recolección: Los frutos deben cortarse con tijeras o cuchillas especiales y no arrancarse, dejando un pedúnculo de aproximadamente 0,5 cm.

Índice de Madurez: El método más utilizado a nivel mundial para determinar la madurez es el contenido de materia seca.

Otros indicadores de madurez son:

- ✓ Tiempo de floración a cosecha
- ✓ Intensidad respiratoria
- ✓ Peso y forma Color
- ✓ Color del pedúnculo
- ✓ Porcentaje de aceite (Tenorio , 2007).

### **1.14. TIPOS DE PROPAGACIÓN EN PALTA**

#### **1.14.1. Propagación**

El aguacatero se puede propagar en forma sexual o por semilla o vegetativamente, por medio de estacas, injertos e *in vitro*. Las plantas de semilla como muchas otras especies, se utilizan en trabajos de mejoramiento, para jardines clónales y principalmente como porta injertos

### **1.14.2. Propagación y Selección de Portainjerto**

Para seleccionar un buen portainjerto se debe tener en cuenta factores como que sean de fácil propagación en viveros, resistente a enfermedades y plagas, debe ser compatible con la mayoría de las variedades de la especie, así como con otras especies, adaptarse fácilmente a diferentes suelos y climas (Carrasco, 2012).

### **1.14.3. Patrones Provenientes de Semilla**

#### **1.14.3.1. Patrón Variedad Zutano**

Portainjerto de la planta de Aguacate de la variedad Zutano. Es bastante tolerante al frío, llegando incluso a soportar temperaturas próximas a  $-3^{\circ}\text{C}$  durante periodos cortos de tiempo. Tiene una tolerancia media a la pudrición de raíces provocada por *Phytophthora* (Viveros Grajera, 2018).

Tiene mayor resistencia a salinidad que los patrones de origen mexicano (Topa-Topa, Mexicola, etc.). Por esta razón es el portainjerto más utilizado en algunas regiones australianas donde el agua es de mala calidad (Viveros Grajera, 2018).

#### **1.14.3.2. Variedad Anisada**

Muy buscada por sus bondades medicinales, aunque en la zona de Misiones hay cada vez menos árboles. Originaria de las especies de aguacates de Guatemala posee la virtud de bajar los valores de diabetes y los triglicéridos. La razón de que hay pocos árboles es de que su fruto es muy pequeño y se prefiere hoy día cultivar especies como Hass, Bacon y variedades brasileras por su tamaño (Jardín Tropical Eldorado, 2020).

El árbol mide entre 10 y 15 metros de altura generalmente, tiene una fruta similar a la palta común, pero de un tamaño que no supera los 5 centímetros, el nombre de anisada lo recibe ya que al moler las hojas entre los dedos deja un profundo aroma a ANIS (Jardín Tropical Eldorado, 2020).

#### **1.14.3.3. Patrón Ashdot**

El patrón de aguacate Ashdot, es de origen antillano (predominante), es un árbol vigoroso y resistente a suelos pesados. Sin embargo, es sensible a la cal. El patrón

Ashot presenta unas buenas producciones bajo condiciones salinas de suelo. (PubliAgro, 2023)

#### **1.14.3.4. Patrón Degania**

Tamaño de semilla: Mediana (aproximadamente 4-5 cm de diámetro)

Tiempo de germinación: 2-3 semanas

- ✓ **Crecimiento:** Árbol resistente y rápido crecimiento, adaptable a suelos bien drenados
- ✓ **Resistencia:** Alta resistencia a plagas y enfermedades comunes en cultivos de aguacate
- ✓ **Clima:** Ideal para climas cálidos y mediterráneos, tolera sequías moderadas
- ✓ **Patrón de Injerto Excepcional:** Al ser una planta robusta, es el patrón perfecto para injertar otras variedades de aguacate, mejorando la resistencia al estrés hídrico y enfermedades (VIVEROS TROPICALES DEL MUNDO, 2026).

#### **1.14.3.5. Patrones Fairchild:**

Estos patrones se adaptan a climas tropicales con una copa frondosa, resistente a suelos arcillosos (PUBLI agro, 2023).

#### **1.14.3.6. Patrones Tsriffin:**

Estos paltos se adaptan mejor a suelos más livianos, alta uniformidad de producción, sistema radicular desarrollado (PUBLI agro, 2023).

#### **1.14.4. Propagación sexual o por semilla**

La propagación sexual consiste en sembrar las semillas obtenidas de los frutos, resultantes de la fecundación entre células sexuales masculinas y femeninas de las plantas parentales. Este método produce variabilidad genética en la descendencia. (Portal Frutícola, 2025)

#### **1.14.5. Propagación asexual**

La propagación asexual es el método apropiado de propagar variedades seleccionadas para un huerto comercial, ya que los árboles injertados son uniformes en cuanto a

calidad, forma y tamaño de la fruta (Román, C. A., Serna Vásquez, J., & Rios Castaño, D. 2003).

La propagación asexual por estacas consiste en tomar una parte de la planta madre un fragmento vegetal, puede ser de tallo, raíz u hoja y someterla a ciertas condiciones ambientales favorables para inducir a la formación de raíces y tallos, obteniéndose de ellas una planta nueva, que en la mayoría de los casos es genéticamente idéntica a la planta madre. (Morales, 2019).

#### **1.14.6. Propagación por Injerto**

Se entiende por injerto, al traslado de una yema a la rama de una planta (patrón), donde ésta se inserta y se ata para fijarla y asegurar la condescendencia de los tejidos que deben quedar unidos al prender el injerto hecho. El propósito de un injerto es combinar el vigor (como por ejemplo la resistencia a las enfermedades y/o sequía) de una raíz (patrón), con el fruto, flor o follaje de interés ornamental y/o alimenticio de otra planta (Agrónomos, 2022).

Esta práctica es muy usada por que permite, conservar variedades que no pueden reproducirse por semilla, fortalece ejemplares frente a enfermedades y parásitos, adaptar especies a condiciones ambientales desfavorables, controlar el crecimiento de la planta (acelerarlo y reducirlo (Agrónomos, 2022).

#### **1.14.7. Propagación Clonal**

La propagación clonal o vegetativa es uno de los métodos de reproducción vegetal más importante para especies arbustivas de importancia económica, dentro de esta metodología existe el enraizamiento de estacas, empleadas ampliamente en la propagación comercial en invernadero de muchas plantas con flores y en forma común para propagar diversas especies de frutales (Morales, 2019).

#### **1.14.8. Propagación *in vitro* (micropropagación)**

El cultivo de células y tejidos vegetales “*in vitro*” se basa en la premisa de que células, tejidos y órganos vegetales se pueden separar y dirigir su desarrollo hasta plantas completas. Es una forma de propagación asexual (López, 2025).

El explante (porción de la planta) se cultiva asépticamente en un medio de composición química definida y se incuba en condiciones ambientales controladas (López, 2025).

Por otro lado, producir plantas libres de enfermedades y plagas en cualquier época del año involucra una técnica que requiere de mucho conocimiento. El cultivo *in vitro* es una técnica para el mejoramiento, ya que se producen plantas de calidad uniforme a escala comercial, a partir de un genotipo selecto y con una tasa de multiplicación ilimitada. Esto es posible gracias a la propiedad de totipotencia que tienen las células vegetales; es decir, la capacidad de regenerar una planta completa cuando están sujetas a estímulos adecuados

(Díaz de la Quintana, 2016; citado por Gaité, 2018) define que, de esta forma, las células somáticas de cualquier tejido podrían formar tallos, raíces o embriones somáticos de acuerdo con la competencia que posean y al estímulo que reciban. El cultivo de tejidos vegetales es una herramienta de la Biotecnología Vegetal que aísla partes de una planta y las hace crecer en medios de cultivo artificial *in vitro* en condiciones de asepsia para obtener metabolitos, tejidos, órganos o plantas 16 completas. (*In vitro* se refiere a plantas o partes de una planta cultivada dentro de un contenedor de vidrio) (Del latín in: Adentro; vitro: vidrio).

#### **1.15. Ventajas de la micropropagación**

- Incremento acelerado del número de plantas derivadas por genotipo.
- Posibilidad de multiplicar números grandes de plantas en espacios reducidos.
- Mayor control sobre la sanidad del material propagado facilidad de transporte del material.
- Posibilidad de multiplicar rápidamente una variedad de la cual se tienen pocos individuos.
- Ayuda a eliminar problemas sanitarios de difícil manejo: Virus, Bacterias.
- Facilita mecanismos de conservación en especies con semillas recalcitrantes (López, 2025).

La regeneración de especies leñosas por cultivo de tejidos presenta varias dificultades y el aguacate no es una excepción ya que ha demostrado ser altamente recalcitrante al cultivo *in vitro*, sin embargo, es necesario optimizar los protocolos para cada cultivar. Es preferible utilizar tejidos juveniles o rejuvenilizados a partir de tejidos adultos para conseguir resultados satisfactorios (Ramírez Rodas, 2021).

La micropropagación de aguacate está enfocada en propagar masivamente portainjertos de interés comercial, principalmente con resistencia a enfermedades transmitidas por el suelo, o tolerancia a condiciones de suelos salinos o calcáreos, así como para revitalizar material adulto que posteriormente podría multiplicarse por técnicas convencionales (Ramírez, 2021).

### **1.16. CULTIVO *IN VITRO***

La expresión cultivo *in vitro* de plantas, significa cultivar plantas dentro de un frasco de vidrio en un ambiente artificial. Esta forma de cultivar las plantas tiene dos características fundamentales: la asepsia (ausencia de gérmenes, etc.), y el control de los factores que afectan el crecimiento. El avance alcanzado por las ciencias biológicas ha permitido en los últimos años el estudio detallado de las plantas tanto a nivel celular como molecular, y en condiciones de laboratorio es posible actualmente reproducir todos los factores que puedan incidir en el crecimiento y desarrollo de las plantas. Este principio general se aplica también al cultivo *in vitro* de plantas. (Castillo, A. 2025).

### **1.17. FASES DE MICROPROPAGACION DE CULTIVO *IN VITRO***

#### **1.17.1. FASE 0: Selección y Preparación de la Planta Madre.**

1. Seleccionar el material de partida: Debe ser una planta joven, vigorosa y sin enfermedades.

2. Obtener un trozo de tallo cilíndrico lo más cercano al meristemo apical.

Castillo (2004, citado por Rivera Mendoza, 2023), hace mención que se debe realizar la desinfección de las yemas de la planta y/o la limpieza de semillas. Una vez que se elige la planta madre, se procederá a la extracción de las muestras. Los explantes pueden incluir brotes, hojas, raíces, semillas y similares. Los componentes de la planta

madre deberán ser esterilizados con el fin de eliminar cualquier impureza extraña antes de la recolección. Los contaminantes más frecuentes son hongos y bacterias que se encuentran de manera natural en el entorno.

Castillo (2004), citado por Rivera Mendoza (2023), Después de esterilizar el material vegetal, es esencial conservarlo en condiciones asépticas. Para lograr un ambiente aséptico, se utilizará una cámara de prensa para manipular los cultivos del material vegetal. Estas muestras serán situadas en tubos de cultivo que contengan el medio primario para asegurar el control sanitario y la viabilidad, tras la esterilización del material mediante hipoclorito de sodio puro o diluido (agua clorada comercialmente disponible) durante un periodo de 5 a 15 minutos, seguido de 3 a 4 enjuagues para enjuagar con agua estéril.

#### **1.17.2. FASE I: Establecimiento en Condiciones de Asepsia.**

Castillo (2004), citado por Rivera Mendoza (2023), afirma que, después de la esterilización superficial, las semillas o puntas se colocan en un medio estéril, basado en el material seleccionado. En un plazo de una semana a quince días, comienza la germinación o el rebrote de nuevo tejido vegetal, marcando el inicio del ciclo de cultivo *in vitro*.

