

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Agronomía

**MICROPROPAGACIÓN IN VITRO DE TRES TIPOS DE
EXPLANTES DE PALTO (*Persea americana* Mill.) cv.
“Topa-Topa” EN CONDICIONES DE
LABORATORIO**

TESIS

Presentada por:

Bach. DAYANHA BEATRIZ TORRES HUALLA

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGRÓNOMO

TACNA – PERÚ

2026

UNIVERSIDAD NACIONAL JORGE BASADRE GROHMANN

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Escuela Profesional de Agronomía

MICROPROPAGACIÓN IN VITRO DE TRES TIPOS DE EXPLANTES DE PALTO (*Persea americana* Mill.) cv. "Topa-Topa" EN CONDICIONES DE LABORATORIO

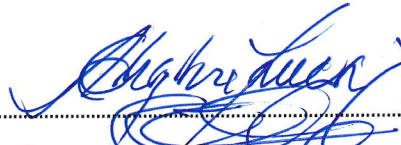
TESIS SUSTENTADA Y APROBADA EL 20 DE MARZO DEL 2019,
SIENDO EL JURADO CALIFICADOR:

PRESIDENTE :



MSc. MAGNO SANTOS ROBLES TELLO

SECRETARIO :



MSc. ARÍSTIDES CHOQUEHUANCA TINTAYA

VOCAL :



Dr. NIVARDO NUÑEZ TORREBLANCA

ASESOR :



Dr. OSCAR OCTAVIO FERNÁNDEZ CUTIRE

CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo, Oscar Octavio Fernández Cutire, en mi condición de asesor del trabajo de tesis titulada: **MICROPROPAGACIÓN IN VITRO DE TRES TIPOS DE EXPLANTES DE PALTO (*Persea americana* Mill.) cv. "Topa - Topa" EN CONDICIONES DE LABORATORIO**. Presentado por la Bachiller DAYANHA BEATRIZ TORRES HUALLA, para optar el Título Profesional de Ingeniero Agrónomo. Habiendo cumplido con lo establecido en el reglamento de originalidad y de similitud de trabajos de investigación y producción intelectual, considerando que según la revisión, evaluación y análisis realizado a través del software de similitud textual TURNITIN, cuenta con el nivel de similitud permitido cuyo porcentaje es 6 %. Por lo que CERTIFICO LA SIMILARIDAD del trabajo de tesis que está de acuerdo al nivel PERMITIDO, para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional. Se emite el presente certificado con los fines de continuar con los trámites respectivos para su obtención del título profesional.

Dr. OSCAR OCTAVIO FERNANDEZ CUTIRE
DNI: 00472839
Asesor de tesis



Bach. DAYANHA BEATRIZ TORRES HUALLA
DNI: 46888617



DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, por su apoyo incondicional y motivación constante a lo largo de mi formación académica. A mis padres Eleuterio y Julia, mi hermana Edith, por enseñarme la perseverancia y el valor del esfuerzo, y a mis seres queridos, quienes siempre confiaron en mí y me alentaron a alcanzar mis metas.

También dedico este trabajo a todos los docentes y profesionales que contribuyeron de manera directa o indirecta a mi aprendizaje en el área de agronomía y biotecnología vegetal.

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann y a la Facultad de Ciencias Agropecuarias, por brindarme la oportunidad de desarrollar esta investigación y por ofrecer los recursos necesarios en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal.

A mi asesor de tesis, Dr. Oscar Octavio Fernández Cutire, por su guía, paciencia y valiosas recomendaciones durante todas las etapas del trabajo.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, por su apoyo, colaboración y motivación constante.

Finalmente, agradezco a todas las instituciones e investigadores cuyas investigaciones y publicaciones me sirvieron como base para enriquecer esta tesis, contribuyendo al avance del conocimiento en la micropropagación in vitro de palto.

CONTENIDO

DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO.....	iii
CONTENIDO.....	iv
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1 Formulación del problema.....	5
1.2 Justificación	6
CAPITULO II: OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	8
2.1 Objetivo General	8
2.2 Objetivo Específico	8
2.3 Hipótesis	8

CAPITULO III: MARCO TEÓRICO	9
3.1 Aspectos Generales del Cultivo de Palto	9
3.1.1 Origen y Características Generales	9
3.1.2 Requerimientos Agroclimáticos: clima, temperatura y radiación solar.....	9
3.1.3 Suelo: textura, pH, drenaje y materia orgánica	10
3.1.4 Manejo Hídrico y Sensibilidad al Exceso de Humedad	10
3.1.5 Adaptabilidad, Variedades y Potencial Productivo	11
3.2 Micropropagación In-Vitro	11
3.2.1 Ventajas y Objetivos de la Micropropagación	12
3.2.2 Protocolos y Técnicas Empleadas	12
3.2.3 Limitaciones y Desafíos en la Micropropagación del Palto	13
3.2.4 Importancia actual y Perspectivas	14
3.3 Clasificación Taxonómica	15
3.4 Características Morfológicas.....	16
3.4.1 Hábito de Crecimiento	16
3.4.2 Sistema Radicular.....	16

3.4.3	Tallo y Corteza	17
3.4.4	Hojas.....	17
3.4.5	Flores.....	18
3.4.6	Fruto	18
3.4.7	Semilla	18
3.5	Variedades (cultivares) de Palto en el Perú	19
3.6	Principales Variedades porta Injertos de Palto en el Perú	20
3.7	Requerimientos Edafoclimáticos.....	22
3.8	Etapas del Protocolo de Micropropagación In Vitro de Palto	25
3.8.1	Etapa 0: Selección de material vegetal.....	25
3.8.2	Etapa I: Establecimiento del cultivo	26
3.8.3	Etapa II: Multiplicación	29
3.8.4	Etapa III: Enraizamiento.....	31
3.8.5	Etapa IV: Aclimatación	32
3.9	Cultivo de Tejidos	34
3.10	Condiciones del Explante	36
3.11	Micropropagación de Palto	38

4.7	VARIABLES EVALUADAS	51
4.7.1	Contaminación de Explante	51
4.7.2	Longitud de Brote	52
4.7.3	Número de Hojas	52
CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSIONES		54
5.1	Contaminación de Explantes	54
5.2	Longitud de Brote (cm).....	57
5.3	Número de Hoja por Brote (unidad)	59
CONCLUSIONES		62
RECOMENDACIONES		63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		64
ANEXOS		73

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Porcentaje de contaminación de explantes.....	54
Tabla 2. Análisis de varianza para altura de brote.	57
Tabla 3. Prueba de significación de Duncan al 95 % para longitud de brote.....	58
Tabla 4. Análisis de varianza para número de hoja por brote (unidad).....	59
Tabla 5. Prueba de significación de Duncan al 95 % para número de hoja por brote.	60

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de contaminación de explantes.....	55
--	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Promedio de longitud de brote de explante	73
Anexo 2. Promedio de número de hojas por brote de explante	74
Anexo 3. Plantas madre de <i>Persea americana</i> Mill	75
Anexo 4. Conservación del material seleccionado.	75
Anexo 5. Explante seleccionados en el Laboratorio para el protocolo de Introducción.	76
Anexo 6. Explante nodal y yema axilar y apical en cámara de flujo laminar para el establecimiento in vitro	76

RESUMEN

La micropropagación del palto (*Persea americana* Mill.) enfrenta dificultades en su fase de establecimiento in vitro debido a la contaminación microbiana y a la oxidación fenólica. El estudio tuvo como objetivo determinar la respuesta del palto a la micropropagación in vitro y evaluar el comportamiento de tres tipos de explantes: yema apical (T1), yema axilar (T2) y segmento nodal (T3). El experimento se desarrolló bajo un Diseño Completo al Azar (DCA) con veinte repeticiones por tratamiento. Se evaluaron el porcentaje de contaminación, la altura de brote y el número de hojas. A los 15 días, la contaminación varió entre 5 % y 15 %, siendo mayor la oxidación en tiempos prolongados de desinfección. El análisis estadístico mostró diferencias altamente significativas, destacando el T3, que alcanzó la mayor altura de brote (5,82 cm) y número de hojas (3,80). Los resultados evidencian que el explante nodal presenta la mejor respuesta para el establecimiento in vitro del palto.

Palabras clave: *Persea americana*, micropropagación, establecimiento in vitro, explantes, DCA.

ABSTRACT

The micropropagation of avocado (*Persea americana* Mill.) faces limitations during the in vitro establishment phase due to microbial contamination and the phenolic oxidation characteristic of woody species. This study aimed to determine the response of avocado to in vitro micropropagation and to evaluate the performance of three explant types: apical bud (T1), axillary bud (T2), and nodal segment (T3). The experiment was conducted under a Completely Randomized Design (CRD) with twenty replicates per treatment. The evaluated variables were contamination percentage, shoot height, and number of leaves. After 15 days, contamination ranged from 5% to 15%, with higher oxidation observed under prolonged disinfection times. Statistical analysis revealed highly significant differences among treatments, with T3 showing the best performance, reaching the greatest shoot height (5,82 cm) and the highest number of leaves (3,80). The results indicate that the nodal segment is the most suitable explant type for the in vitro establishment of avocado.

Keywords: *Persea americana*, micropropagation, in vitro establishment, explants, CRD.

INTRODUCCIÓN

El palto (*Persea americana* Mill.) es uno de los frutales de mayor importancia económica a nivel mundial, destacando por su alto valor nutricional, creciente demanda comercial y relevancia en la agroexportación. Sin embargo, la producción de plantas de calidad continúa siendo un desafío, especialmente en cultivares utilizados como portainjertos como "Topa-Topa", debido a la baja disponibilidad de material vegetativo sano y a la vulnerabilidad frente a patógenos de suelo y estrés biótico y abiótico. Frente a estas limitaciones, la micropropagación surge como una alternativa tecnológica eficiente para generar plantas homogéneas, libres de enfermedades y producidas en menor tiempo.

La propagación in vitro de especies leñosas como el palto presenta dificultades asociadas a la contaminación microbiana, la oxidación fenólica y la baja tasa de multiplicación inicial. La selección del tipo de explante es un factor determinante en el éxito del establecimiento, dado que cada tejido presenta distinta susceptibilidad a la contaminación, así como diferente capacidad de regeneración. Diversos estudios han demostrado que explantes como yemas apicales, yemas axilares y segmentos nodales difieren significativamente en su respuesta al cultivo in vitro, por lo que resulta esencial evaluar su comportamiento bajo condiciones controladas.

En este contexto, la presente investigación tuvo como finalidad determinar la respuesta del palto cv. "Topa-Topa" a la micropropagación in vitro, evaluando tres tipos de explantes (yema apical, yema axilar y segmento nodal) mediante un Diseño Completo al Azar. Se consideraron variables fundamentales para el establecimiento, como el porcentaje de contaminación, la altura de brote y el número de hojas por brote. El estudio busca aportar información técnica que contribuya al desarrollo de protocolos más eficientes de micropropagación de palto, especialmente en cultivares utilizados como patrones, y ofrecer una base científica que facilite la implementación de biotecnología vegetal en programas de producción de plantas de alta calidad sanitaria.

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El cultivo del palto es una actividad de gran relevancia dada la demanda global de su fruto, lo que resalta la necesidad de contar con plantas de calidad, genéticamente homogéneas y libres de patógenos. La propagación convencional presenta desventajas importantes, como la variabilidad genética, el bajo rendimiento de enraizamiento y la posible transmisión de enfermedades, lo que limita la producción uniforme de plantas de alto valor agronómico.

La micropropagación in vitro ha surgido como una alternativa atractiva para superar estas limitaciones, ya que permite la multiplicación rápida de plántulas sanas y genéticamente uniformes. Sin embargo, su éxito no es automático: la eficacia del proceso depende fuertemente del tipo de explante utilizado, así como de su capacidad de regeneración, respuesta a reguladores de crecimiento y tolerancia a fenómenos como la oxidación fenólica. Estudios con *Persea americana* Mill. han demostrado que diversas fuentes de explante tales como segmentos nodales, yemas axilares o meristemas difieren considerablemente en su respuesta a la

micropropagación, lo que afecta la cantidad de brotes, la tasa de enraizamiento y el éxito del trasplante ex vitro.

En el caso del cultivar “Topa-Topa”, ampliamente utilizado en programas de producción y como patrón, existe una carencia de trabajos publicados que comparen sistemáticamente la respuesta de distintos tipos de explantes bajo condiciones de laboratorio. Esto dificulta la estandarización de protocolos adaptados específicamente a dicho cultivar, impidiendo optimizar la producción de plántulas sanas y vigorosas con potencial comercial.

Por lo tanto, resulta necesario investigar: ¿qué tipo de explante de palto cv. “Topa- Topa” presenta la mejor respuesta a la micropropagación in vitro, en términos de regeneración, ¿proliferación de brotes y viabilidad para su posterior establecimiento? Esta interrogante busca llenar la brecha existente en la literatura y aportar datos concretos que permitan mejorar las prácticas de propagación clonal para este cultivar en particular.

Con base en lo expuesto, la presente investigación justifica la evaluación comparativa de tres tipos de explantes con miras a establecer un protocolo eficiente, confiable y reproducible de micropropagación para palto “Topa-Topa”.

1.1 Formulación del problema

La producción tradicional de palto enfrenta limitaciones significativas: la propagación por semillas o esquejes puede generar material vegetal con variabilidad genética, desigualdades en vigor y susceptibilidad a enfermedades, lo que compromete la uniformidad y sanidad de las plantaciones (Restrepo et al., 2018). Estas deficiencias dificultan el desarrollo sostenible y la expansión comercial del cultivo, especialmente cuando se busca producir plantas con características agronómicas homogéneas.

La micropropagación in vitro ha demostrado ser una herramienta eficaz para superar estos problemas, ya que permite obtener clones idénticos, libres de patógenos y con alto potencial de producción (Cabrera, 2011; Rodarte, 2023). No obstante, la eficiencia de dicho método depende en gran medida del tipo de explante utilizado: distintos explantes (segmentos caulinares, meristemos axilares, yemas, etc.) pueden responder de manera diferente en cuanto a regeneración, proliferación de brotes, enraizamiento y adaptación ex vitro (Restrepo et al., 2018).

En el caso específico del cultivar “Topa-Topa”, no existen o al menos no se han documentado públicamente estudios comparativos que determinen cuál tipo de explante ofrece la mejor respuesta in vitro. Esta carencia de información impide desarrollar un protocolo optimizado de

micropropagación adaptado a ese cultivar, lo cual representa una debilidad técnica para su multiplicación masiva.

Por ello, se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Cuál de los tres tipos de explantes de palto cv? “Topa-Topa” presenta la mejor respuesta a la micropropagación in vitro en condiciones de laboratorio? Esta interrogante pretende resolver la laguna de conocimiento actual y generar datos que permitan estandarizar un protocolo eficiente para este cultivar.

1.2 Justificación

El cultivo de palto (*Persea americana* Mill.) constituye uno de los frutales de mayor importancia económica y agrícola debido a su creciente demanda en mercados nacionales e internacionales. Sin embargo, la disponibilidad de material vegetal de calidad sigue siendo una de las principales limitantes para ampliar las áreas de producción. Los métodos tradicionales de propagación presentan dificultades como baja tasa de multiplicación, variabilidad genética, susceptibilidad a enfermedades y dependencia de condiciones estacionales, lo que reduce la eficiencia y uniformidad en la obtención de plantas.

En este contexto, la micropropagación in vitro representa una alternativa biotecnológica de alto valor, ya que permite obtener plantas sanas, homogéneas y libres de patógenos en menor tiempo y con mayor eficiencia. El cultivar Topa-Topa, ampliamente utilizado como portainjerto por su vigor y tolerancia a diversas condiciones edafoclimáticas, requiere protocolos optimizados que garanticen una producción constante de material élite.

La presente investigación se justifica en la necesidad de establecer un protocolo confiable para la micropropagación in vitro de tres tipos de explantes de palto cv. Topa-Topa, evaluando aspectos críticos como la contaminación, el desarrollo de brotes, la emisión de hojas y la respuesta morfogénica. Generar este conocimiento es fundamental para mejorar los procesos de propagación clonal en condiciones controladas y contribuir al desarrollo de tecnologías que faciliten la producción masiva de portainjertos de alta calidad.

CAPITULO II

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivo General

Determinar la respuesta del palto a la micropropagación in vitro.

2.2 Objetivo Especifico

Determinar la respuesta de los tres diferentes tipos de explante de palto a la micropropagación in vitro.

Determinar el explante con mejor respuesta a la micropropagación in vitro.

2.3 Hipótesis

Existe un tipo de explante de palto (*Persea americana* Mill.) con respuesta óptima a la micropropagación in vitro y un desarrollo normal de plántula de palto en condiciones de laboratorio.

CAPITULO III

MARCO TEÓRICO

3.1 Aspectos Generales del Cultivo de Palto

3.1.1 Origen y Características Generales

El palto (*Persea americana* Mill.) es una especie perenne de la familia Lauraceae, originaria de Mesoamérica, que se ha difundido ampliamente en zonas tropicales y subtropicales. Este cultivo se ha consolidado como una opción agrícola de relevancia debido a su capacidad de adaptación a diversos entornos agroecológicos. Con buen manejo agronómico, el árbol puede alcanzar alturas entre 3 y 10 metros, lo que favorece su desarrollo y productividad (Lemus, 2011; Departamento Administrativo Nacional de Estadística DANE, 2015).

3.1.2 Requerimientos Agroclimáticos: clima, temperatura y radiación solar

Para un desarrollo óptimo, el palto requiere climas cálidos o templados, con temperaturas recomendadas que oscilan entre 20 °C y 25 °C. Temperaturas por debajo de 10 °C pueden afectar negativamente la floración, mientras que valores superiores a 30 °C podrían generar estrés térmico, afectando la cuaja y calidad del fruto. Además, necesita buena

radiación solar y condiciones libres de heladas para asegurar su correcto desarrollo fisiológico y productivo (Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Industrial y Forestal INTAGRI, 2019; Vargas et al., 2023).

3.1.3 Suelo: textura, pH, drenaje y materia orgánica

El suelo ideal para el cultivo de palto debe ser de textura ligera a franca, bien drenado y con buena aireación, lo que facilita el desarrollo radicular. Suelos pesados o con tendencia al encharcamiento limitan el crecimiento de raíces y favorecen enfermedades. Además, el pH óptimo se ubica entre 5.5 y 7.0, lo cual favorece la disponibilidad de nutrientes esenciales. Un contenido adecuado de materia orgánica contribuye a mejorar la estructura del suelo y a prevenir problemas como asfixia radicular (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego MIDAGRI, 2020; Instituto de Desarrollo y Medio Ambiente IDMA, 2023).

3.1.4 Manejo Hídrico y Sensibilidad al Exceso de Humedad

El suministro adecuado de agua es fundamental para el correcto desarrollo del palto: tanto la escasez como el exceso de humedad afectan el crecimiento radicular, la floración y la calidad del fruto. En zonas con precipitaciones irregulares o clima seco, se recomienda el uso de riego tecnificado. No obstante, debido a su sensibilidad a la saturación del suelo, es imprescindible un buen drenaje que evite daños en el sistema radicular

(Centro para la Agricultura y las Ciencias Biológicas Internacionales CABI, 2018; Vargas et al., 2022).

3.1.5 Adaptabilidad, Variedades y Potencial Productivo

El palto presenta una variabilidad genética que permite su adaptación a diferentes condiciones de clima, altitud y suelo. Entre sus variedades, la 'Hass' es una de las más reconocidas por su calidad comercial y demanda en mercados internacionales. Con un manejo agronómico adecuado incluyendo riego, fertilización, poda y control fitosanitario, el cultivo puede mantenerse productivo por muchos años, lo que lo convierte en una alternativa rentable y sostenible para zonas agrícolas aptas (Centro de Desarrollo para la Agricultura Sostenible CEDEPAS, 2018; Lemus, 2011).

3.2 Micropropagación In-Vitro

La micropropagación in-vitro del palto ofrece una alternativa moderna a la propagación tradicional por semilla o injerto, permitiendo la obtención de plantas genéticamente uniformes, libres de enfermedades y con alto potencial de producción. Esta técnica es especialmente valiosa para la multiplicación de variedades comerciales, recuperación de clones con características agronómicas deseables, y para asegurar sanidad vegetal en viveros (Cabrera, 2011).