- **La Cámara de Flujo Laminar**

Buena parte de las manipulaciones propias del cultivo *in vitro* deben realizarse en condiciones de esterilidad total para evitar la contaminación de los cultivos. Para disponer de una superficie de trabajo estéril que no ponga en peligro la esterilidad de los cultivos se usan las cámaras del flujo laminar.

Una cámara de flujo laminar es un receptáculo en forma generalmente prismática con una única cara libre (la frontal) que da acceso al interior, donde se localiza la superficie de trabajo. La esterilidad de la zona de trabajo, se consigue, porque se hace circular a través del interior de la cámara de una corriente de aire que previamente ha sido micro filtrada, para eliminar toda partícula extraña (Pierik, 1990).

### **1.17.3. FASE II: Multiplicación Micro propagación (Clonación *in vitro*)**

Cinquetii (2021), como se citó en Rodríguez (2018), afirma que, en esta fase se espera que los explantes que sobrevivieron las etapas anteriores, originen brotes, callos y raíces, iniciando la morfogénesis. Estos nuevos brotes se deben subcultivar en un nuevo medio mediante divisiones y resiembras en tubos de cultivo u otros recipientes adecuados. Estas operaciones se realizan en la cámara de flujo laminar o en un lugar aislado que nos permita mantener las condiciones de asepsia. De esta forma aumenta el número de plantas en cada repique o división de las plantas.

### **1.17.4. FASE III: Enraizamiento**

Objetivo: Lograr que las plántulas multiplicadas logren un óptimo sistema de raíces.

En este caso el medio utilizado es líquido y lo que aumenta considerablemente es el contenido de auxinas (AIA) que estimulan la diferenciación de las raíces. Se deben tener en cuenta los siguientes consejos:

- ✓ No se deben usar citoquininas.
- ✓ Si se disminuye el contenido de sales del medio se logra una mayor inducción de raíces.
- ✓ El aumento de la concentración de sacarosa produce un buen enraizamiento.
- ✓ Los medios líquidos aumentan el volumen de plantas y reducen los costos.

### **1.17.5. FASE IV: Aclimatación**

Rivera Mendoza (2023), menciona que, que los cultivos de raíces nuevos son extremadamente susceptibles a las variaciones ambientales, lo que significa que la adaptabilidad es crucial para el éxito o fracaso del proceso. Durante esta fase, las plantas atravesarán diversos cambios que les permitirán acostumbrarse a vivir en condiciones naturales.

Cuando se separan los explantes o esquejes de la maceta, no son adecuados para el cultivo en invernaderos, ya que estas plantas han desarrollado raíces y prosperan en entornos con alta humedad relativa, y sus estomas, que regulan la transpiración y la

pérdida de agua, no son totalmente resistentes a la baja humedad relativa, lo que provoca que el proceso sea lento para prevenir que los explantes se deshidraten. Además, desarrollarse en un entorno tan húmedo también implica el riesgo de que la planta se pierda, debido a que carecen de una cutícula cerosa bien formada que sirva como protección contra la pérdida de agua en la superficie de la planta.

## **1.18. TIPOS DE CULTIVO *IN VITRO***

### **1.18.1. Cultivo de Meristemos**

Los meristemos son grupos de células en estado juvenil con capacidad para dividirse constantemente, los cuales son utilizados esencialmente para la producción de plantas libres de patógenos. La carencia de vías de conducción para virus y viroides en estos tejidos permite lograr la sanidad de las plántulas. La técnica del cultivo de meristemos consiste en la disección e incubación del meristemo apical de una planta en condiciones de asepsia.

Totipotencia: Capacidad de regeneración de una planta entera a partir de un grupo de células.

### **1.18.2. Embriogénesis y Organogénesis**

La embriogénesis es el proceso por el cual se obtienen embriones a partir de tejidos somáticos. La diferencia de los embriones somáticos con los embriones cigóticos es que aquellos no provienen de la fecundación de los gametos (Maestu Moraleda, 2018).

Y la organogénesis es considerada una de las fases más importantes dentro de los sistemas *in vitro*, puesto que a partir de cualquier segmento de la planta se obtienen los diferentes órganos requeridos para la multiplicación de plántulas. La proliferación puede lograrse con el empleo de sustancias reguladoras de crecimiento como componentes principales en un medio nutritivo. El hallazgo de las citoquininas, que en combinación con las auxinas pueden regular la formación de los brotes o raíces, ha significado el desarrollo de las tecnologías para la regeneración de plantas. La organogénesis puede ocurrir a través de dos vías: directa e indirecta. La primera consiste en la formación de órganos a partir del explante seleccionado; y la segunda se

refiere a la formación previa de callo y a la posterior formación de órganos (Perea Dallos et al., 2009).

### **1.18.3. Cultivos *In vitro* de tejidos vegetales**

Esta técnica implica el cultivo de células, tejidos u órganos en un medio de cultivo artificial. Los explantes pueden ser meristemas apicales, segmentos nodales, hojas o embriones, dependiendo de la especie vegetal y del objetivo de propagación (Centro de Biotecnología, s.f., p. 1).

### **1.18.4. Técnicas de cultivo de Tejidos**

- Micropropagación vegetal.
- Regeneración de plantas (embriogénesis organogénesis).
- Cultivo de meristemas.
- Cultivo de suspensiones de células vegetales.
- Cultivo de protoplastos.
- Cultivo de anteras.
- Cultivo de óvulos y embriones (Díaz de la Quintana, 2016, p. 13)

### **1.18.5. Características del cultivo *In vitro***

- Producción de gran número de plantas.
- Obtención de plantas en cualquier época del año.
- Almacenamiento de plantas en poco espacio.
- Control condiciones de cultivo. Ambientales (temperatura, humedad, luz), nutricionales (minerales, otros compuestos).
- Producción de plantas libres de contaminación, enfermedades y plagas.
- Propagación de especies de difícil propagación por otros métodos, o en vías de extinción.
- Obtención de plantas libres de virus.
- Conservación de germoplasma: material de un conjunto de individuos que representa la variabilidad genética de una población vegetal.

- Necesidad de restablecer el equilibrio del explanto (requerimientos exigentes). (Murashige, T y F. Skoog. 1962).

### **1.19. MEDIOS DEL CULTIVO *IN VITRO***

Medios de cultivo para la propagación *in vitro*. Constituyen un elemento fundamental para el cultivo *in vitro* de células, tejidos y órganos para lograr el desarrollo de los mismos *in vitro*. Los medios de cultivo tienen una serie de componentes generales y específicos cuya presencia y concentración estará en dependencia del objetivo que se persiga en su utilización. Los medios de cultivo están constituidos por sustancias minerales, vitaminas, aminoácidos, azúcares, reguladores del crecimiento y otros elementos. (EcuRed, 1930)

El cultivo de células, tejidos y órganos de las plantas *in vitro* se realiza en medios de cultivos artificiales, lo cuales proporcionan los nutrientes necesarios que la planta toma de la tierra en su habitat natural y precisamente el éxito de este tipo de cultivo está influenciado grandemente por la naturaleza del medio de cultivo utilizado y otros factores ambientales (EcuRed, 1930).

**Tabla 4:** *Composición de medios de cultivo para células vegetales*

| Componentes                                   | Características y ejemplos                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Agua destilada</b>                         | Representa el 95% del medio nutriente                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <b>Fuente de carbono</b>                      | Generalmente se usa sacarosa. La fuente de carbono se necesita porque los explantos no son completamente autótrofos, y no pueden cubrir sus necesidades con la fotosíntesis que pueden realizar <i>in vitro</i> .                                                                        |
| <b>Sustancias inorgánicas</b>                 | Macroelementos (N, P, K, Ca, Mg, S) y Microelementos (Fe, Co, Zn, Ni, B, Al, Mn, Mo, Cu, I), en una proporción adecuada según la planta elegida.                                                                                                                                         |
| <b>Vitaminas</b>                              | Vitaminas B1, B2, B6, vitamina H, vitamina E, ácido fólico, ácido nicotínico, entre otras.                                                                                                                                                                                               |
| <b>Hormonas y reguladores del crecimiento</b> | Callos y raíces adventicias, inhiben la formación de brotes axilares adventicios y, a veces, inhiben la embriogénesis.<br>Citoquininas: promueven la división celular, regulan el crecimiento y el desarrollo de los tejidos vegetales.<br>Otras: giberelinas, ácido abscísico, etileno. |
| <b>Mezclas de sustancias poco definidas</b>   | Extracto de levadura, extractos vegetales.                                                                                                                                                                                                                                               |
| <b>Materiales inertes</b>                     | Se usan como soporte: agar, agarosa, otros polisacáridos, lana de vidrio, papel de filtro, arena.                                                                                                                                                                                        |

**Fuente:** Sagrentin (2026).

### 1.19.1. Tipos de medios utilizados en palta

**Medio 1:** Medio de cultivo basal de Murashige y Skoog (MS).

**Medio 2:** Murashige y Skoog modificado para el establecimiento.

**Medio 3:** Medio de cultivo de Lloyd y Mccown (WPM) modificado.

**Tabla 5: Medio 1**

| <b>Componentes</b>     | <b>Formula/Nombre</b>                                                                 | <b>Mg/L</b> |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|                        | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> Nitrato de amonio                                     | 825.0000    |
|                        | KNO <sub>3</sub> Nitrato de potasio                                                   | 950.0000    |
| <b>Macro elementos</b> | MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato de magnesio heptahidratado               | 185.0000    |
|                        | CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O Cloruro de calcio bihidratado                     | 220.0000    |
|                        | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Fosfato monobásico de potasio                         | 85.0000     |
|                        | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> Ácido bórico                                           | 3.1000      |
|                        | CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O Cloruro de cobalto hexahidratado                 | 0.0125      |
|                        | CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O Sulfato de cobre pentahidratado                  | 0.0125      |
| <b>Microelementos</b>  | KI Yoduro de potasio                                                                  | 0.4150      |
|                        | MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O Sulfato de Manganeso tetrahidrata                | 11.1500     |
|                        | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Molibdato de sodio heptahidratado | 0.1250      |
|                        | ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato de zinc heptahidratado                   | 4.3000      |
|                        | FehNa EDTA Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético                      | 25.0000     |
|                        | Inositol                                                                              | 100.0000    |
| <b>Vitaminas</b>       | Tiamina                                                                               | 0.5000      |
|                        | Piridoxina                                                                            |             |
|                        | Ácido nicotínico                                                                      | 0.4000      |
| <b>Carbohidratos</b>   | Sacarosa                                                                              | 30000.0000  |

**Fuente:** Kyte (1987 citado por Reyes, 2019)

**Tabla 6:** *Medio 2*

| <b>Componentes</b>     | <b>Formula/Nombre</b>                                                                 | <b>Mg/L</b> |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
|                        | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> Nitrato de amonio                                     | 1650.0000   |
|                        | KNO <sub>3</sub> Nitrato de potasio                                                   | 1900.0000   |
| <b>Macro elementos</b> | MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato de magnesio heptahidratado               | 370.0000    |
|                        | CaCl <sub>2</sub> .H <sub>2</sub> O Cloruro de calcio bihidratado                     | 440.0000    |
|                        | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Fosfato monobásico de potasio                         | 170.0000    |
|                        | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> Ácido bórico                                           | 6.2000      |
|                        | CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O Cloruro de cobalto hexahidratado                 | 0.0250      |
|                        | CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O Sulfato de cobre pentahidratado                  | 0.0250      |
| <b>Microelementos</b>  | KI Yoduro de potasio                                                                  | 0.8300      |
|                        | MnSO <sub>4</sub> .4H <sub>2</sub> O Sulfato de Manganeseo tetrahidrata               | 22.3000     |
|                        | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Molibdato de sodio heptahidratado | 0.2500      |
|                        | ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato de zinc heptahidratado                   | 8.6000      |
|                        | FeNa EDTA Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético                       | 50.0000     |
|                        | Inositol                                                                              | 100.0000    |
| <b>Vitaminas</b>       | Tiamina                                                                               | 0.5000      |
|                        | Piridoxina                                                                            | 0.5000      |
|                        | Ácido nicotínico                                                                      | 0.4000      |
| <b>Carbohidratos</b>   | Sacarosa                                                                              | 30000.0000  |

**Fuente:** Kyte (1987 citado por Reyes, 2019)

Tabla 7: Medio 3

| Componentes        | Formula/Nombre                                                                        | Mg/L       |
|--------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| Macro<br>elementos | NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> Nitrato de amonio                                     | 400.0000   |
|                    | CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O Cloruro de calcio bihidratado                    | 96.0000    |
|                    | MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato de magnesio heptahidratado               | 370.0000   |
|                    | KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> Fosfato monobásico de potasio                         | 170.0000   |
|                    | Ca(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O Nitrato de calcio tetrahidratado | 556.0000   |
|                    | K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Sulfato potásico                                       | 990.0000   |
| Microelementos     | H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> Ácido bórico                                           | 6.2000     |
|                    | MnSO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O Sulfato de manganeso monohidratado                | 22.3000    |
|                    | ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato de zinc heptahidratado                   | 8.6000     |
|                    | Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O Molibdato de sodio bihidratado    | 0.0250     |
|                    | CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O Sulfato de cobre pentahidratado                  | 0.0250     |
|                    | FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O Sulfato ferroso heptahidratado                   | 27.8000    |
| Vitaminas          | FeNa EDTA Sal férrica sódica de ácido etilendiaminotetraacético                       | 37.3000    |
|                    | Inositol                                                                              | 100.0000   |
|                    | Tiamina                                                                               | 1.0000     |
|                    | Piridoxina                                                                            | 0.5000     |
| Carbohidratos      | Ácido nicotínico                                                                      | 0.5000     |
|                    | Sacarosa                                                                              | 20000.0000 |

Fuente: Kyte (1987 citado por Reyes, 2019)

Los medios de cultivo pueden ser sólidos o líquidos, los cuales están constituidos de:

### 1.19.2. Compuestos Inorgánicos

Los nutrientes inorgánicos o minerales usados en el cultivo *In vitro* son los mismos requeridos normalmente por las plantas. Entre estos tenemos los macro nutrientes (N, P, K, S, Ca, Mg) y los micro nutrientes (Fe, B, Mo, Co, Zn, Cu, I). (Díaz de la Quintana, 2016).

### 1.19.3. Compuestos Orgánicos

Constituidos por tres tipos de compuestos:

- Las vitaminas y aminoácidos
- Los carbohidratos
- Sustancias de crecimiento (fitohormonas)
- Agua

El agua es un elemento donde se disuelve todos los componentes del medio de cultivo. Se debe presentar gran atención a la calidad de agua ya que constituye el 95% del medio nutritivo, se debe utilizar agua destilada (Díaz de la Quintana, 2016, P. 16).

### 1.19.4. Sales Inorgánicas

Gómez (1999), comenta que los nutrientes utilizados en cultivo *in vitro* son los mismos requeridos normalmente por las plantas macro y micronutrientes. Por su parte, Mejía (1998) citado por Conde (2002) menciona que las plantas necesitan tomar del medio algunos iones inorgánicos que son indispensables para el crecimiento de las plantas y están constituidos por: nitrógeno, fósforo, calcio, potasio, magnesio, azufre, cloro, y sodio (Poma Acarapi, s.f., p. 25).

### 1.19.5. Aminoácidos

El aporte de aminoácidos favorece la proliferación de callos, aunque cuando más se acude a los mismos es en las experiencias sobre la organogénesis y en la multiplicación vegetativa *in vitro*. Las mezclas de aminoácidos parecen también presentar efectos sinérgicos. Los efectos obtenidos mediante aporte de aminoácidos parecen muy variables según la especie y el tipo de morfogénesis estudiada (Diario del Agro, 2024).

La mayor parte de las plantas sintetizan sus propios elementos orgánicos como las vitaminas y aminoácidos, etc. Para alcanzar un mejor crecimiento de las plantas *in vitro* es esencial suplementar al medio más vitaminas y aminoácidos como : Tiamina (vitamina B1), Piridoxina (vitamina B6), Ácido Nicotínico( Vitamina B3), y Pantotenato de calcio (vitamina B5), además de Myo- Inositol ; son también conocidos como reguladores de desarrollo, algunos autores señalan la adición de numerosas

sustancias orgánicas como : la caseína hidrolizada, leche de coco, extracto de malta, extracto de levadura entre otros, son empleados para el desarrollo de ciertos cultivos de callos y órganos (Diario del Agro, 2024).

#### **1.19.6. Vitaminas**

Las vitaminas son usadas como catalizadores en varios procesos metabólicos y son añadidas al medio de cultivo para estimular procesos de crecimiento específicos en los tejidos, y no se excluye que la falta de alguna de ellas pueda ser un factor limitante de los fenómenos de organogénesis.

Para Murashige las vitaminas esenciales para el crecimiento de células en plantas superiores son:

**Tiamina:** Es considerada la vitamina imprescindible en el cultivo *in vitro* para un buen crecimiento del cultivo.

**Myo – Inositol:** Estimula el crecimiento y división celular en muchas especies vegetales con fines de micropropagación. La concentración más utilizada es de 100 mg / l. (Aguirre et al 2010).

#### **1.19.7. Azúcares**

Los tejidos y células cultivadas *in vitro* son ampliamente heterótrofos con respecto al carbono debido a la ausencia o insuficiencia de asimilación clorofílica. Luego resulta indispensable añadir azúcares a los medios de cultivo, siendo los dos más utilizados la sacarosa y la glucosa. La concentración optima de azúcar en los medios de cultivo varía entre 20-80g /l, en dependencia del tipo de cultivo, material vegetal, etc. Los azúcares presentan una acción metabólica y energética (Diario del Agro, 2024).

#### **1.19.8. Carbohidratos**

El carbohidrato más utilizado es la sacarosa, siendo la fuente de energía más usada en el cultivo *in vitro*, pero en ocasiones se emplean otros carbohidratos como la glucosa, fructuosa, galactosa y maltosa, pero estos compuestos son inferiores a la sacarosa, que puede ser sustituida por azúcar comercial, llegándose a obtener óptimos resultados. Las

concentraciones optimas son de 2 a 3 %, sin embargo, en ciertas especies se utilizan concentraciones muy elevadas de 5 a 12%. (Aguirre.et al 2010).

## **1.20. REGULADORES DE CRECIMIENTO**

Se conocen también como hormonas vegetales, son sustancias sintetizadas en determinado lugar de la planta y se desplazan a otro, donde actúan a muy bajas concentraciones, regulando el crecimiento, y desarrollo y metabolismo del vegetal. El término “regulador de crecimiento” es más general y abarca las sustancias de origen natural y las sintetizadas en laboratorio, que determinan respuestas en la planta (Tirado Perea & Perea Dallos, 2010).

### **1.20.1. Auxinas**

Son un grupo de compuestos derivados del triptófano, sintetizados por lo general en los ápices de las plantas, y que están implicados en varios eventos relacionados con el crecimiento y diferenciación celular. Se sabe que participan en la regulación de algunos procesos como el crecimiento celular, el inicio de la división celular, la formación de tejidos no diferenciados (tejido calloso), la diferenciación del tejido vascular y la formación de órganos (raíces) (Pérez Molphe Balch, s.f., p.

En las plantas completas las auxinas tienen que ver con la dominancia apical, afectan la senescencia y abscisión de las hojas y coordinan algunas respuestas trópicas. La auxina natural más común es el ácido indolacético (AIA), pero dependiendo de la especie, edad de la planta, estación del año y condiciones de crecimiento pueden aparecer otras auxinas naturales en los tejidos, como por ejemplo el ácido 4-cloroindol-3-acético, el ácido indol-3-acrílico o el ácido indolbutírico (AIB). El AIA y el AIB se utilizan frecuentemente en los medios de cultivo. Por ser compuestos que se encuentran naturalmente en la planta, tienden a ser metabolizados por los tejidos; además, éstos se desnaturalizan con relativa rapidez en el medio (Pérez Molphe Balch, s.f., p. 29).

Esto hace que la disponibilidad real de estas auxinas en el medio de cultivo disminuya paulatinamente, lo cual resulta útil en aquellos procesos que requieren altas

concentraciones de auxinas sólo para la inducción inicial de los mismos (por ejemplo, el enraizamiento) (Pérez Molphe Balch, s.f., p. 29).

### **1.20.2. Citoquininas**

Las citoquininas son hormonas vegetales naturales que derivan de adeninas y promueve la división celular de tejidos no meritematicos (Tirado Perea & Perea Dallos, 2010).

La citocinina es un regulador de crecimiento vegetal que juega un papel crucial en los cultivos *in vitro*. Se utiliza para promover la división celular, la formación de brotes y la regeneración de tejidos en plantas (Tirado Perea & Perea Dallos, 2010).

### **1.20.3. Giberelinas**

Jordan (2006, como se cito en Sánchez, 2020) hace mención que Las giberelinas son esenciales en el desarrollo de plántulas desde su germinación, ya que las semillas cuentan con una reserva de giberelinas de gran importancia para poder llevar a cabo la ruptura de la semilla y la formación de la raíz, de igual manera está fuertemente vinculado con el alargamiento de la altura.

Cortes (2019, citado en García & López, 2021) menciona que El desarrollo y crecimiento de los tejidos de manera constante esta proporcionalmente ligado a la reserva de giberelinas que posee la planta o en los medios de cultivo en donde se haya cultivado el material vegetal, así mismo el alargamiento de los segmentos nodales se encuentra ligado al proceso de desarrollo y las etapas tempranas de la floración pueden ser potenciadas con este biorregulador. Destacan en este grupo: AG3, AG2, AG1.

**Tabla 8:** *Necesidades Nutricionales y Hormonales*

| Sustancias orgánicas | Macro      | Micro |
|----------------------|------------|-------|
|                      | Nutrientes |       |
| <b>Azúcares</b>      | N          | Fe    |
| <b>Aminoácidos</b>   | P          | Zn    |
| <b>Vitaminas</b>     | K          | B     |
| <b>Auxinas</b>       | Ca         | Mn    |
| <b>Citocininas</b>   | Mg         | Cu    |
| <b>Giberelinas</b>   | S          | Ni    |
|                      |            | Co    |
|                      |            | Al    |
|                      |            | Mo    |
|                      |            | I     |

**Fuente:** Días de la Quintana, (2016).

Esta hormona provoca algunos efectos como la inducción del crecimiento del tallo, la regulación del paso de la etapa juvenil a adulto, la inducción de la floración y la determinación sexual de la flor, además de fomentar la elongación intermodal.

Estimulan el crecimiento de tallos (elongación) e hipocotilos. Tiene un papel mayor que las auxinas en plantas con crecimiento de entrenudos.

#### **1.20.4. Sales Minerales**

Las sales minerales son el componente principal del medio de cultivo y proporcionan los nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas. Estas se dividen en macronutrientes y micronutrientes (Diario del Agro, 2024).

#### **1.20.5. Amino ácidos y Amidas**

Los aminoácidos favorecen la proliferación de callos y la organogénesis. Los efectos obtenidos mediante el aporte de aminoácidos parecen muy variables según la especie y el tipo de morfogénesis estudiada. Dentro de ellos se encuentran la glutamina, L-arginina, L-cisteína entre otros. (EcuRed, 2025).

Es una familia de sustancias químicas que tienen en común la capacidad de regular el crecimiento, la división celular y la diferenciación de raíces en los cultivos *in vitro*. En las plantas, las auxinas intervienen en el tropismo a la gravedad y a la luz, la dominancia apical, el crecimiento de las partes florales y la diferenciación de los tejidos vasculares (Davies, 1995). Las auxinas más utilizadas son el AIA (ácido indol-3-acético), el ANA (ácido  $\alpha$ -naftalenacético), el 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), el AIB (ácido indolbutírico), el pCPA (ácido p-clorofenoxiacético) y el BTOA (ácido benzotiazol-2-oxiacético) (SEDICI, 2025).