3.2.1 Ventajas y Objetivos de la Micropropagación

La propagación in-vitro permite regenerar plantas a partir de explantes (meristemos axilares, segmentos nodales, etc.) en condiciones estériles controladas, lo que minimiza la transmisión de patógenos y mantiene la fidelidad genética del material vegetal. Esto es particularmente útil para la producción de plantas madre uniformes y la proliferación rápida de material vegetal de alta calidad. En estudios de palto, la técnica ha sido utilizada con éxito para producir clones con potencial agronómico, reducir riesgo fitosanitario y recuperar genotipos valiosos (Cabrera, 2011).

3.2.2 Protocolos y Técnicas Empleadas

Diversos estudios han desarrollado protocolos de micropropagación para palto. Por ejemplo, se han utilizado yemas axilares o segmentos nodales como explantes sobre medio nutritivo de Murashige & Skoog (MS), muchas veces suplementado con reguladores de crecimiento como 6-bencilaminopurina (BAP) para inducción y multiplicación de brotes (Vásquez & Chirinos, 2019; Villa, 2008).

En un estudio reciente con *Persea americana*, se logró sobrevivencia de entre 60 % y 100 % de los explantes con segmentos de tallo, con un promedio de 6,2 brotes por explante cuando el medio MS fue suplementado con 2 mg/L de BA, 0,5 mg/L de ácido naftalenoacético (NAA)

y 10 mg/L de arginina. La enraización se obtuvo eficazmente en medio MS a mitad de fuerza con 4 mg/L de ácido indolbutírico (IBA), 0,5 mg/L de NAA y 160 mg/L de floroglucinol; en estas condiciones se alcanzó un promedio de 5 raíces por brote y una longitud promedio de raíces de 9,3 cm; la aclimatación al invernadero posterior mostró una tasa de supervivencia del 70 % (Abo El-Fadl et al., 2022).

Otro enfoque es la inducción de callos embriogénicos a partir de tallos de palto variedad 'Hass', usando combinaciones de reguladores del crecimiento como 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), BAP y thidiazurón (TDZ), lo que abre la posibilidad de regeneración a través de embriogénesis somática, una herramienta avanzada para multiplicación masiva y posible mejoramiento genético (Gálvez-Tuesta & Chico-Ruiz, 2016).

3.2.3 Limitaciones y Desafíos en la Micropropagación del Palto

A pesar de los avances, la micropropagación de palto enfrenta dificultades importantes. Como planta leñosa recalcitrante, *P. americana* presenta elevados niveles de contaminación, fenómenos de oxidación y dificultad en la formación de brotes estables a largo plazo. Por ello, muchos protocolos requieren optimizar las condiciones de esterilización, composición del medio, reguladores de crecimiento y condiciones ambientales (luz, temperatura, humedad) para mejorar la eficiencia de regeneración (Ahmad, 2025).

Además, la fase de aclimatización ex-vitro cuando las plantas se trasplantan del ambiente in vitro al suelo o sustrato para su crecimiento normal es crítica: un manejo inadecuado puede provocar mortalidad elevada, pérdida de rendimiento o adaptación deficiente al campo (Cooper, 1987; Cabrera, 2011).

3.2.4 *Importancia actual y Perspectivas*

La micropropagación in-vitro tiene gran potencial para consolidarse como técnica clave en la producción comercial del palto. Recientemente, se ha reportado que una alianza entre una empresa frutícola y una universidad confirmó la viabilidad técnica y operativa de la tecnología de micropropagación in vitro de paltos en condiciones reales de producción, lo que representa un hito para la producción frutícola en el hemisferio sur (Grupo Hijuelas & Universidad de Queensland, 2025).

Esta técnica no solo permite multiplicar material genético uniforme y sano, sino también facilitar la difusión de variedades adaptadas a diferentes condiciones agroclimáticas, acelerar la renovación de plantaciones y mejorar la sanidad fitosanitaria de los viveros.

3.3 Clasificación Taxonómica

De acuerdo con la descripción presentada por Williams (1977), la clasificación taxonómica de *Persea americana* Mill. se establece de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Laurales

Familia: Lauraceae

Género: *Persea*

Especie: *Persea americana* M.

Las variedades o cultivares de palto se agrupan tradicionalmente en tres razas botánicas. La primera corresponde a la raza Mexicana, identificada como *Persea americana* var. *drymifolia*; la segunda es la raza Guatemalteca, clasificada como *Persea americana* var. *guatemalensis*; y finalmente se encuentra la raza Antillana, denominada *Persea americana* var. *americana*.

3.4 Características Morfológicas

El palto (*Persea americana* Mill.) presenta un conjunto de características morfológicas que permiten su adecuada identificación botánica y su evaluación agronómica. Se trata de un árbol perenne, cuyo tamaño puede variar entre 3 y 20 metros de altura, dependiendo de la raza botánica, las condiciones edafoclimáticas y el manejo aplicado. Estas características estructurales han sido ampliamente descritas en estudios agronómicos y botánicos (Lemus, 2011; Centro Internacional de Agricultura y Biociencias CABI, 2018).

3.4.1 Hábito de Crecimiento

El palto se distingue por un crecimiento vigoroso y una arquitectura que oscila entre formas piramidales y copas más abiertas. La densidad de su ramificación favorece la captación de luz y contribuye a su productividad. De acuerdo con investigaciones morfológicas, los individuos pertenecientes a la raza Mexicana tienden a ser más compactos, mientras que los de la raza Guatemalteca suelen desarrollar copas más altas y cerradas (Cabrera, 2011; IDMA, 2023).

3.4.2 Sistema Radicular

El sistema radical del palto está compuesto principalmente por raíces superficiales, cuya mayor concentración se encuentra dentro de los

primeros 60 cm del suelo. Debido a esta característica, la especie es altamente susceptible al encharcamiento y a la falta de oxigenación, lo que puede desencadenar asfixia radicular y enfermedades fúngicas. Diversos estudios destacan que la morfología y distribución de las raíces hacen indispensable un manejo cuidadoso del drenaje y la humedad (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego MIDAGRI, 2020; CABI, 2018).

3.4.3 Tallo y Corteza

El tallo del palto presenta una corteza que va de lisa a agrietada, variando según el estado de desarrollo del árbol. Su tonalidad tiende al pardo o gris oscuro y exhibe elevada resistencia mecánica. Estas características estructurales han sido documentadas en descripciones anatómicas del cultivo (Lemus, 2011).

3.4.4 Hojas

Las hojas son simples, alternas y coriáceas, generalmente con forma elíptica u oblanceolada. El haz muestra un tono verde brillante, mientras que el envés es más claro. Algunas razas, especialmente la Mexicana, presentan glándulas que emiten un aroma anisado, característica diagnóstica ampliamente mencionada en la literatura botánica (Cabrera, 2011; IDMA, 2023).

3.4.5 Flores

Las flores del palto son pequeñas, hermafroditas y de color amarillo-verdoso, agrupadas en panículas. Su rasgo más destacable es la dicogamia protogínica, un mecanismo reproductivo donde la madurez del órgano femenino precede a la del masculino, lo cual promueve la polinización cruzada. Este fenómeno ha sido descrito en estudios sobre la biología reproductiva del cultivo (Vargas et al., 2023; Cooper, 1987).

3.4.6 Fruto

El fruto del palto es una baya de gran tamaño, cuya piel puede variar de lisa a rugosa dependiendo de la raza y variedad. La pulpa es cremosa y presenta un alto contenido de aceite, una característica determinante en su calidad comercial. Existen diferencias morfológicas marcadas entre razas, tales como el tamaño, el grosor de la cáscara y el contenido lipídico (CEDEPAS, 2018; Lemus, 2011).

3.4.7 Semilla

La semilla es grande, unicelular y de forma redondeada u ovalada, conteniendo un embrión que germina con relativa facilidad, aunque con amplia variabilidad genética. Estas particularidades han sido ampliamente descritas en análisis de manejo y propagación del cultivo (Cabrera, 2011; MIDAGRI, 2020).

3.5 Variedades (cultivares) de Palto en el Perú

En el Perú, la variedad más importante en términos comerciales es la palta Hass, la cual domina ampliamente las exportaciones debido a su alta calidad post cosecha, su piel rugosa que facilita el transporte y su buena vida útil. Diversos estudios indican que esta variedad se ha consolidado como la principal elección en las zonas productoras de la costa peruana, especialmente en valles con riego tecnificado (Universidad Tecnológica de los Andes, 2025; Instituto Nacional de Innovación Agraria, 2024).

La variedad Fuerte, aunque históricamente importante, se cultiva en menor escala y se destina principalmente al mercado interno. Sus frutos son más grandes, de piel lisa y cáscara verde, características que la han mantenido vigente en regiones interandinas y en sistemas agrícolas tradicionales. Este cultivar aún tiene relevancia local debido a su sabor y aceptación entre consumidores nacionales (Universidad Nacional de Cajamarca, 2025; La República, 2021).

Otras variedades presentes en el país, aunque en menor proporción, incluyen Bacon, Zutano, Nabal, Ettinger y Pinkerton. Estos cultivares cumplen roles complementarios, como servir como polinizantes o adaptarse a microclimas específicos donde Hass y Fuerte no expresan su máximo potencial. Su presencia contribuye a la diversidad genética y a la

resiliencia productiva del cultivo en distintas regiones agroecológicas (Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión, 2018).

Estudios de caracterización realizados en zonas andinas han identificado además otros genotipos cultivados localmente, tales como Nabal Azul, Nabal Verde, Super Fuerte, Duke y La Molina, lo que evidencia que los agricultores peruanos mantienen una diversidad importante de materiales adaptados a ambientes altoandinos. Esta variabilidad genética representa un recurso valioso para programas de mejoramiento y para la ampliación de zonas productoras (Krumreich et al., 2018).

La diversidad de cultivares presentes en el Perú permite la adaptación de la producción de palto a distintos pisos altitudinales, desde valles cálidos costeros hasta zonas interandinas, ampliando la oferta y la sostenibilidad del cultivo tanto para consumo interno como para los mercados internacionales.

3.6 Principales Variedades porta Injertos de Palto en el Perú

En el Perú, la producción comercial de palto ha comenzado a incorporar cada vez más la utilización de porta-injertos seleccionados (clonales y de semilla) con el objetivo de mejorar uniformidad, sanidad y adaptación a condiciones locales. Entre los portainjertos que aparecen con mayor frecuencia en la literatura técnica y en reportes de viveros peruanos

se encuentran Duke 7, Zutano, Topa-Topa y algunos materiales de comercialización internacional como Dusa® o híbridos tipo Toro Canyon; estos materiales son valorados por rasgos específicos como resistencia a enfermedades radiculares, comportamiento frente a suelos salinos o vigor controlado (PeruFrut, 2019; Bender, 2018).

La selección entre portainjertos clonales y de semilla tiene implicaciones prácticas: los portainjertos clonales (por ejemplo, Duke 7 o Dusa®) ofrecen mayor uniformidad de huerto y características agronómicas predecibles, mientras que los patrones procedentes de semilla mantienen mayor variabilidad genética y, en algunos casos, mayor vigor, pero con heterogeneidad en campo (PeruFrut, 2019; INIA, 2011). En el contexto peruano, la transición hacia portainjertos clonales se discute como vía para mejorar la productividad y reducir la variabilidad en plantaciones comerciales (INIA, 2011; Barrientos, 2022).

Respecto a tolerancias y resistencias, la bibliografía técnica destaca que la elección del portainjerto debe priorizar la resistencia a *Phytophthora cinnamomi*, la tolerancia a salinidad y la adaptación a suelos alcalinos o pobres en materia orgánica. Por ejemplo, materiales como Dusa® han mostrado buena tolerancia en suelos salinos o alcalinos en comparación con otros portainjertos, mientras que Duke 7 es ampliamente usado por su adaptación general, aunque con limitaciones frente a ciertas condiciones

de salinidad o a algunos patógenos específicos; por ello, en Perú se evalúan combinaciones locales y clonales para seleccionar los patrones más adecuados a cada zona (Bender, 2018; PeruFrut, 2019; IDMA, 2023).

En investigaciones y desarrollos nacionales, el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) y otras instituciones han trabajado en la propagación clonal de portainjertos adaptados a condiciones locales, por ejemplo, protocolos de clonación de Duke 07 con la finalidad de asegurar disponibilidad de plantones homogéneos y con características agronómicas deseables para la agricultura peruana (INIA, 2011; Universidad Nacional Agraria de la Selva, 2022). No obstante, la bibliografía científica específica y publicaciones revisadas por pares sobre desempeño comparativo de portainjertos en los distintos pisos altitudinales del Perú siguen siendo limitadas; por ello, muchas recomendaciones técnicas provienen de informes de campo, memorias técnicas de viveros y documentos institucionales que registran experiencias regionales (PeruFrut, 2019; Barrientos, 2022).

3.7 Requerimientos Edafoclimáticos

El cultivo del palto (*Persea americana* Mill.) requiere condiciones edafoclimáticas específicas para alcanzar un desarrollo óptimo y una producción comercial estable. En términos ecológicos, el palto se adapta a climas tropicales y subtropicales, con temperaturas moderadas que

permiten una adecuada actividad fisiológica sin inducir estrés térmico. Diversos estudios agronómicos reportan que la temperatura óptima para el crecimiento del palto oscila entre 18 y 24 °C, con tolerancias variables según la raza: la raza Mexicana muestra mayor tolerancia al frío, mientras que la raza Antillana se adapta mejor a zonas cálidas (CABI, 2018; Whiley et al., 2002).

En cuanto a altitud, el palto puede cultivarse desde el nivel del mar hasta aproximadamente 2 800 msnm., aunque la productividad comercial más estable se encuentra entre 800 y 2 000 msnm., debido a la estabilidad térmica y adecuada radiación solar. Estudios realizados en zonas productoras del Perú indican que los valles interandinos y la costa central presentan condiciones favorables para el desarrollo del cultivo, siempre que se maneje adecuadamente la disponibilidad hídrica y la salinidad del suelo (MIDAGRI, 2020; IDMA, 2023).

Respecto a precipitaciones, el palto requiere entre 1 000 y 1 600 mm anuales, pero su sensibilidad al encharcamiento obliga a contar con drenaje eficiente. En regiones áridas, como parte de la costa peruana, el riego tecnificado permite suplir la falta de lluvias, aunque deben evitarse excesos que promuevan enfermedades radiculares como *Phytophthora cinnamomi* (Bender, 2018; CABI, 2018). Por ello, el manejo hídrico es uno de los factores críticos para la sostenibilidad del cultivo.

Los requerimientos edáficos también determinan el éxito productivo del palto. Se recomienda su establecimiento en suelos francos, franco-arenosos o arenosos, profundos y con adecuada aireación. La mayor parte del sistema radicular se concentra en los primeros 60 cm del perfil, por lo que la compactación o saturación hídrica reduce significativamente la oxigenación y limita el crecimiento (Lemus, 2011; MIDAGRI, 2020). El rango de pH ideal se sitúa entre 5,5 y 7,0, aunque algunas variedades pueden tolerar suelos ligeramente alcalinos siempre que no exista acumulación excesiva de sales.

Finalmente, la radiación solar y la humedad relativa también influyen directamente en la floración y cuaja del fruto. Se ha observado que humedades relativas superiores a 80 % durante la floración reducen la viabilidad del polen y dificultan la polinización, mientras que una buena exposición a luz favorece la formación de carbohidratos y el llenado de fruto (Whiley et al., 2002; IDMA, 2023). En consecuencia, la selección del sitio de cultivo y el manejo climático son factores esenciales para asegurar altos rendimientos.

3.8 Etapas del Protocolo de Micropropagación In Vitro de Palto

3.8.1 Etapa 0: Selección de material vegetal

La selección del material vegetal planta madre o semilla/patrón constituye una fase crítica en la producción de palto, ya que de ella depende en gran medida el éxito del establecimiento, la sanidad, la uniformidad genética y el rendimiento del cultivo (Cabrera, 2011; INIA, 2011).

Características buscadas en la planta madre o patrón

Sanidad fitosanitaria: Es esencial que la planta madre esté libre de enfermedades, plagas y, en caso de propagación clonal o in-vitro, de viroides o virus que puedan transmitirse a los explantes o patrones. Esto previene la aparición de enfermedades futuras y asegura la calidad del material propagado. Por ejemplo, en protocolos de micropropagación del palto se indica que la planta donadora debe estar libre del viroide de “sunblotch” (Cabrera, 2011).

Buena carga agronómica: productividad y calidad de fruto o vigor del patrón: El material vegetal seleccionado debe provenir de plantas que hayan demostrado buen rendimiento, fruto de calidad o vigor adecuado, pues estas características influyen en la progenie — especialmente cuando se usan como portainjertos o para conservación de variedades (INIA, 2011; Ircañaupa, 2009).

Uniformidad genética (si se busca propagación clonal/in-vitro):

Cuando el objetivo es producir clones o plantas uniformes, la selección debe priorizar plantas madre bien identificadas, con historial conocido, para asegurar que las características deseables se mantengan en las descendientes (Cabrera, 2011; Ircañaupa, 2009).

Adaptación edáfica y climática al área de plantación prevista:

Especialmente relevante en contextos diversos como los del Perú, donde las condiciones de suelo, clima y topografía varían ampliamente. Seleccionar material vegetal adaptado a esas condiciones —por ejemplo, tolerante a suelos pobres, salinidad o sequía— mejora la supervivencia y productividad (Ircañaupa, 2009; Fernández, 2020).

Historial agronómico favorable: buen manejo vegetativo, nutricional y sanitario: Es recomendable que la planta madre haya recibido manejo adecuado en campo o vivero antes de ser utilizada como donadora. Esto asegura que los explantes o patrones no hereden deficiencias nutricionales, estrés o enfermedades latentes (Cabrera, 2011).

3.8.2 Etapa I: Establecimiento del cultivo

La etapa de establecimiento constituye una de las fases más determinantes en los procesos de micropropagación y propagación convencional del palto, ya que en ella se busca introducir los explantes o el

material vegetal seleccionado en condiciones controladas que permitan iniciar su desarrollo bajo un ambiente aséptico. El objetivo principal de esta etapa es asegurar que el material donante se estabilice fisiológicamente y se mantenga libre de contaminaciones internas o superficiales, garantizando así un desarrollo adecuado de los brotes iniciales (Cabrera, 2011; George et al., 2008).

En esta fase, el material vegetal previamente seleccionado (hojas jóvenes, ápices, yemas o segmentos nodales) es sometido a procedimientos de asepsia que incluyen lavado, desinfección física y química. Dichos pasos permiten reducir la presencia de hongos, bacterias y contaminantes externos que comprometerían el éxito del cultivo in vitro. Diversos protocolos recomiendan el uso de detergentes suaves, hipoclorito de sodio en concentraciones específicas y en algunos casos alcohol etílico, dependiendo de la sensibilidad del tejido del palto, que es considerado moderadamente susceptible a quemaduras químicas (Cabrera, 2011; Roca & Mroginski, 1991).

Una vez desinfectado, el explante es colocado en un medio de cultivo basal generalmente formulado a partir de sales minerales de Murashige y Skoog (MS) o modificaciones de este que contiene azúcares como fuente energética, vitaminas y reguladores de crecimiento para favorecer la estabilidad inicial del tejido. Durante esta fase, el objetivo no

es la multiplicación inmediata, sino asegurar la sobrevivencia del explante y estimular su recuperación metabólica tras el estrés del proceso de desinfección (George et al., 2008; Loyola & Ochoa, 2012).

El ambiente de incubación también influye de manera significativa. Para el establecimiento del palto se utilizan condiciones de temperatura moderada (entre 24 y 26 °C), fotoperiodos controlados y niveles de luz entre 1,000 y 3,000 lux, con el fin de evitar la oxidación fenólica y el oscurecimiento del tejido problemas comunes en explantes de especies leñosas. Estudios realizados en palto indican que el uso de antioxidantes como ácido ascórbico o ácido cítrico puede reducir la oxidación inicial y mejorar la supervivencia del material en esta fase (Cabrera, 2011; Loyola & Ochoa, 2012).