#### **1.20.6. Ácido Abscísico**

El ácido abscísico (ABA) es un regulador de crecimiento cuya tasa de biosíntesis se modifica significativamente frente al estrés fisiológico ocasionado por falta de agua, salinidad del suelo, bajas o altas temperaturas, etc. El ABA provoca respuestas que ayudan a proteger a las plantas contra estos factores, como el cierre de estomas y la producción de proteínas protectoras. También participa en la embriogénesis normal y en la formación de proteínas de almacenamiento en semillas. Estas características pueden utilizarse en cultivo *in vitro* para producir metabolitos de reacción al estrés, para retrasar 4.- Cultivo *in vitro* 35 el crecimiento y para moderar los efectos de auxinas y citocininas (Salisbury & Ross, 1994).

#### **1.20.7. Agua**

La calidad del agua es importante ya que constituye el 95% del medio nutritivo, se recomienda utilizarla destilada o desionizada (Pierik, 1990).

### **1.21. EXPLANTES VEGETALES**

El explante es la porción de material vegetal usado para iniciar el cultivo *in vitro* de tejidos de la especie seleccionada. En principio, podemos decir que cualquier parte de la planta puede ser un explante apropiado debido a su totipotencialidad, o su capacidad para regenerar una planta completa (Ruscitti, s.f., p. 255)

Al momento de su elección debe tenerse en cuenta el tamaño, la fuente y la edad fisiológica del mismo. En cuanto al tamaño se ha postulado como regla general que en

la medida en que el explante es más pequeño, menor es su capacidad de supervivencia, lo cual es lógico, si se tiene en cuenta que un menor número de células deben asumir el crecimiento y que el estrés de separación es mayor.

Sin embargo, en general el tamaño del explante no es motivo de grandes problemas, excepción hecha del cultivo de meristemos propiamente dicho, realizado con fines de obtener plantas libres de virus. En estos casos puede presentarse un dilema: a medida que se aumenta el tamaño del explante se disminuye la posibilidad de lograr el objetivo de obtención de plantas libres de virus y a medida que se disminuye el tamaño, es menor la posibilidad de establecer el cultivo y alcanzar la morfogénesis (Ruscitti, s.f., p. 255)

En cuanto a la fuente del explante, o sea la planta donante del material vegetal, debe tenerse en cuenta que no todas las células de los tejidos mantienen indefinidamente su totipotencia. Las células con menor diferenciación pueden retener un cierto grado de capacidad organogénica. Sin embargo, en algunos casos las células y tejidos altamente diferenciados pueden desdiferenciarse (Ruscitti, s.f., p. 255).

#### **1.21.1. Tipos de explantes utilizados en palta**

El tipo de explante a usarse en los procesos de micropropagación depende de la especie con la que se esté trabajando y de los objetivos que se persigan. Explantes como los meristemos apicales y las yemas axilares son genéticamente muy estables, este tipo de explantes sirve para reproducir múltiples clones de una forma o variedad con características especiales que se desea mantener en el cultivo (EcuRed, 2025).

Los tipos de explantes más comunes en el cultivo *in vitro* de la palta (aguacate) son las yemas axilares y meristemos de brotes jóvenes, ya que su capacidad para regenerar y multiplicarse permite la micropropagación. Otros explantes utilizados incluyen tejidos de órganos como segmentos de tallo y hojas.

### 1.21.2. Tipos de explantes y su origen

**Meristemos axilares:** Son ápices o yemas que se encuentran en las axilas de las hojas. Son un explante muy común en la micropropagación de aguacate debido a su capacidad de regenerar y dar lugar a nuevos brotes.

**Yemas axilares:** Similar a los meristemos, son yemas que se desarrollan en la unión entre una hoja y un tallo. Se extraen de brotes jóvenes para iniciar la micropropagación.

**Explantes Nodales:** Son segmentos de tallo que contienen yemas axilares. Se utilizan para inducir la formación de múltiples brotes, lo que es crucial para la micropropagación a gran escala.

### 1.22. Métodos de Desinfección en Cultivo *In vitro* de Explantes de Palta

Ibarra López, A. (2015) menciona que (Cassells, 2012), que la habilidad de cultivar células, tejidos y órganos de plantas ha sido muy utilizada tanto en la investigación teórica como práctica, así como en la producción de plantas de manera comercial (micropropagación). Ya sea que la aplicación sea para fines de estudio o para el mercado, es esencial que los cultivos iniciados *in vitro* estén completamente libres de cualquier tipo de contaminación biológica y se mantengan como cultivos estériles durante su manipulación, desarrollo y almacenamiento.

Ibarra López, A. (2015) menciona que (Cooper, 1987; Dalsaso y Guevara, 1988; Zirari y Lionakis, 1994). En aguacate, al igual que otras especies vegetales, el pretratamiento de las plantas madre es clave para el éxito del establecimiento de los cultivos, en este aspecto, las 24 plantas donadoras pueden ser asperjadas con soluciones bactericidas y fungicidas para disminuir la carga microbiana.

Después de la escisión del material vegetal de la planta madre, se lleva a cabo un tratamiento de asepsia. Para ello no existen reglas porque el tratamiento dependerá de cuan limpio o sucio se encuentre el material vegetal. El protocolo seleccionado deberá ser el que dañe menos al explante.

### **1.22.1. Agentes desinfectantes más utilizados**

Ibarra López, A. (2015) señala que (Kyte y Kleyn, 1996; Smith, 2013). Las soluciones comerciales de hipoclorito de sodio ( $\text{NaClO}$ ) en varias concentraciones son el limpiador que se usa con mayor frecuencia, a las cuales se les puede agregar un agente surfactante, Tween-20, que disminuye la tensión superficial del material durante la limpieza, lo que hace que el blanqueador sea más eficiente.

#### **a) Ozonizador de agua**

Un ozonizador de agua es un dispositivo que utiliza la potencia del ozono, un gas compuesto por tres átomos de oxígeno, para desinfectar y purificar el agua. (OzonoHogar, 2013)

Este equipo funciona mediante la generación controlada de ozono, que luego se disuelve en el agua para crear agua ozonizada. El ozono, al ser uno de los desinfectantes más potentes, según la Organización Mundial de la Salud, elimina bacterias, virus, hongos y otros microorganismos presentes en el agua y en la superficie de los alimentos. (OzonoHogar, 2013)

La desinfección de alimentos con un ozonizador de agua se presenta como una solución integral para garantizar la seguridad alimentaria. La eliminación de patógenos, la conservación de la frescura y la ausencia de residuos químicos son aspectos fundamentales que lo posicionan como una opción atractiva. (OzonoHogar, 2013)

### 1.22.2. Comparación de métodos de desinfección en palta

**Tabla 9:** Comparación de métodos de desinfección

| Trat.                  | Fungicida/bactericida                             | Alcohol<br>etílico            | Hipoclorito<br>de sodio                                                                                                                                          | Ácido<br>ascórbico | Agua<br>destilada<br>estéril                            |
|------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------------------------------|
| <b>Protocolo<br/>A</b> | Fosetil aluminio<br>(1g/7L) Gentamicina<br>(1g/L) | 75%<br>(5 min)                | 3% (5min)                                                                                                                                                        |                    | series por<br>5-10-5 min                                |
| <b>Protocolo<br/>B</b> | Fosetil aluminio<br>(1g/7L) Gentamicina<br>(1g/L) | 95%<br>(5 s)                  | 3% (10 s)                                                                                                                                                        | 2g/L<br>(5min)     | series por<br>5-10-5 min                                |
| <b>Protocolo<br/>C</b> | Fosetil aluminio<br>(1g/7L) Gentamicina<br>(1g/L) | 95%<br>(5min)                 | 3% (5 min)                                                                                                                                                       | 2g/L<br>(5min)     | series por<br>5-10-5 min                                |
| <b>Protocolo<br/>D</b> | Fosetil aluminio<br>(1g/7L) Gentamicina<br>(1g/L) | 95%<br>(1 min)                | 3% (1 min)                                                                                                                                                       | 2g/L<br>(5min)     | series por<br>5-10-5 min                                |
|                        |                                                   |                               | NaOCl al 20%<br>volumen/volumen<br>(v/v) (4.72%<br>ingrediente<br>activo)<br>con 2 gotas de<br>Tween®80 por<br>cada 100 mL de<br>solución durante<br>10 minutos. |                    | Lavar tres<br>veces con<br>agua<br>destilada<br>estéril |
|                        |                                                   | alcohol<br>al 70%<br>(15 seg) | NaClO al 5 % v/v<br>durante 5 min con<br>2 gotas de Tween<br>20                                                                                                  |                    | Enjuague<br>3 veces                                     |

**Fuente:** Elaboración propia

Según Suatunce-Chiliquinga, Espinosa-Cunuhay, Quinatoa-Lozada y Tapia-Ramírez (2024), elaboraron un protocolo para el cultivo *in vitro* de aguacate (*Persea americana* Mill.) utilizando meristemos axilares, como una opción para producir plantas que estén libres de enfermedades. Las variaciones en los tiempos de inmersión en los agentes desinfectantes afectan el porcentaje de contaminación microbiana de los explantes iniciales durante la fase de establecimiento. El método de desinfección más efectivo fue el protocolo D, donde el tiempo de inmersión de los explantes en alcohol e hipoclorito de sodio fue de 1 minuto, presentando un 48% de contaminación y una viabilidad de los explantes del 78%.

#### **1.22.3. Efecto de los medios de cultivo en la regeneración *in vitro***

Dentro de los factores más importantes del ambiente en los cultivos, tenemos lo que es la luz y la temperatura. No se tocará la humedad relativa, ya que a menudo es cercana al 100 % en los recipientes de cultivo (Vidallie, 1986).

# **CAPÍTULO II**

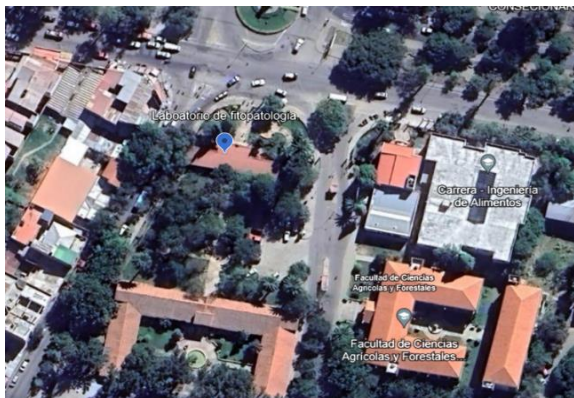
## **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Capítulo II: MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. LOCALIZACIÓN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología y Cultivo *In vitro* de la Facultad de Ciencias Agrícolas y Forestales dependiente de la Universidad Autónoma “Juan Misael Saracho” ubicado en el Departamento de Tarija, provincia Cercado, Zona el Tejar. Ubicado geográficamente entre los paralelos 21° y 15' de latitud sur, y los meridianos 64°21” y 65°05 de latitud oeste con una altura promedio de 1850 m.s.n.m.

**Figura 8:** Ubicación del Laboratorio de Fitopatología y Cultivo *in vitro*.



**Fuente:** Earth google, (2025)

### 2.2. MATERIALES

#### 2.2.1. Material vegetal

##### 2.2.1.1 Procedencia del Material Vegetal

El material vegetal que se utilizó en el presente trabajo de investigación son explantes de Palta (*Persea americana* Mill Variedad anisada).

El material vegetal empleado proviene de plantas donadoras que tienen al menos 50 años, obtenida de la comunidad de Hoyadas, Provincia Méndez, Departamento de Tarija.