Finalmente, el éxito del establecimiento se evalúa mediante la observación periódica del explante, identificando signos de brotación, ausencia de necrosis y estabilidad del tejido. Una alta tasa de éxito en esta etapa se relaciona directamente con la calidad del material vegetal seleccionado en la etapa previa y con la efectividad de los procedimientos de desinfección, factores que definen la productividad de las fases posteriores de multiplicación y enraizamiento (George et al., 2008).

3.8.3 Etapa II: Multiplicación

En la etapa de multiplicación se busca incrementar el número de brotes a partir de los explantes que han sido establecidos exitosamente en cultivo *in vitro*, de modo que se genere suficiente material vegetal para enraizamiento, aclimatación o producción de portainjertos. Esta fase es clave para lograr propagación clonal masiva y conservar uniformidad genética. Estudios sobre *P. americana* han logrado una producción significativa de brotes mediante medios nutritivos adecuados y reguladores de crecimiento apropiados (Desert Research Center, 2022; Cabrera, 2011).

Diversos protocolos emplean segmentos de tallo o yemas axilares como explantes, sobre medio basal como el de Murashige & Skoog (MS), suplementado con reguladores como 6-bencilaminopurina (BA) y ácido naftalenoacético (NAA). Por ejemplo, en un estudio reciente se obtuvo un promedio de 6,2 brotes por explante cuando se utilizó MS con 2 mg/L de BA, 0,5 mg/L de NAA y 10 mg/L de arginina; además, los brotes resultantes mostraron adecuada longitud, lo que favorece su posterior cultivo. (Desert Research Center, 2022).

En algunos protocolos alternativos —especialmente en variedades que presentan problemas de oxidación o fenolización— se recomienda el uso del medio Woody Plant Medium (WPM) para controlar la producción excesiva de compuestos fenólicos y favorecer la regeneración de brotes.

En un estudio con cultivar 'Hass', el uso de WPM durante la multiplicación permitió un control más efectivo de la fenolización, lo que resultó en una tasa alta de supervivencia al traslado ex vitro ($\approx 82\%$) y buena viabilidad de los brotes generados (Universidad Nacional de Colombia, 2018).

Un aspecto técnico importante en esta etapa es el subcultivo periódico cada 4–8 semanas aproximadamente mediante la transferencia de brotes (apicales o nodales) a medio nuevo. Este procedimiento mantiene la capacidad de proliferación y evita el agotamiento de nutrientes o la acumulación de productos tóxicos generados por el metabolismo de las plantas en cultivo (Instituto Nacional de Innovación Agraria [INIA], 2011).

Finalmente, la multiplicación exitosa en esta etapa depende mucho del tipo de explante, la edad de la planta madre, la composición del medio de cultivo y las condiciones ambientales (luz, temperatura, fotoperiodo). Las plantas jóvenes (andas juveniles o material in vitro recién establecido) tienden a responder mejor que material adulto. Incluso se ha observado que el uso de segmentos de ápice embrionario produce una regeneración más eficiente que explantes maduros, lo que sugiere que la fase juvenil del material es determinante para el éxito de la multiplicación (Western Sydney University, 2002).

3.8.4 Etapa III: Enraizamiento

La fase de enraizamiento es fundamental para asegurar que los brotes o microesquejes generados en la etapa de multiplicación desarrollen un sistema radicular adecuado que les permita sobrevivir y adaptarse al trasplante, ya sea en sustrato o in vivo. En esta etapa se busca inducir la formación de raíces adventicias, optimizando condiciones de medio, reguladores de crecimiento, sustrato y tratamiento post-remoje. (Cabrera, 2011; Cooper, 1987)

Diversos estudios han demostrado que para obtener enraizamiento eficaz en palto es necesario el uso de auxinas. Por ejemplo, en un ensayo con estacas de palto adulto, el uso del regulador comercial "Root-hor" a 7 500 ppm resultó en aproximadamente 51,6 % de enraizamiento cuando se usó sustrato de arena, y 48,4 % en tierra agrícola; dosis menores mostraron menor eficiencia (Rodríguez, 2022). Esto indica que la concentración de auxina y el tipo de sustrato influyen significativamente en el éxito de la enraización. (Rodríguez, 2022)

En protocolos de micropropagación in vitro, el enraizamiento de brotes generados en medio de multiplicación se logra usualmente transfiriendo a un medio más débil o modificando la concentración de reguladores. En un protocolo descrito por el Desert Research Center (2022), se generaron brotes en medio MS suplementado con 2 mg/L de BA

y 0,5 mg/L de NAA; luego, la inducción radicular se logró modificando el medio nutritivo e incorporando auxinas, posibilitando la formación de raíces adventicias en un porcentaje alto de explantes. (Desert Research Center, 2022)

Además, se ha observado que la elección del explante influye en la capacidad de enraizamiento: segmentos nodales y microesquejes jóvenes tienen mayor éxito comparados con brotes apicales procedentes de plantas maduras, debido a menor fenolización y mejor vigor de raíz (Cooper, 1987; Cabrera, 2011). Por ello, la calidad del material vegetal donante y su estado fisiológico son determinantes para esta etapa.

Finalmente, tras la inducción radicular in vitro o en sustrato, es recomendable mantener condiciones de alta humedad relativa, temperatura adecuada y buena aireación en el sustrato para favorecer el desarrollo de raíces finas y reducir estrés hídrico. Estas condiciones incrementan la sobrevivencia de las plántulas al momento del trasplante o aclimatación. (Desert Research Center, 2022; Rodríguez, 2022)

3.8.5 Etapa IV: Aclimatación

La etapa de aclimatación constituye uno de los procesos más críticos dentro de la micropropagación del palto, debido a que las plantas

desarrolladas in vitro presentan fragilidad estructural y fisiológica, especialmente en su sistema estomático, cuticular y radicular. Durante esta fase, los brotes enraizados deben adaptarse gradualmente a condiciones ambientales externas menos controladas, disminuyendo la humedad relativa y aumentando de manera paulatina la intensidad lumínica para favorecer la transición hacia una fotosíntesis plenamente funcional. Estudios en fisiología del cultivo resaltan que esta adaptación gradual es indispensable para evitar desecación y mortalidad elevada en las plántulas recién salidas del cultivo in vitro (Cabrera, 2011; George et al., 2008).

En investigaciones sobre palto y otras especies leñosas se ha observado que las plántulas in vitro presentan cutículas delgadas, escasa funcionalidad estomática y tejidos poco lignificados, lo que incrementa su vulnerabilidad al estrés ambiental. Por ello, su transferencia inicial suele realizarse en cámaras húmedas, túneles plásticos o bandejas cubiertas que mantengan entre 80 y 90 % de humedad relativa, reduciendo gradualmente hasta niveles ambientales conforme las plantas desarrollan cutícula y mayor vigor radicular (Bhojwani & Razdan, 1996; Cabrera, 2011). Asimismo, se recomienda utilizar sustratos de alta porosidad, como mezclas de turba, perlita o musgo sphagnum, que mejoren la aireación y la retención de humedad sin provocar encharcamiento (Hartmann et al., 2014).

Durante la aclimatación también es fundamental el control de luminosidad. La exposición inicial a luz intensa puede causar fotoinhibición debido a la baja concentración de clorofila funcional desarrollada in vitro. Por ello, la literatura recomienda iniciar con niveles de sombra entre 50 y 70 %, aumentando la radiación conforme la planta incrementa su capacidad fotosintética (George et al., 2008). Esta transición lumínica favorece el engrosamiento foliar, el desarrollo de cutícula y la eficiencia estomática, procesos esenciales para el establecimiento ex vitro.

Finalmente, la aclimatación culmina cuando las plántulas presentan crecimiento activo, raíces funcionales y hojas adaptadas al ambiente externo. Al alcanzar esta condición, pueden ser trasladadas a vivero y sometidas a un manejo convencional, manteniendo riegos controlados y fertilización suave para consolidar el desarrollo inicial. La evidencia científica señala que un manejo adecuado de esta etapa aumenta significativamente la sobrevivencia y vigor de las plantas micropropagadas de palto (Cabrera, 2011; Hartmann et al., 2014).

3.9 Cultivo de Tejidos

El cultivo de tejidos vegetales constituye una técnica fundamental dentro de la biotecnología moderna, basada en la capacidad de las células vegetales para regenerar órganos, tejidos o plantas completas a partir de fragmentos mínimos, gracias al principio de totipotencia celular. Esta

metodología permite la propagación masiva de individuos genéticamente uniformes bajo condiciones controladas de esterilidad, nutrición y ambiente, lo que la convierte en una herramienta estratégica en programas de investigación, mejoramiento y producción agrícola (George et al., 2008; Bhojwani & Razdan, 1996).

En el contexto agronómico, el cultivo de tejidos permite obtener plantas sanas, libres de patógenos, y con características genéticas estables, lo cual es especialmente relevante para especies perennes como el palto, donde los ciclos de propagación tradicionales son largos y presentan variabilidad genética significativa. Diversos estudios resaltan que la técnica es especialmente útil para la multiplicación de cultivares élite, el rescate de embriones, la conservación in vitro y la producción de plantas con alta sanidad fitosanitaria (Hartmann et al., 2014; Cabrera, 2011).

El proceso de cultivo de tejidos implica una secuencia de etapas selección del explante, establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación, cada una de las cuales requiere la definición de condiciones específicas de asepsia, composición del medio de cultivo, presencia de reguladores de crecimiento y manejo ambiental. La literatura científica subraya que factores como la edad fisiológica del material vegetal, el tipo de explante y la concentración de auxinas y citoquininas influyen de manera directa en la eficiencia del proceso, determinando el éxito en la

regeneración de brotes y raíces (George et al., 2008; Loyola & Ochoa, 2012).

Además, el cultivo de tejidos ha permitido el avance de técnicas especializadas como la embriogénesis somática, la organogénesis, la criopreservación y la microinjertación, las cuales facilitan la conservación de germoplasma y la recuperación de plantas con alto valor genético. Estas aplicaciones han sido documentadas como esenciales para especies con dificultades de propagación convencional, incluyendo el palto, debido a su heterogeneidad genética, sensibilidad al estrés y baja eficiencia enraizante en algunos cultivares (Cabrera, 2011; Loyola & Ochoa, 2012).

En síntesis, el cultivo de tejidos vegetales representa una plataforma tecnológica clave para el mejoramiento, la propagación clonal y la conservación de plantas, permitiendo producir material vegetal homogéneo, sano y de alta calidad, bajo un sistema controlado que reduce riesgos y aumenta la eficiencia productiva.

3.10 Condiciones del Explante

La selección y el estado fisiológico del explante son factores determinantes para el éxito en la micropropagación del palto, debido a que la respuesta morfogénica depende en gran medida de la calidad, sanidad y grado de madurez del tejido utilizado. En estudios de cultivo de tejidos se ha

registrado que los explantes juveniles presentan mayor capacidad regenerativa y menor incidencia de oxidación fenólica, lo cual favorece el establecimiento in vitro y la formación de brotes (George et al., 2008; Cabrera, 2011).

Asimismo, la literatura indica que los explantes deben provenir de plantas madre mantenidas bajo condiciones sanitarias estrictas, preferentemente de brotes jóvenes, ápices caulinares o segmentos nodales, los cuales muestran mayor plasticidad celular y reducida carga microbiana. La exposición de las plantas madre a ambientes libres de estrés biótico y abiótico contribuye a que los tejidos presenten menor grado de contaminación interna, facilitando el proceso de desinfección superficial y el establecimiento en el medio de cultivo (Hartmann et al., 2014; Bhojwani & Razdan, 1996).

Otro aspecto crítico es el manejo previo del material vegetal. Se ha documentado que prácticas como el preacondicionamiento en invernadero, la aplicación de fungicidas sistémicos y el uso de fotoperiodos controlados mejoran la sanidad y el vigor de los tejidos destinados a cultivo in vitro. Estas estrategias reducen la presencia de microorganismos endófitos y aumentan la capacidad de los explantes para responder a los reguladores de crecimiento en el medio de cultivo (Loyola & Ochoa, 2012; George et al., 2008).

Finalmente, características como el tamaño del explante, el grado de lignificación y el contenido fenólico influyen directamente en la supervivencia y desarrollo inicial. En especies leñosas como el palto, la oxidación de compuestos fenólicos puede provocar necrosis tisular, por lo que se recomienda emplear antioxidantes, minimizar el daño mecánico durante la extracción y transferir rápidamente los tejidos al medio de cultivo para evitar estrés oxidativo (Cabrera, 2011; Loyola & Ochoa, 2012).

3.11 Micropropagación de Palto

La micropropagación de palto (*Persea americana* Mill.) se ha consolidado como una técnica clave para la producción de plantas uniformes, libres de patógenos y con alto potencial agronómico, debido a que esta especie presenta dificultades de propagación por métodos convencionales como el injerto o la estaca. La micropropagación permite multiplicar rápidamente genotipos élite y obtener material vegetal homogéneo bajo condiciones controladas, superando problemas de variabilidad genética y baja tasa de enraizamiento característicos del cultivo (Cabrera, 2011; George et al., 2008).

La eficiencia del proceso depende de varios factores, entre ellos el tipo de explante, la edad fisiológica del material vegetal, la composición del medio de cultivo y el uso adecuado de reguladores de crecimiento. En el caso del palto, los explantes más utilizados son ápices caulinares y

segmentos nodales juveniles, que presentan alta capacidad regenerativa y menor oxidación fenólica, una problemática frecuente en especies leñosas (Bhojwani & Razdan, 1996; Loyola & Ochoa, 2012). La selección de tejidos jóvenes es fundamental, ya que los explantes maduros tienden a lignificarse y presentan menor respuesta organogénica.

El protocolo general de micropropagación del palto comprende cuatro fases principales: establecimiento, multiplicación, enraizamiento y aclimatación. En la etapa de establecimiento, el control de la desinfección resulta crucial debido a la presencia común de microorganismos endófitos en tejidos leñosos. Durante la fase de multiplicación, las citoquininas, especialmente la 6-bencilaminopurina (BAP), han mostrado promover la formación de brotes múltiples, mientras que el enraizamiento suele requerir auxinas como el ácido indolbutírico (AIB), aunque la respuesta puede variar según la raza o cultivar (Cabrera, 2011; Hartmann et al., 2014).

La aclimatación representa uno de los pasos más críticos en palto debido a la sensibilidad de las plantas micropropagadas al estrés hídrico y lumínico. La literatura señala la necesidad de ambientes controlados de humedad, sombra parcial y sustratos de alta porosidad para garantizar una transición gradual al medio *ex vitro*, permitiendo el desarrollo de cutícula y la funcionalidad estomática (George et al., 2008; Loyola & Ochoa, 2012).

A pesar de sus ventajas, la micropropagación de palto enfrenta desafíos técnicos como la oxidación fenólica, la variabilidad en la respuesta al enraizamiento y la sensibilidad de algunos cultivares al estrés in vitro. Sin embargo, el desarrollo de protocolos estandarizados y el perfeccionamiento de medios de cultivo han incrementado la eficiencia de la técnica, consolidándola como una herramienta estratégica para la producción de plantas sanas y de alta calidad genética (Cabrera, 2011; Hartmann et al., 2014).

3.11.1 Selección del explante

La selección del explante constituye uno de los factores más determinantes en la micropropagación del palto, debido a que el tipo, la edad y el estado fisiológico del tejido influyen directamente en la capacidad de regeneración y en la respuesta morfogénica durante el cultivo in vitro. La literatura científica sostiene que los explantes juveniles presentan mayor potencial organogénico, menor tendencia a la lignificación y reducida oxidación fenólica, características esenciales para lograr un establecimiento exitoso en especies leñosas como el palto (George et al., 2008; Loyola & Ochoa, 2012).

Los explantes más utilizados en la micropropagación del palto incluyen ápices caulinares, yemas axilares y segmentos nodales provenientes de brotes jóvenes. Estos tejidos poseen mayor plasticidad

celular y un equilibrio hormonal favorable para la formación de brotes, lo que reduce la necesidad de reguladores de crecimiento exógenos en las primeras etapas (Bhojwani & Razdan, 1996; Cabrera, 2011). Además, los brotes juveniles presentan menor carga microbiana interna, lo cual disminuye la probabilidad de contaminación durante el establecimiento in vitro.

La condición sanitaria de la planta madre también es un aspecto crítico en la selección del explante. Plantas sometidas a estrés, afectadas por patógenos o mantenidas en ambientes no controlados tienden a generar tejidos con alta presencia de microorganismos endófitos, lo que compromete el proceso de desinfección y reduce drásticamente la tasa de éxito del cultivo in vitro. Por ello, se recomienda que el material vegetal provenga de viveros certificados o de plantas madre mantenidas en ambientes protegidos, con adecuada nutrición y manejo fitosanitario (Hartmann et al., 2014; Cabrera, 2011).

Finalmente, características como el tamaño del explante, el grado de madurez del tejido, la época de colecta y la rapidez con la que se transfiere al medio de cultivo influyen de manera significativa en la supervivencia y la respuesta morfogénica. Investigaciones en especies leñosas indican que la manipulación rápida y cuidadosa del explante reduce la oxidación y el daño mecánico, dos problemas frecuentes en el palto

debido a su alto contenido de compuestos fenólicos (Loyola & Ochoa, 2012; George et al., 2008).

En conjunto, la selección de explantes juveniles, sanos y adecuadamente manejados constituye la base para un protocolo eficiente de micropropagación del palto, asegurando mayor uniformidad, sanidad y vigor en las plantas resultantes.

3.11.2 Tratamientos de desinfección

La desinfección superficial de los explantes constituye una etapa decisiva para la micropropagación del palto (*Persea americana* Mill.), ya que permite eliminar microorganismos externos e internos que comprometen el establecimiento axénico del cultivo in vitro. En este proceso se emplean agentes desinfectantes con el fin de reducir la contaminación fúngica y bacteriana sin afectar la viabilidad del tejido vegetal. Según Cabrera (2011) y George et al. (2008), la eficacia del cultivo in vitro depende directamente de una desinfección adecuada, puesto que la presencia de contaminantes puede inhibir el crecimiento o provocar la necrosis de los explantes.

En investigaciones del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA), se ha propuesto un protocolo basado en una inmersión inicial en etanol al 70 % por 1 minuto, seguida de un tratamiento con hipoclorito de

sodio al 20 % más Tween-20 al 0,1 % durante 10 minutos, finalizando con tres a cuatro enjuagues con agua destilada estéril (INIA, 2011). Este procedimiento logra un equilibrio entre la eliminación de microorganismos y la minimización del daño oxidativo sobre los tejidos, favoreciendo el establecimiento saludable del material vegetal.

La selección del desinfectante y su concentración depende del tipo de tejido, ya que agentes como el etanol o el hipoclorito pueden causar quemaduras, oxidación fenólica o necrosis si se aplican de forma excesiva. Estudios en especies leñosas muestran que la combinación de etanol seguido de hipoclorito, junto con surfactantes, aumenta significativamente la eficacia del proceso de desinfección cuando se manejan tiempos precisos de exposición (Sigma, 2023; Pinto et al., 2012). De manera complementaria, algunos protocolos recomiendan el uso de peróxido de hidrógeno o soluciones de mercurio (aunque estas últimas con restricciones por su toxicidad), así como lavados prolongados con agua corriente antes de la desinfección química, lo cual reduce la carga microbiana inicial adherida al explante (Putz Agarwood Farm, 2024).

Posteriormente al tratamiento químico, se recomienda eliminar bajo condiciones estériles los tejidos dañados u oxidados para conservar únicamente el meristemo o yema viable. Este paso disminuye la presencia de compuestos fenólicos liberados y reduce focos de contaminación

interna, lo que incrementa la probabilidad de éxito en la etapa de establecimiento in vitro (INIA, 2011; George et al., 2008).

3.11.3 Medios de cultivo

El éxito de la micropropagación del palto depende en gran medida de la elección adecuada del medio de cultivo, ya que este proporciona los nutrientes, vitaminas, reguladores de crecimiento y condiciones osmóticas necesarias para el desarrollo del explante. El medio más empleado para especies leñosas, incluido *Persea americana* Mill., es el Murashige y Skoog (MS), debido a su alta concentración de macronutrientes y micronutrientes, que favorecen la multiplicación y la regeneración de tejidos (Murashige & Skoog, 1962; George et al., 2008). Sin embargo, debido a la sensibilidad del palto a niveles elevados de sales, algunos estudios recomiendan utilizar el medio MS a media fuerza o incluso medios formulados para frutales leñosos, como WPM (Woody Plant Medium), los cuales permiten un crecimiento más equilibrado y reducen el estrés fisiológico del tejido (Cabrera, 2011; Lloyd & McCown, 1981).