### 2.2.2. Material escritorio

✓ Cuaderno  
✓ Lápiz  
✓ Borrador

✓ Computadora  
✓ Impresora

### 2.2.3. Material de laboratorio

#### Equipos

Autoclave.  
Cámara de flujo laminar.  
PH-metro.  
Balanzas de precisión.  
Microscopio.  
Agitador.  
Horno de esterilización.  
Refrigerador.  
Estantes  
Ozonizador

#### Materiales

Vasos de vidrio.  
Pipeta.  
Probeta.  
Tubos de Ensayo.  
Canastillas.  
Pinzas y Bisturí  
Mechero.  
Frascos de vidrio.  
Marcador.  
Pinzas.

#### Productos químicos

Reactivos del medio Murashige y Skoog  
Reactivos del medio Woody Plant Medium  
AIB Acido indolbutirico  
BAP- Bencil Amino Purina  
Agar.  
Alcohol.  
Hipoclorito de sodio.  
Agua destilada

#### Equipo de la cámara de crecimiento

Termómetro de máxima y mínima  
Iluminación Led  
Temporizador  
Estantería

## 2.3. METODOLOGÍA

La metodología de investigación que se utilizará es la investigación “Experimental y Descriptiva”, en las que se realizarán dos fases del cultivo *in vitro*:

- i) **Fase 0:** Selección y preparación de la planta madre
- ii) **Fase I:** Establecimiento en condiciones de asepsia

### 2.3.1. Fase 0. Selección del material genético de Palta (*Persea americana* Var. Anisada)

La recolección del material vegetal se realizó el 17 de agosto de 2025.

La selección del material genético es fundamental para los trabajos de micropropagación, dada cuenta que una vez logrado la obtención de vitroplantas éstas serán clonadas masivamente conservando las características genéticas de la planta madre original.

En nuestro medio y ante la falta de variedades específicas para ser utilizadas como portainjerto (patrón) se ha estado utilizando plantines provenientes de semillas botánicas, tanto de variedades comerciales como de plantas de la variedad “anisada”. Sin embargo, dichas semillas botánicas son producto de la doble fecundación que ocurre por la polinización de los estigmas florales, lo cual deriva en una variabilidad genética que no garantiza la conservación de las características genéticas de las plantas donadoras.

Para nuestra investigación las plantas donadoras de explantes son especímenes de palta de la variedad Anisada, que fueron recolectados en la comunidad de Hoyadas. Las muestras consistieron en ramas del año con yemas y hojas verdes. Dichas muestras desprenden el olor característico “anisado” al frotar las hojas con las manos.

**Figura 9:** *Muestra la planta madre donadora de explantes*



**Fuente:** Elaboración propia

Así mismo, en la figura 4 podemos observar las características fenotípicas de hojas y de frutos.

**Figura 10:** *Procesamiento de muestras en laboratorio*



**Fuente:** Elaboración propia

### **2.3.2. Fase I. Establecimiento *in vitro* de la Palta (*Persea americana* Var. Anisada)**

La Fase I del cultivo *in vitro* consiste en la obtención de vitroplantas a partir de la regeneración de explantes, donde dichas vitroplantas deben estar libres de contaminación endógena, así como de contaminación exógena y saprófita.

En este contexto, con el objeto de determinar las condiciones óptimas de iniciación *in vitro* de la palta, se realizaron dos ensayos:

- *Primer ensayo*, optimización del proceso de desinfección.
- *Segundo ensayo*, Regeneración de explantes de palta en tres medios de cultivo.

#### **2.3.2.1. Ensayo 1: Optimización del proceso de desinfección**

El material vegetal fue recolectado en fecha 17 de agosto de 2025 de plantas madre de aproximadamente 60 años, por lo que durante todo ese tiempo ha estado expuesta al ataque de plagas (insectos, hongos, bacterias y saprófitos). Por tanto, se ha desarrollado un ensayo que permita comparar 2 principios activos para eliminar la presencia de microorganismos patógenos y contaminantes saprofíticos que puedan encontrarse en la superficie de los tejidos del material vegetal colectado:

- a) NaClO 20%pc. Usado rutinariamente en trabajos de introducción de explantes *in vitro*.
- b) Ozono, se utilizó de manera experimental para evaluar su eficiencia contra agentes de contaminación en cultivo de tejidos vegetales *in vitro*.

**a) Variables de estudio 1 (Métodos de desinfección)**

**Tabla 10:** Descripción de métodos desinfección.

| Método       | Desinfectante                    | Enjuague ADE | Nro de enjuagues |
|--------------|----------------------------------|--------------|------------------|
| <b>NaClO</b> | 20 %(pc) x 20 min                | 5 min        | 4                |
| <b>Ozono</b> | 20mg O <sub>3</sub> /hr x 15 min | No requiere  | No requiere      |

ADE: Agua Destilada Esterilizada

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 11:** Ensayo de eficiencia de dos métodos de desinfección para explantes de *Palta* Var. *Anisada*

| Método               | R<br>1 | R<br>2 | R<br>3 | R<br>4 | R<br>5 | R<br>6 | R<br>7 | R<br>8 | R<br>9 | R1<br>0 | R1<br>1 | R1<br>2 | R1<br>3 | R1<br>4 | R1<br>5 |
|----------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| NaClO<br>10%pc       |        |        |        |        |        |        |        |        |        |         |         |         |         |         |         |
| Ozono O <sub>3</sub> |        |        |        |        |        |        |        |        |        |         |         |         |         |         |         |

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 11:** Obtención de segmentos nodales a partir de muestras obtenidas de planta madre



**Fuente:** Elaboración propia

- **Tratamiento 1: Método NaClO:**

El procedimiento fue el siguiente:

- a. Desinfección de Sala de siembra por UV durante 15 minutos.
- b. Limpieza de Cabina de flujo laminar, introducción de instrumental estéril, mecheros, agua destilada estéril, Alcohol 70% y solución de NaClO (15%pc)
- c. Acondicionamiento de material vegetal, se obtuvo segmentos nodales de 2.5cm.
- d. Inmersión de las explantes durante 60 segundos en alcohol 70%.
- e. Enjuague con agua destilada esterilizada por 5 minutos.
- f. Inmersión en Hipoclorito de Sodio (20% pc) por 20 minutos. Cuatro enjuagues en agua destilada estéril + Ácido ascórbico (150mg/L), cada uno de cinco minutos.
- g. Cuatro enjuagues en agua destilada estéril + Ácido ascórbico (150mg/L), cada uno de cinco minutos.

**Figura 12:** *Desinfección de explantes por Hipoclorito de Sodio (20%pc)*



**Fuente:** Elaboración propia

Luego del proceso de desinfección en NaClO, los segmentos nodales fueron inoculados en tubos Fisher con tapa, conteniendo 10ml de medio de cultivo PDA. Posteriormente

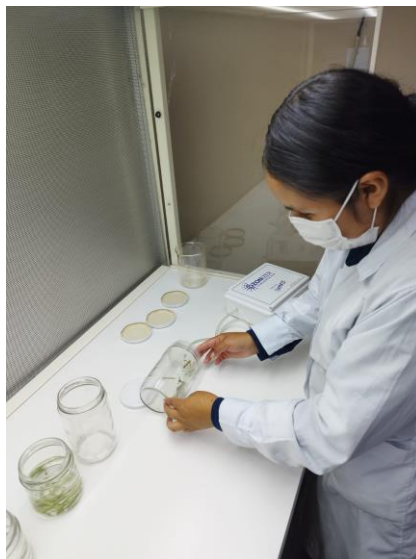
fueron cultivadas en condiciones de: 16 horas luz, 8 horas oscuridad, luz led blanca controlada por temporizador a una temperatura:  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ , provista por acondicionador de aire tipo Split.

- **Tratamiento 2: Método Ozono:**

El procedimiento fue el siguiente:

- a. Desinfección de Sala de siembra por UV durante 15 minutos.
- b. Limpieza de Cabina de flujo laminar, introducción de instrumental estéril, mecheros, agua destilada estéril, equipo de generación de Ozono
- c. Acondicionamiento de material vegetal, se obtuvo segmentos nodales de 2.5cm.
- d. Introducción de explantes en frasco con tapa provista de conector al generador de ozono.
- e. Puesta en marcha del generador de Ozono, aplicación de tratamiento por 15 minutos.

**Figura 13:** *Aplicación de ozono a segmentos nodales de palta.*



**Fuente:** Elaboración propia

Luego del proceso de desinfección en Ozono, los segmentos nodales fueron inoculados en tubos Fisher con tapa, conteniendo 10ml de medio de cultivo PDA. Posteriormente fueron cultivadas en condiciones de: 16 horas luz, 8 horas oscuridad, luz led blanca controlada por temporizador a una temperatura:  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ , provista por acondicionador de aire tipo Split.

#### **a) Variables de respuesta 1 (Métodos de desinfección)**

Las variables de respuesta del ensayo 1 son: porcentaje de contaminación, porcentaje de necrosamiento y porcentaje de fenolización de cada unidad experimental.

#### **2.3.2.2. Ensayo 2: Regeneración de explantes de palta en tres medios de cultivo.**

Para el segundo ensayo el material vegetal fue recolectado en 12 de septiembre de 2025, luego sometido al protocolo de desinfección por NaClO (20%pc) ya descrito para el primer ensayo.

### **2.4. DISEÑO EXPERIMENTAL**

Para evaluar la regeneración de explantes de palta se empleó un diseño experimental monofactorial con 3 tratamientos (medios de cultivo) y 10 repeticiones con 30 unidades experimentales distribuidas completamente al azar.

#### **2.4.1. Variables de estudio – Ensayo 2 (Medios de Cultivo)**

Las variables de estudio son los medios de cultivo Woody Plant Medium (WPM) y Murashige and Skoog (MS 100% y MS 50% de sales minerales respectivamente):

T1 = WPM 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)

T2 = M&S 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)

T3 = M&S 50% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)

**Tabla 12:** Variables de estudio – Ensayo 2 (Medios de Cultivo)

| Tratamientos                              |    | R1 | R2 | R3 | R4 | R5 | R6 | R7 | R8 | R9 | R10 |
|-------------------------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| WPM 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L) | T1 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| M&S 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L) | T2 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |
| M&S 50% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)  | T3 |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |

**Fuente:** Elaboración propia

Donde, cada unidad experimental está compuesta por un tubo de ensayo conteniendo 10 ml de medio de cultivo y 1 explante, los cuales fueron incubados en sala de crecimiento a un fotoperiodo de 16 horas luz, 8 horas oscuridad, luz led blanca controlada por temporizador a una temperatura:  $22^{\circ}\text{C} \pm 1$ , provista por acondicionador de aire tipo Split.

#### 2.4.2. Variables de respuesta 2 (Medios de Cultivo)

Las variables de respuesta que se plantearon para este trabajo de investigación fueron:

##### a) Porcentaje de contaminación de los explantes

La contaminación *in vitro* normalmente se presenta los primeros días después de iniciado la inoculación de explantes en los medios de cultivo, por tanto, los datos de contaminación se obtendrán hasta los 20 días después de iniciado el ensayo, dicha evaluación se realizó de forma visual.

##### b) Porcentaje de regeneración (60 días)

Las células meristemáticas de los segmentos tienen como función generar un nuevo brote en esa sección de la planta, por tanto, se evaluará la regeneración de los explantes establecidos hasta el día 60, lo cual será realizado de forma visual, después de haber realizado la inoculación de segmentos nodales de palta en el medio de cultivo.