El medio de cultivo suele complementarse con fuentes de carbono, principalmente sacarosa en concentraciones entre el 2 y 3 %, que actúa como fuente energética mientras el explante no es capaz de fotosintetizar completamente (George et al., 2008). Asimismo, se agrega agar como agente gelificante o alternativas como gelrite, cuyo uso mejora la

transparencia del medio y la aireación de los tejidos. A nivel hormonal, la fase de multiplicación suele requerir citocininas como 6-bencilaminopurina (BAP) o kinetina, que estimulan la proliferación de brotes; mientras que la fase de enraizamiento utiliza auxinas como ácido indolbutírico (AIB) o ácido naftalenacético (ANA), esenciales para la diferenciación radicular (Hartmann et al., 2014).

La adición de antioxidantes, como el ácido ascórbico o el ácido cítrico, también es necesaria en palto debido a su elevada oxidación fenólica, la cual puede oscurecer el medio y causar necrosis en los explantes. En varios protocolos se recomienda pretratar los tejidos con soluciones antioxidantes o incorporar carbón activado al medio, lo cual permite absorber exudados fenólicos y mejorar la supervivencia en el establecimiento in vitro (Cabrera, 2011; George et al., 2008). Estos elementos, en conjunto, determinan la eficacia del proceso micropropagativo y deben ajustarse de acuerdo con la raza, variedad y respuesta fisiológica del material vegetal.

CAPITULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Nivel de Investigación

El nivel de investigación fue experimental.

4.2 Ubicación Geográfica y Temporal

El estudio experimental se ejecutó en la Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, específicamente en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal. Dicho laboratorio se encuentra localizado en el Centro Experimental Agrícola (CEA III) “Los Pichones”, donde se dispuso de las condiciones ambientales y equipamiento necesarios para el desarrollo de las actividades. El trabajo se desarrolló durante el periodo establecido para la fase experimental del proyecto.

4.3 Material Experimental

El material vegetal se obtuvo del Centro Experimental Agrícola I Magollo (CEA I Magollo) de una planta seleccionada de palto (*Persea americana* Mill.), a partir de la cual se extrajeron los tres tipos de explantes empleados como material experimental para el proceso de micropropagación in vitro. Para el establecimiento y crecimiento de los explantes se utilizó el medio de cultivo Murashige y Skoog (MS),

complementado con el instrumental y los equipos básicos del laboratorio requeridos para el desarrollo adecuado del experimento.

4.4 Tratamientos

Para este trabajo de investigación se empleó como factor de estudio la respuesta del palto (*Persea americana* Mill.) cv. “Topa-Topa” a la micropropagación in vitro, utilizando tres tipos de explantes obtenidos de una planta madre de aproximadamente 7 años de edad, ubicada en condiciones de campo del Centro Experimental Agrícola I Magollo (CEA I Magollo). Los explantes fueron recolectados de ramas juveniles semiherbáceas con un desarrollo aproximado de 3 a 4 meses, seleccionadas por su mayor capacidad de brotación y menor lignificación.

Los tratamientos fueron los siguientes:

4.4.1 T1: Yema apical

Extraída del extremo distal de la rama juvenil (0–1 cm del ápice), seleccionando un brote en crecimiento activo, con tejido meristemático visible y sin signos de lignificación.

4.4.2 T2: Yema axilar

Obtenida del segundo a tercer nudo por debajo del ápice de la misma rama juvenil, donde las yemas presentan un estado fisiológico intermedio y buen potencial de regeneración.

4.4.3 T3: Explante nodal

Segmento nodal tomado del tercer a quinto nudo de la rama, incluyendo un pequeño fragmento de entrenudo (1–1,5 cm), donde predominan tejidos más estables y con menor susceptibilidad a la necrosis por oxidación.

4.5 Diseño Experimental y Análisis de Datos

El experimento se estructuró bajo un Diseño Completamente Aleatorizado (DCA), conformado por tres tratamientos y veinte repeticiones cada uno. Se seleccionó este diseño debido a que el trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Vegetal, donde las condiciones ambientales y de manejo se mantienen controladas, lo que hace innecesario el uso de un diseño en bloques. El DCA es apropiado cuando las unidades experimentales presentan un alto grado de homogeneidad (Padrón, 1996).

Para el procesamiento de los datos obtenidos se aplicó un análisis de varianza (ANVA), empleando la prueba F a niveles de significancia de 0,05 y 0,01. Cuando el ANVA mostró diferencias significativas entre tratamientos, la comparación de medias se efectuó mediante la prueba de Duncan con un nivel de significancia de 0,05.

4.6 Procedimiento de la Investigación

4.6.1 Recolección y conservación del material experimental

El material experimental se obtuvo del Centro Experimental Agrícola I Magollo (CEA I Magollo) de una planta madre de palto cv. Topa-Topa durante las primeras horas de la mañana. Para evitar su deshidratación, los explantes fueron envueltos en papel toalla humedecido y colocados dentro de una caja de tecnopor, lo que permitió mantener condiciones de humedad adecuadas hasta su traslado al laboratorio.

4.6.2 Preparación del medio de cultivo

El medio de cultivo Murashige y Skoog (MS) se preparó con algunos días de anticipación a la recolección del material experimental. Este fue distribuido en tubos de ensayo y posteriormente esterilizado en autoclave a 121 °C durante 15 minutos, bajo una presión de 151 psi.

La formulación del medio se elaboró a partir de soluciones madre (stock), las cuales contienen los macro y microelementos esenciales para el adecuado desarrollo de los explantes.

4.6.3 Esterilización del instrumental de laboratorio

El instrumental utilizado durante la realización del experimento fue esterilizado en una estufa, previamente envuelto en papel periódico, a una temperatura de 180 °C durante un periodo de dos horas.

4.6.4 Desinfección del material experimental

Para la desinfección del material vegetal se aplicó un protocolo de introducción y multiplicación, tras lo cual los explantes fueron trasladados a la cámara de flujo laminar para su establecimiento y propagación bajo condiciones de completa asepsia.

- Con el propósito de garantizar la desinfección de los tres tipos de explantes, se evaluaron diferentes concentraciones de hipoclorito de sodio siguiendo el procedimiento descrito a continuación:
- Protocolo de introducción in vitro: Se empleó una solución de lejía al 20% (hipoclorito de sodio) adicionada con dos gotas de Tween-20, con un tiempo de exposición de 15 minutos. Este tratamiento fue complementado con la aplicación de fungicida y alcohol, seguido de varios enjuagues con agua destilada.
- Protocolo para el ingreso a la cámara de flujo laminar: Antes del establecimiento, los explantes fueron nuevamente tratados con una solución de lejía al 20% durante 2 minutos, acompañada de alcohol y enjuagues sucesivos con agua destilada esterilizada.

4.7 VARIABLES EVALUADAS

4.7.1 Contaminación de Explante

Se evaluó la presencia de agentes contaminantes en los tres tipos de explantes de palto, una vez a la semana mientras se desarrollaba el experimento. Unidad de medida explante por observación.

La contaminación microbiana se evaluó en los tres tipos de explantes de palto. Para ello, cada explante fue observado de manera periódica una vez por semana, registrándose la presencia de hongos o bacterias visibles en el medio de cultivo o sobre el tejido vegetal.

Se consideró como “explante contaminado” aquel que presentó micelio fúngico, colonias bacterianas, turbidez en el medio o cualquier signo de proliferación microbiana. La unidad de medida fue explante por observación, contabilizando tanto los explantes contaminados como el total de explantes establecidos.

El porcentaje de contaminación se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Contaminación (\%)} = \frac{\text{Número de explantes contaminados}}{\text{Número total de explantes introducidos}} \times 100$$

Esta evaluación permitió determinar la eficacia del proceso de desinfección y la calidad sanitaria del material vegetal introducido al cultivo in vitro.

4.7.2 Longitud de Brote

La longitud de brote se evaluó mediante una medición directa desde la base del brote hasta su punto de crecimiento más alto. Esta medición permitió determinar el desarrollo inicial de los explantes. Las mediciones se realizaron con la ayuda de una regla milimetrada o calibrador, garantizando precisión en los registros.

La unidad de medida utilizada fue el centímetro (cm), y los valores obtenidos se registraron individualmente para cada explante con el fin de analizar el comportamiento del crecimiento en los tres tipos de explantes.

4.7.3 Número de Hojas

El número de hojas se determinó mediante el conteo directo de todas las hojas presentes en cada brote desarrollado durante el experimento. Esta variable permitió evaluar el grado de desarrollo foliar y la respuesta morfogénica de los diferentes tipos de explantes de palto establecidos en cultivo in vitro.

La unidad de medida utilizada fue la unidad (hoja/explante), registrándose de manera individual para cada brote con el fin de comparar el comportamiento entre los tratamientos evaluados.

CAPITULO V

RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1 Contaminación de Explantes

La evaluación de contaminación de explantes de (*Persea americana* Mill.) se realizó a los 15 días del establecimiento en el sistema in vitro.