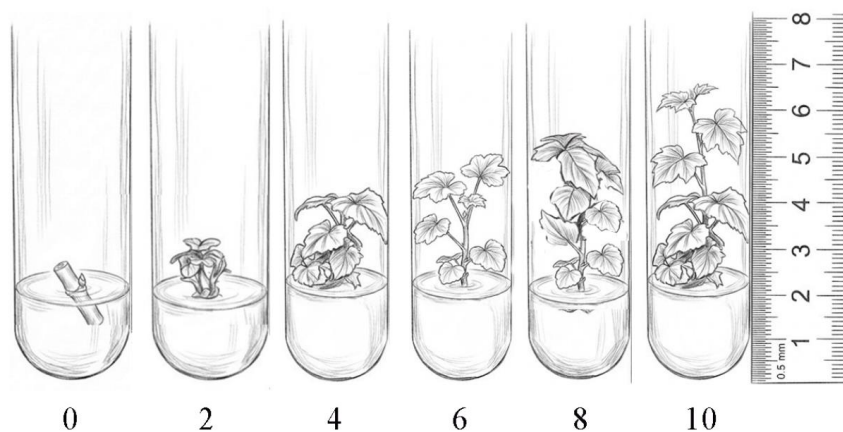
### c) Longitud de brotes

Después de evaluar la regeneración de los tratamientos de la variedad de palta (*Persea americana* Mill), pasamos a la medición de los brotes a los 60 días.

### d) Vigor de vitroplanta

Para evaluar el vigor de vitroplantas se empleará una plantilla propuesta por el Laboratorio de Fitopatología y cultivo *in vitro* (2026), donde, se considera que, la regeneración ocurre de manera visible hasta los 60 días, posteriormente y hasta los 90 días podemos evaluar el vigor de vitroplantas especialmente en especies leñosas, ya que, si bien la regeneración *in vitro* es un proceso morfogénético de formación de nuevos tejidos y órganos promovidos de manera artificial por la formulación de los medios de cultivo, las vitroplantas obtenidas pueden ser pequeñas, mediadas o comparativamente grandes. Este aspecto se debe tomar en cuenta en términos de eficiencia cualitativa (Gutiérrez, 2025).

**Figura 14:** Plantilla de evaluación del vigor de vitroplantas a 90 días de desarrollo



**Fuente:** Laboratorio de Fitopatología y cultivo *in vitro* (2026)

## 2.5. PROCEDIMIENTO

### 2.5.1. Preparación de medios de cultivo

Para la preparación de los medios de cultivo se ha empleado las boletas que contienen las alícuotas de soluciones stock de los medios Woody Plant Medium y Murashige & Skoog, al cual se le añade los fitorreguladores, sacarosa, regulación de pH y finalmente el agar agar, de acuerdo a la información de la tabla N°.

**Tabla 13:** *Boleta de preparación del medio de cultivo del tratamiento T1*

|                              |                  |      |
|------------------------------|------------------|------|
| <b>Medio:</b> IPB1 = T1      | <b>Cant. (L)</b> | 1    |
|                              |                  |      |
| <b>Stock/Producto</b>        | <b>Unidad</b>    |      |
| WPM 1.1 x10 (100%)           | ml               | 100  |
| WPM 1.2 x10 (100%)           | ml               | 50   |
| WPM 2 x100                   | ml               | 10   |
| Micros MS 3 x100             | ml               | 10   |
| Vitaminas MS 4 x100          | ml               | 10   |
| Thiamine (10mg/100ml)        | ml               | 9    |
| Mioinositol (1000mg/100ml)   | ml               | 10   |
| Ac. Ascórbico (1000mg/100ml) | ml               | 20   |
| BAP (10mg/100ml)             | ml               | 5    |
| AIB (1mg/100ml)              | ml               | 5    |
| Azúcar                       | gr               | 33   |
| Enrazar                      | ml               | 1000 |
| pH                           |                  | 5.5  |
| Agar Criterion               |                  | 7    |

**Fuente:** Laboratorio de Fitopatología y cultivo *in vitro* (2025)

**Figura 15:** Esterilización por autoclave:  $121^{\circ}\text{C} \times 1.5\text{atm} \times 20\text{minutos}$ .



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 14:** Boleta de preparación del medio de cultivo del tratamiento T2

|                              |                  |      |
|------------------------------|------------------|------|
| <b>Medio:</b> IPB2= T2       | <b>Cant. (L)</b> | 1    |
|                              |                  |      |
| <b>Stock/Producto</b>        | <b>Unidad</b>    |      |
| Micros MS M1x10 (100%)       | ml               | 100  |
| Micros MS M2 x100 (100%)     | ml               | 10   |
| Micros MS 3 x100 (100%)      | ml               | 10   |
| Vitaminas MS 4 x100          | ml               | 10   |
| Thiamine (10mg/100ml)        | ml               | 9    |
| Mioinositol (1000mg/100ml)   | ml               | 10   |
| Ac. Ascórbico (1000mg/100ml) | ml               | 20   |
| BAP (10mg/100ml)             | ml               | 5    |
| AIB (1mg/100ml)              | ml               | 5    |
| Azúcar                       | gr               | 33   |
| Enrazar                      | ml               | 1000 |
| pH                           |                  | 5.5  |
| Agar Criterion               |                  | 7    |

**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 15:** *Boleta de preparación del medio de cultivo del tratamiento T2*

|                              |                  |      |
|------------------------------|------------------|------|
| <b>Medio:</b> IPB3 =T3       | <b>Cant. (L)</b> | 1    |
|                              |                  |      |
| <b>Stock/Producto</b>        | <b>Unidad</b>    |      |
| Macros MS M1x10 (50%)        | ml               | 100  |
| Micros MS M2 x100 (50%)      | ml               | 10   |
| Micros MS M3 x100 (50%)      | ml               | 10   |
| Vitaminas MS 4 x100          | ml               | 10   |
| Thiamine (10mg/100ml)        | ml               | 9    |
| Mioinositol (1000mg/100ml)   | ml               | 10   |
| Ac. Ascórbico (1000mg/100ml) | ml               | 20   |
| BAP (10mg/100ml)             | ml               | 5    |
| AIB (1mg/100ml)              | ml               | 5    |
| Azúcar                       | gr               | 33   |
| Enrazar                      | ml               | 1000 |
| pH                           |                  | 5.5  |
| Agar Criterion               |                  | 7    |

**Fuente:** Elaboración propia

### **2.5.2. Introducción *in vitro* – Inoculación de explantes**

Los explantes (segmentos nodales ya desinfectados) se sembraron en tubos de ensayo de vidrio conteniendo 10ml de diferentes medios de cultivo esterilizado. Los tubos se sellaron y se incubaron en la cámara de crecimiento a 23°C con un fotoperiodo de 16 horas luz y 8 horas de oscuridad.

# **CAPÍTULO III**

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### Capítulo III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

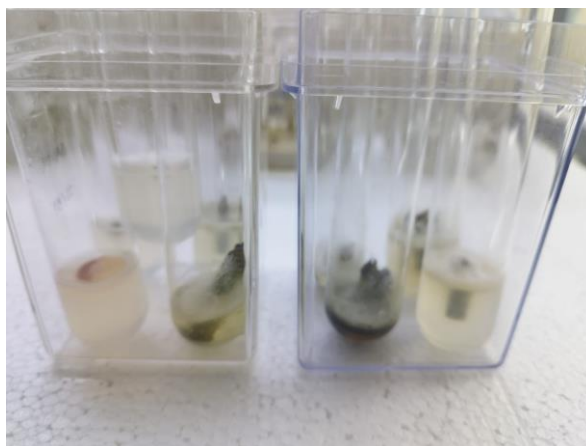
Con el objetivo de lograr exitosamente el establecimiento *in vitro* de la Palta (*Persea americana* Var. Anisado), se realizaron dos ensayos: Métodos de desinfección y Regeneración de segmentos nodales en 3 medios de cultivo.

A continuación, se presentan los resultados de cada ensayo.

#### 3.1. Ensayo 1: Métodos de desinfección

Para evaluar la eficiencia de los 2 métodos de desinfección (NaClO y Ozono) se registró la presencia de contaminación dentro los tubos de ensayo hasta el día 20 después de la inoculación.

**Figura 16:** Contaminación de unidades experimentales



**Fuente:** Elaboración propia

La contaminación observada corresponde a microorganismos saprófitos, fúngicos (observación de micelios blanquecinos) y bacterianos (desarrollo de colonias).

A continuación, se muestra resultados de: Contaminación y Necrosamiento/Fenolización (Necro/Fenol) por cada tratamiento desinfectante ensayado.

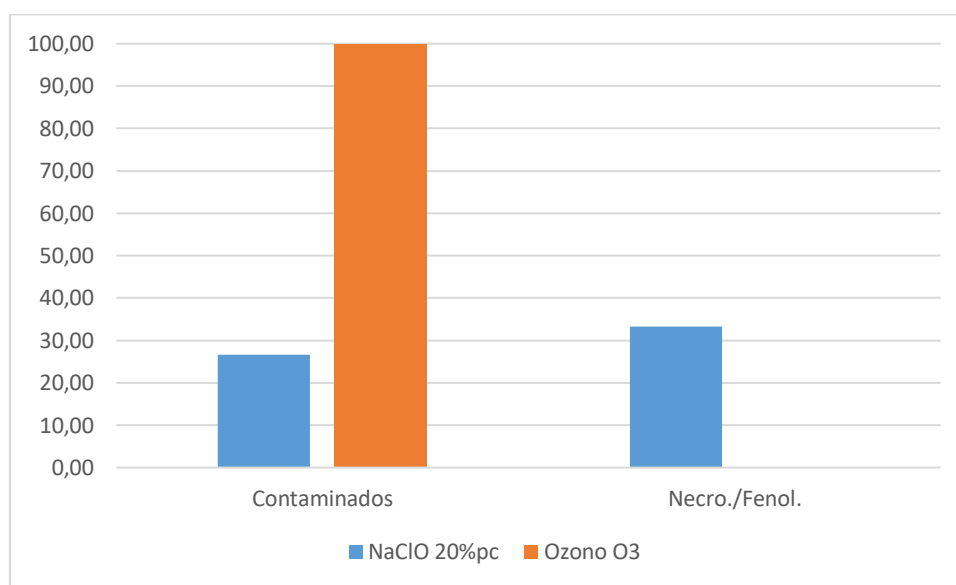
**Tabla 16:** Eficiencia desinfectante de NaClO y Ozono

| Tratamiento | UE. | Contaminados |        | Eficiencia (%) | Necro./Fenol. |       | UEV  |
|-------------|-----|--------------|--------|----------------|---------------|-------|------|
| Medio       | Nº  | Nº           | %      |                | Nº            | %     | Nº   |
| NaClO 20%pc | 15  | 4            | 26,67  | 73.33          | 5             | 33,33 | 6,00 |
| Ozono O3    | 15  | 15           | 100,00 | 0.00           | 0             | 0,00  | 0,00 |

UE. Unidades experimentales

UEV. Unidades Experimentales Válidas

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 17:** Gráfica de la eficiencia del desinfectante de NaClO y Ozono

**Fuente:** Elaboración propia

Como se puede evidenciar, aplicando Ozono (O<sub>3</sub>) a un caudal de 20mg/Hr se obtuvo 0% de eficiencia en la desinfección de explantes, en tanto que con el método de desinfección tradicional con NaClO (20%pc) se alcanzó un 73,33% de eficiencia.

La eficiencia desinfectante alcanzado con el NaClO en el presente ensayo es menor al obtenido por Reyes (2019) quien logró 15% de contaminación y una eficiencia del 85% en la desinfección de explantes con NaClO (20%pc). Sin embargo, se debe indicar que

eficiencias superiores al 70% son aceptables dada cuenta que se trata de plantas madre de más de 60 años de edad, tiempo en el que sufrieron el ataque de plagas de diversa naturaleza.

Los niveles de fenolización y necrosamiento (33%) se deben principalmente a la emisión de sustancias celulares que son liberadas al medio de cultivo y se oxidan provocando el oscurecimiento de los medios de cultivo. Tal situación nos permitió prevenir su ocurrencia en el ensayo de prueba de medios de cultivo de inicio donde se añadirá ácido ascórbico que es una sustancia que actúa como agente antioxidante.

### **3.2. Ensayo 2: Establecimiento de palta (*Persea americana* Var. Anisada)**

#### **3.2.1. Regeneración**

Una vez optimizado el protocolo de desinfección se procedió a realizar el segundo ensayo para el establecimiento *in vitro* de explantes de palta (*Persea americana* Var. Anisada) en 3 medios de inicio.

Para el ensayo se recolectó muestras vegetales de la comunidad de Hoyadas en fecha 12 de septiembre de 2025, posteriormente se sometió al material vegetal (segmentos nodales) al proceso de desinfección y luego fueron inoculados en tubos de ensayo con los respectivos medios de cultivo. Se realizaron evaluaciones diarias de la evolución de regeneración en condiciones de sala de crecimiento. Posteriormente, todas las unidades experimentales fueron transferidas a medio fresco cada 15 días para reducir posibles problemas de fenolización y oxidación.

**Figura 18:** *Regeneración de segmentos nodales de palta (Persea americana Var. Anisada) en 3 medios de inicio*



**Fuente:** Elaboración propia

Finalmente, a los 60 días se obtuvieron los datos de regeneración con los que se elaboró el análisis estadístico de acuerdo al diseño experimental planteado, para las variables de estudio siguientes:

T1 = WPM 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)

T2 = M&S 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)

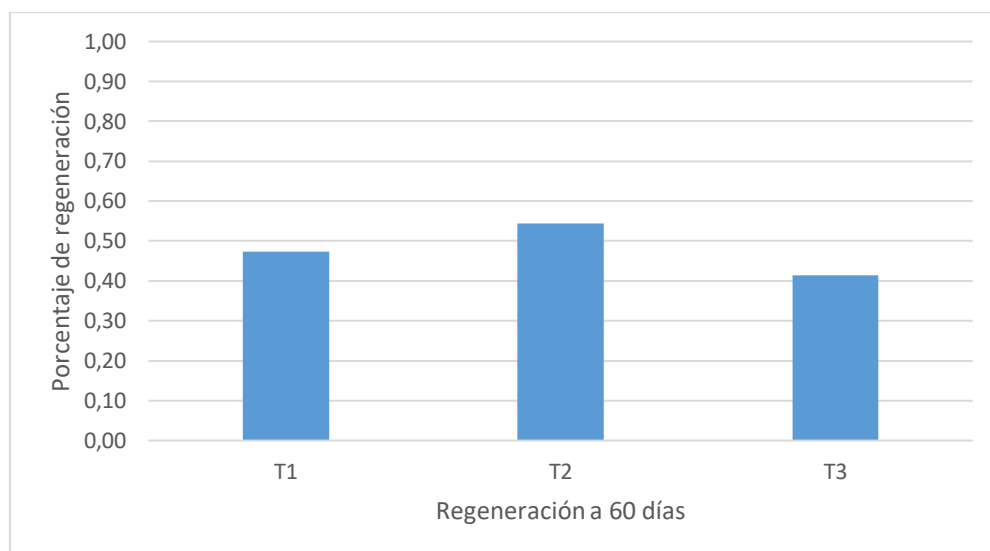
T3 = M&S 50% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)

**Tabla 17:** *Regeneración de explantes de Palta (Persea americana Var. Anisada)*

| Trat. | R1   | R2   | R3   | R4   | R5   | R6   | R7   | R8   | R9   | R10  | R11  | R12  | R13  | R14  | R15  | Σ    | $\bar{X}$ |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----------|
| 1     | 0,40 | 0,40 | 0,75 | 0,40 | 0,40 | 0,50 | 0,40 | 0,50 | 0,40 | 0,40 | 0,50 | 0,50 | 0,40 | 0,75 | 0,40 | 7,10 | 0,47      |
| 2     | 0,40 | 0,75 | 0,50 | 0,80 | 0,40 | 0,75 | 0,40 | 0,50 | 0,40 | 0,80 | 0,50 | 0,40 | 0,75 | 0,40 | 0,40 | 8,15 | 0,54      |
| 3     | 0,40 | 0,40 | 0,50 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,40 | 0,50 | 0,40 | 0,40 | 6,20 | 0,41      |

**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 19:** *Porcentaje de explantes regenerados de Palta (Persea americana Var. Anisada) en tres medios de cultivo*



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 18:** *ANOVA de regeneración de explantes de Palta (Persea americana Var. Anisada) en tres medios de cultivo de inicio.*

| F. de V.       | GL       | SC         | CM         | Valor F | Ft 5% | Ft 1% |
|----------------|----------|------------|------------|---------|-------|-------|
| <b>Tratam.</b> | 2        | 0.12700000 | 0.06350000 | 4.23*   | 3.89  | 6.93  |
| <b>Error</b>   | 42       | 0.63100000 | 0.01502381 |         |       |       |
| <b>Total</b>   | 44       | 0.75800000 |            |         |       |       |
| <b>CV</b>      | 25.71433 |            |            |         |       |       |

**Fuente:** Elaboración propia

El ANOVA muestra que hay diferencias estadísticas significativas entre el efecto de regeneración ejercido por los medios de cultivo, por lo tanto, corresponde realizar la prueba de medias de tukey (0,5)

**Tabla 19:** *Prueba de Tukey (0,5) para regeneración de explantes de palta.*

| Tratamiento | Media |   |
|-------------|-------|---|
| T2          | 0.54  | A |
| T1          | 0,47  | B |
| T3          | 0,41  | B |

**Fuente:** Elaboración propia

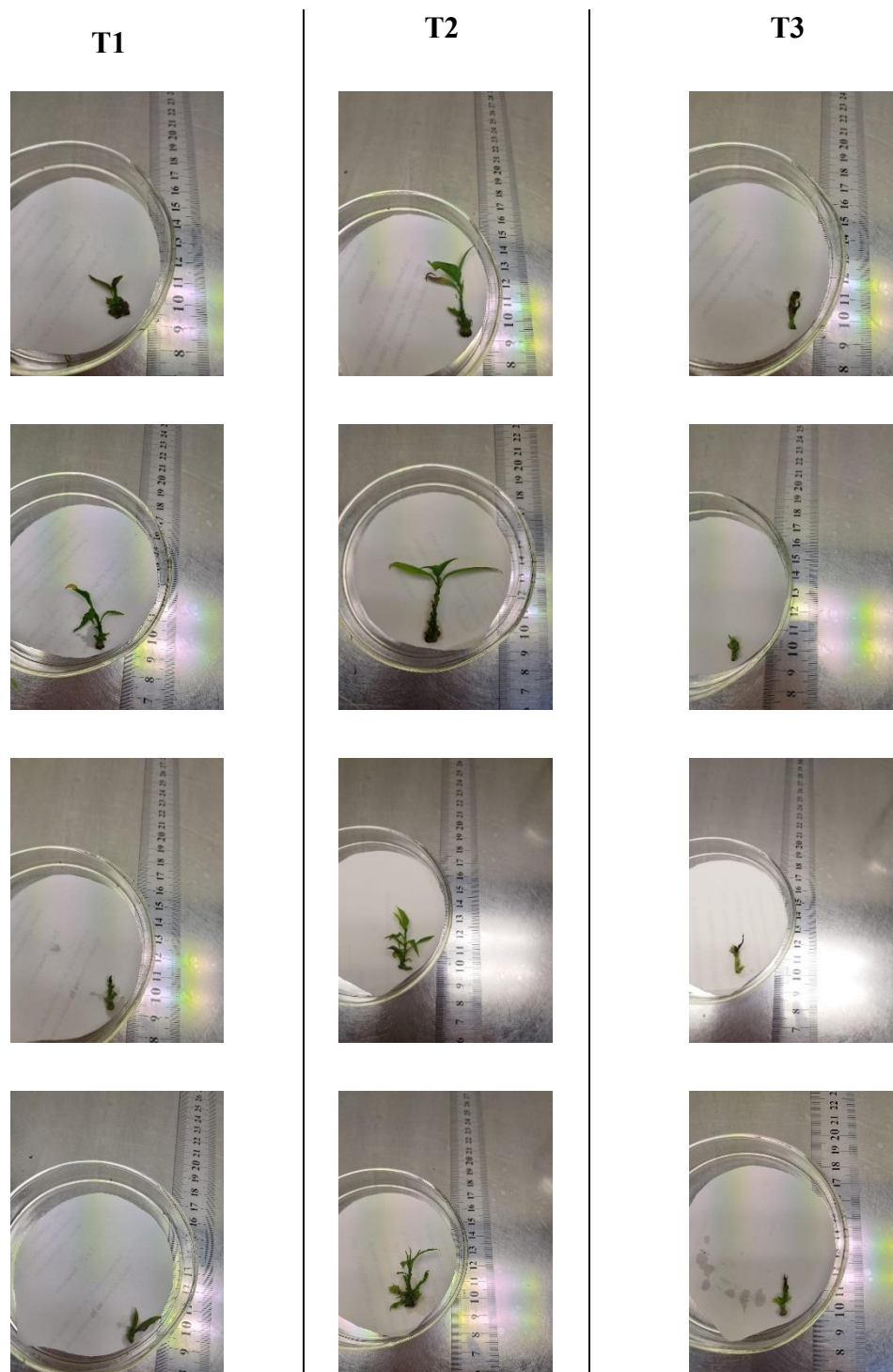
Los resultados muestran que el mejor medio de cultivo para la regeneración es el T2 (M&S 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L) lo cual muestra que a igual concentración de fitorreguladores el tenor de las sales del M&S al 100% de concentración son mejor aceptados por los explantes de Palta Var. Anisada.

Ahmed, M, *et al* (1998, pág. 339), logró obtener 95% de regeneración empleando BAP 1.0mg/L en el medio de cultivo MS 50%, lo cual concuerda con nuestra experiencia de que el medio MS es aceptado por explantes de palta, aunque hayamos logrado un menor porcentaje de regeneración.

### **3.2.2. Longitud de brotes**

La figura N° 14 muestra el desarrollo de explantes que fue promovido por el balance hormonal de los medios de cultivo, cabe mencionar que al 3er cambio a medio fresco (día 45) se eliminaron (por corte) la parte basal de los segmentos nodales ya que en la totalidad mostraban necrosamiento, por lo que se decidió dejar únicamente los brotes regenerados.

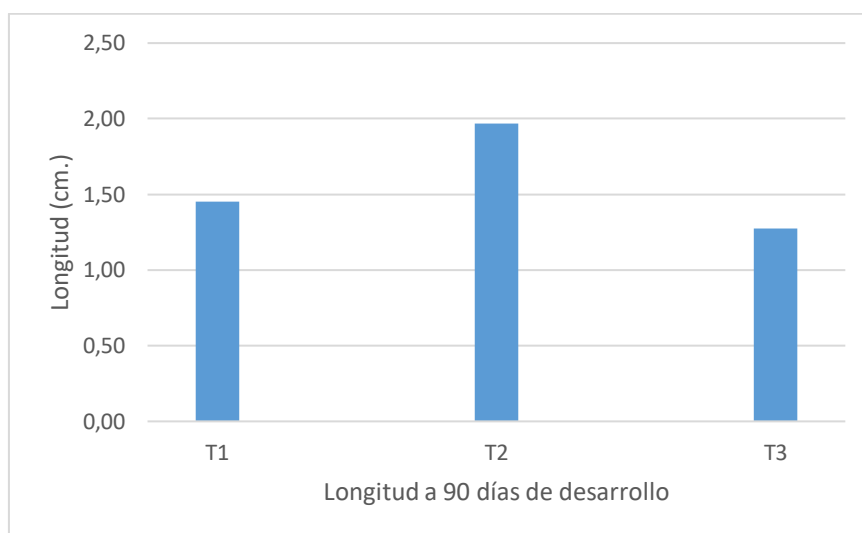
**Figura 20:** Longitud (cm) de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en tres medios de cultivo a los 60 días de inoculación.



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 20:** Longitud de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada)

| Trat. | R1   | R2   | R3   | R4   | R5   | R6   | R7   | R8   | R9   | R10  | R11  | R12  | R13  | R14  | R15  | $\Sigma$ | $\bar{X}$ |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------|-----------|
| 1     | 1,40 | 1,20 | 2,50 | 1,20 | 1,20 | 1,70 | 1,20 | 1,60 | 1,40 | 1,30 | 1,50 | 1,50 | 1,10 | 1,80 | 1,20 | 21,80    | 1,45      |
| 2     | 1,10 | 3,00 | 2,50 | 2,90 | 1,30 | 2,80 | 1,50 | 2,50 | 1,10 | 2,60 | 2,10 | 1,10 | 2,60 | 1,20 | 1,20 | 29,50    | 1,97      |
| 3     | 1,40 | 1,20 | 1,20 | 1,20 | 1,30 | 1,20 | 1,20 | 1,10 | 1,50 | 1,40 | 1,20 | 1,10 | 1,80 | 1,20 | 1,10 | 19,10    | 1,27      |

**Fuente:** Elaboración propia**Figura 21:** Longitud de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en tres medios de cultivo a 60 días**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 21:** ANOVA de longitud de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en tres medios de cultivo a 60 días

| F. de V. | GL | SC          | CM         | Valor F | Ft 5% | Ft 1% |
|----------|----|-------------|------------|---------|-------|-------|
| Tratam.  | 2  | 3.88311111  | 1.94155556 | 7.86**  | 3.89  | 6.93  |
| Error    | 42 | 10.38000000 | 0.24714286 |         |       |       |
| Total    | 44 | 14.26311111 |            |         |       |       |
| CV       |    | 31.77707    |            |         |       |       |

**Fuente:** Elaboración propia

El ANOVA muestra que hay diferencias estadísticas altamente significativas entre el promedio de crecimiento en longitud promovido por los medios de cultivo, por lo tanto, corresponde realizar la prueba de medias de tukey (0,5).

**Tabla 22:** Prueba de Tukey (0,5) para longitud de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en tres medios de cultivo a 60 días

| Tratamiento | Media |   |
|-------------|-------|---|
| T2          | 1.96  | A |
| T1          | 1.45  | B |
| T3          | 1.27  | B |

**Fuente:** Elaboración propia

Los resultados muestran que el medio de cultivo T2 (M&S 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L) promueve un mejor crecimiento promedio de brotes que es 0.51cm y 0.69cm mayor que los medios de cultivo T1y T3 respectivamente, a 60 días post inoculación.

Qasrawi (2022, pág. 15), logró obtener un crecimiento promedio de brotes de palta de 3cm empleando BAP 1.5mg/L en el medio de cultivo MS 100%, lo cual muestra que el medio MS.

Reyes (2019, pág. 9), logró obtener resultados similares empleando BAP 0.5mg/L +AIB 0.25mg/L en el medio de cultivo MS 50%, lo cual muestra que el medio MS es mejor aprovechado para el crecimiento de brotes de palta que el medio WPM.

### 3.3.3. Vigor de brotes

El vigor de brotes fue evaluado a los 90 días, para ello se comparó los brotes desarrollados en cada medio de cultivo con la plantilla de la figura N°8, con esos datos registrados se elaboró la tabla N°20.

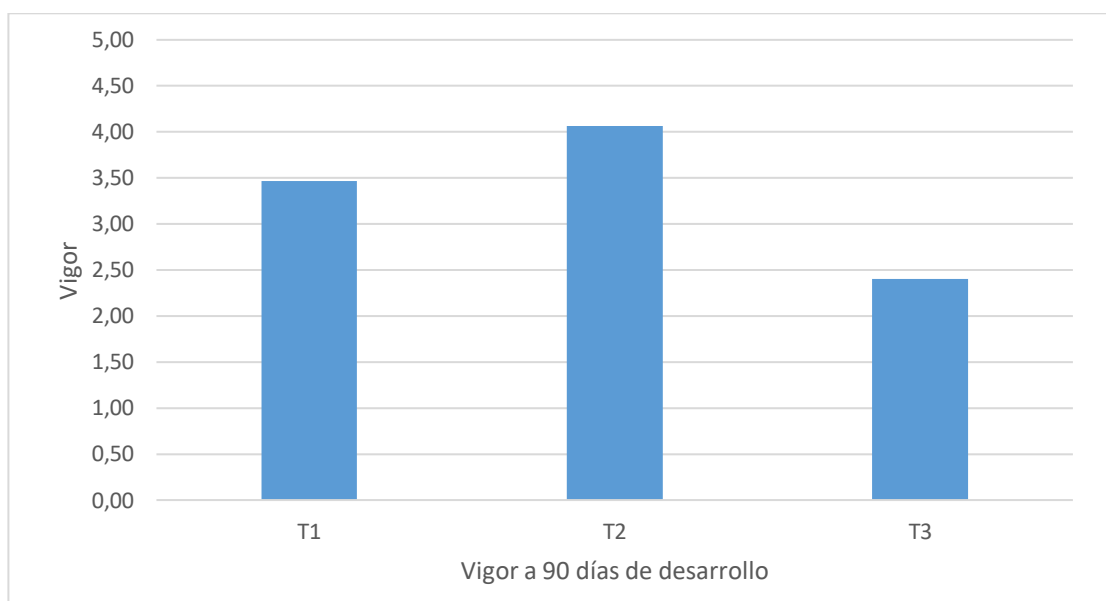
**Figura 22:** Evaluación de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en los tres medios de cultivo a 90 días



**Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 23:** *Vigor de explantes de Palta (Persea americana Var. Anisada)*

| Trat. | R1   | R2   | R3   | R4   | R5   | R6   | R7   | R8   | R9   | R10  | R11  | R12  | R13  | R14  | R15  | $\Sigma$ | $\bar{X}$ |
|-------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|----------|-----------|
| 1     | 4,00 | 2,00 | 6,00 | 3,00 | 3,00 | 4,00 | 3,00 | 4,00 | 3,00 | 3,00 | 4,00 | 3,00 | 2,00 | 5,00 | 3,00 | 52,00    | 3,47      |
| 2     | 2,00 | 7,00 | 5,00 | 7,00 | 3,00 | 5,00 | 2,00 | 4,00 | 3,00 | 5,00 | 4,00 | 3,00 | 6,00 | 2,00 | 3,00 | 61,00    | 4,07      |
| 3     | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 3,00 | 2,00 | 3,00 | 36,00    | 2,40      |

**Fuente:** Elaboración propia**Figura 23:** *Vigor de brotes de Palta (Persea americana Var. Anisada) en tres medios de cultivo a 90 días***Fuente:** Elaboración propia

**Tabla 24:** ANOVA de vigor de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en tres medios de cultivo a 90 días

| F. de V. | GL       | SC          | CM          | Valor F | Ft 5% | Ft 1% |
|----------|----------|-------------|-------------|---------|-------|-------|
| Tratam.  | 2        | 21.37777778 | 10.68888889 | 7.45 ** | 3.89  | 6.93  |
| Error    | 42       | 60.26666667 | 1.43492063  |         |       |       |
| Total    | 44       | 81.64444444 |             |         |       |       |
| CV       | 36.17764 |             |             |         |       |       |

**Fuente:** Elaboración propia

El ANOVA muestra que hay diferencias estadísticas altamente significativas entre el promedio de vigor logrado por los medios de cultivo, por lo tanto, corresponde realizar la prueba de medias de tukey (0,5).

**Tabla 25:** Prueba de Tukey (0,5) para vigor de brotes de Palta (*Persea americana* Var. Anisada) en tres medios de cultivo a 90 días

| Tratamiento | Media |   |
|-------------|-------|---|
| T2          | 4.07  | A |
| T1          | 3.47  | A |
| T3          | 2.40  | B |

**Fuente:** Elaboración propia

Los resultados muestran que el medio de cultivo T2 (M&S 100% + BAP 0.5mg/L + AIB 0.05mg/L) y T1 (WPM 100% + BAP 0.5mg/L) + AIB 0.05mg/L) promueve un vigor estadísticamente similar, sin embargo, existe un valor de 0.6 entre ambos, lo cual deberá considerarse para posteriores trabajos en Palta. Así mismo, el medio T3 es diferente estadísticamente a los medios T2 y T1, respectivamente.

Qasrawi (2022, pág. 15), logró obtener resultados similares (mejor número de brotes y longitud de brotes) empleando BAP 1.5mg/L en el medio de cultivo MS 100%, lo cual muestra que el medio MS es mejor aprovechado para el crecimiento y número de brotes de palta que el medio WPM, lo cual puede relacionarse con el vigor de vitroplantas de nuestro ensayo.

## **CAPÍTULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

## Capítulo IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 4.1. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos en la presente investigación, se presentan las siguientes conclusiones:

- En el aspecto referido a la Fase 0 del cultivo *in vitro* (Selección de material vegetal), es importante indicar que en nuestro departamento no existen viveros que utilicen variedades portainjerto para la injertación con variedades productoras, empleándose plantines provenientes de semillas obtenidas de fruta comercial, lo cual acarrea problemas de recombinación genética, desuniformidad de crecimiento y susceptibilidad a plagas por usar material genético no adecuado para la propagación del cultivo de Palta.
- Existe material genético recomendable para emplearlo como portainjerto (Var. Anisada), algunos especímenes de esta variedad cuentan con más de 60 años de edad, y se encuentran en comunidades distantes de la ciudad (Comunidad de Hoyadas, Prcia. Méndez), siendo importante rescatar este valioso recurso genético.
- Para la Fase I (establecimiento *in vitro*) se han probado 2 ingredientes activos para optimizar el proceso de desinfección: NaClO (20%pc) y Ozono (20mg/Hora), donde, bajo las recomendaciones del fabricante el Ozono no logró ningún explante libre de contaminación saprofítica (100% de contaminación) en tanto que el método tradicional con NaClO (20%pc) se logró obtener 73.33% de eficiencia.
- En la regeneración de vitroplantas a partir de segmentos nodales el mejor resultado para las variables de porcentaje de regeneración y longitud de brotes se obtuvo con el medio T2 (M&S 100% + BAP (0.5mg/L) + AIB (0.05mg/L)) con el que se obtuvo un nivel de regeneración de 54% y longitud promedio de brotes de 1.97cm. En tanto que con los medios T1 y T3 se lograron menores niveles de regeneración (7% y 41%) y longitud de brotes (1.45cm y 1.27cm) respectivamente.

- En tanto que para la variable Vigor de vitroplantas los medios T2 y T1 produjeron resultados similares estadísticamente (4.7 y 3,47) respectivamente, sin embargo, se debe considerar la superioridad del medio T2 para la regeneración de la Palta (*Persea americana* Var. Anisada) respecto de los medios T2 y T3.

#### 4.2. RECOMENDACIONES

Al concluir el presente trabajo de investigación, nos permitimos realizar las siguientes recomendaciones:

- Continuar las siguientes Fases del cultivo *in vitro* (Multiplicación, Enraizamiento y Aclimatación) de la Palta (*Persea americana* Var. Anisada) además de variedades productoras (Hass, Ettinger, Fuerte, Tonnage, Torrez, etc.) con el objeto de disponer de material genético libre de plagas y con características de mayor producción por el rejuvenecimiento *in vitro*, lo cual nos permita la propagación del cultivo de la Palta en el departamento de Tarija con material certificado que garantice la rentabilidad y sostenibilidad de la producción.
- Gestionar los recursos necesarios para realizar la prospección de material genético de alto valor, ya sea en cultivos frutales, hortícolas, forestales, etc. para conservarlos y evitar su extinción, ya que además de ser un patrimonio genético, se constituyen en una base genética que se pueden usar para realizar trabajos de mejoramiento genético en cultivos estratégicos del departamento, lo cual nos permita encarar de mejor manera los problemas derivados del calentamiento global y el cambio climático.