Tabla 1

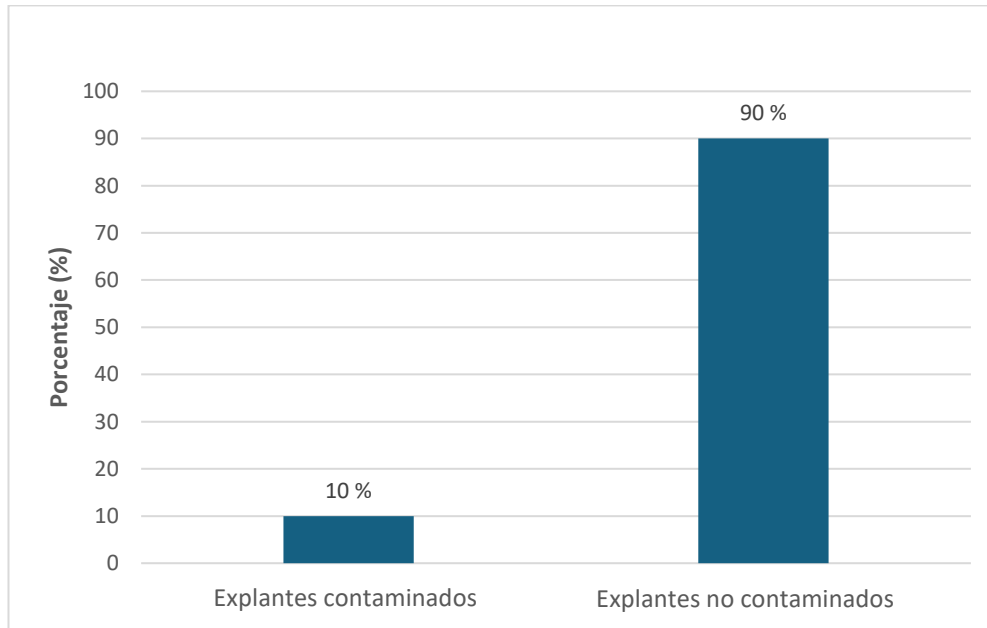
Porcentaje de contaminación de explantes.

<i>Trat.</i>	Nº Explantes introducidos	Nº Explantes contaminados	Contaminación %
T1	20	2	10
T2	20	3	15
T3	20	1	5
Promedio %			10

Fuente: Elaboración propia

Figura 1

Porcentaje de contaminación de explantes.



De los resultados se desprende que el tratamiento con Hipoclorito de sodio disminuyó la contaminación para los tres tipos de explantes; sin embargo, con la concentración de lejía al 20% se presentó oxidación fenólica.

El tiempo de exposición tuvo un efecto positivo en la contaminación presentándose mayores explantes libre de contaminación aquellos con mayor tiempo de exposición, pero con el efecto negativo de una alta oxidación fenólica.

A los 15 días de la evaluación la vigorosidad de los explantes muestra una tendencia positiva, habiéndose logrado un crecimiento pronunciado en explantes libre de contaminación.

La contaminación de explantes presentado se debió a la proliferación de bacterias y hongos.

Los resultados mostraron que el tratamiento T3 (explante nodal) presentó el menor porcentaje de contaminación (5%), seguido por T1 (yema apical) con 10% y T2 (yema axilar) con 15%.

Este comportamiento puede ser explicado por las diferencias estructurales entre los explantes. Los nudos poseen una base más compacta y menos expuesta al ambiente externo, lo que facilita su desinfección. Resultados similares fueron descritos por Pliego-Alfaro & Murashige (1987), quienes reportaron que tejidos nodales del palto pueden desinfectarse con mayor eficiencia debido a su menor superficie expuesta.

Por otro lado, las yemas axilares presentaron la mayor contaminación. Esto coincide con lo señalado por George et al. (2008), quienes indican que las yemas laterales de especies leñosas poseen microfisuras y sitios de inserción foliar que retienen microorganismos, reduciendo la eficiencia de desinfección.

Asimismo, la presencia de oxidación fenólica, especialmente en tratamientos con mayor tiempo de exposición al hipoclorito, concuerda con

lo indicado por Litz (2007), quien describe que el palto libera grandes cantidades de fenoles ante estrés oxidativo, lo cual favorece el pardeamiento y posible necrosis del tejido.

5.2 Longitud de Brote (cm)

Tabla 2

Análisis de varianza para longitud de brote.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F	
					0.05	0.01
Tratamientos	2	125,4	62,7	55,48 **	3,15	4,98
Error	57	64,41	1,13			
Total	59	189,94				

C.V. = 28,04 %

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza correspondiente a la longitud de brote muestra que el valor de F calculado (55,48) supera ampliamente a los valores críticos de $F_{0.05}$ y $F_{0.01}$, lo que indica la existencia de diferencias altamente significativas entre los tratamientos. Esto permite afirmar, con un nivel de confianza del 95 %, que los tratamientos influyen de manera significativa en la longitud del brote. El coeficiente de variación (C.V. = 28,04 %) refleja una variabilidad moderada dentro del experimento.

Tabla 3

Prueba de significación de Duncan al 95 % para longitud de brote.

Orden de merito	Tratamiento	Promedio	Significación 0.05
1°	T3	5,82	A
2°	T2	3,02	b
3°	T1	2,54	b

Fuente: Elaboración propia

La prueba de significación de Duncan al 95 % confirmó diferencias altamente significativas entre los tratamientos, destacando al T3 (explante nodal) como el de mayor altura promedio (5,82 cm), superando de manera estadísticamente clara a T2 (3,02 cm) y T1 (2,54 cm).

La superioridad de los explantes nodales puede atribuirse a que contienen yemas más desarrolladas y fisiológicamente maduras, capaces de generar una elongación rápida cuando se establecen en medio MS. Resultados similares fueron encontrados por Hartmann et al. (2014), quienes describen que los explantes nodales poseen mayor potencial de elongación debido a la presencia de meristemas latentes completos.

Además, estudios de Pliego-Alfaro & Bergh (1992) señalan que los nudos de palto responden favorablemente en micropropagación, especialmente durante la fase de elongación, debido a su mejor interacción con citocininas presentes en el medio.

Por el contrario, los explantes de yema apical mostraron la menor elongación. Esto coincide con los reportes de Whiley et al. (2002), quienes

indican que las yemas apicales del palto presentan una fuerte dominancia apical in situ, pero bajo condiciones in vitro pueden presentar estrés y retardar su elongación hasta completar la adaptación.

5.3 Número de Hoja por Brote (unidad)

Tabla 4

Análisis de varianza para número de hoja por brote (unidad).

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F calculada	F	
					0.05	0.01
Tratamientos	2	35,60	17,8	28,71 **	3,15	4,98
Error	57	35,10	0,62			
Total	59	70,73				

C.V. = 28,43 %

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza para el número de hojas por brote evidencia que el F calculado (28,71) supera ampliamente los valores críticos de $F_{0.05}$ y $F_{0.01}$, lo que demuestra la presencia de diferencias altamente significativas entre los tratamientos.

Esto confirma, con un nivel de confianza del 95 %, que los tratamientos influyen de manera significativa en el número de hojas por brote. El coeficiente de variación (28,43 %) refleja una variabilidad moderada en las unidades experimentales.

Tabla 5

Prueba de significación de Duncan al 95 % para número de hoja por brote.

Orden de merito	Tratamiento	Promedio	Significación 0.05
1°	T3	3,80	a
2°	T2	2,55	b
3°	T1	1,95	c

Fuente: Elaboración propia

La prueba de significación de Duncan al 95 % determinó que el tratamiento T3 (explante nodal) obtuvo el mayor número de hojas por brote (3,80) y fue estadísticamente superior tanto a T2 (2,55) como a T1 (1,95). Asimismo, T2 (yema axilar) mostró un rendimiento intermedio, siendo significativamente mayor que T1 pero inferior a T3, confirmando la superioridad del explante nodal en la formación de hojas por brote.

Este comportamiento está relacionado con la capacidad de los meristemas nodales para generar hojas activamente bajo condiciones in vitro, debido a que su estructura meristemática está más diferenciada. George et al. (2008), explican que los explantes nodales suelen formar hojas más rápidamente debido a la presencia de un meristemo axilar completo y fisiológicamente listo para la activación.

La menor producción de hojas en yemas apicales puede deberse al alto estrés oxidativo y a la sensibilidad de los ápices durante la fase inicial

de establecimiento, algo ampliamente reportado en palto y otras especies leñosas por Litz (2007); Raharjo et al., (2008).

Las yemas axilares generaron un número intermedio de hojas, lo cual coincide con estudios de Crane & Balerdi (2016), quienes indicaron que las yemas laterales del palto muestran buena capacidad de brotación, pero requieren condiciones internas estables para desarrollar más hojas.

CONCLUSIONES

Los tres tipos de explantes de palto cv. "Topa-Topa" presentaron diferentes respuestas durante la micropropagación in vitro, observándose variaciones significativas en contaminación, crecimiento y desarrollo foliar.

El explante nodal (T3) mostró el menor porcentaje de contaminación (5 %) y una mayor vigorosidad a los 15 días de cultivo, reduciendo las pérdidas por proliferación microbiana.

En relación con el crecimiento, el explante nodal registró la mayor longitud de brote (5,82 cm), siendo significativamente superior a los tratamientos T1 y T2.

El número de hojas también fue mayor en el explante nodal (3,80 hojas en promedio), lo que confirma su mayor capacidad de desarrollo in vitro.

El explante nodal (T3) se identifica como el material más eficiente y con mejor respuesta morfogénica para la micropropagación in vitro de palto cv. "Topa-Topa".

RECOMENDACIONES

Utilizar explantes nodales como material principal para futuros protocolos de micropropagación de palto debido a su mayor estabilidad, menor contaminación y mejor rendimiento en crecimiento.

Ajustar la concentración y el tiempo de exposición al hipoclorito de sodio para evitar procesos de oxidación fenólica, especialmente en explantes más juveniles como yemas apicales y axilares.

Evaluar el uso de agentes antioxidantes como ácido ascórbico o PVP durante la fase de establecimiento para reducir la oxidación y mejorar la supervivencia de explantes sensibles.

Ampliar la investigación hacia las fases de multiplicación y enraizamiento, con el fin de completar un protocolo integral de propagación in vitro del cultivar Topa-Topa.

Considerar la implementación de reguladores de crecimiento específicos para optimizar la brotación y elongación en explantes con menor respuesta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abo El-Fadl, R., Ahmed, M., & Abd Alhady, M. (2022). *In vitro propagation of avocado (Persea americana Mill.)*. Egyptian Journal of Desert Research, 72(1), 73–87.
- Ahmad, S. (2025). *Enhancing avocado production through optimized in vitro propagation techniques* [Tesis]. AUB.
- Awazade, A. S., & Verma, D. (2024). Advancing vegetable grafting: A comprehensive review of techniques, challenges, and the future of automated solutions. *Journal of Scientific Research and Reports*, 30(11), 517–530.
- Barrientos, A. (2022). *Nuevas variedades y portainjertos de paltos* (Informe técnico). AvocadoSource.
- Bender, G. S. (2018). *Avocado rootstocks*. University of California Agriculture and Natural Resources (UCANR).
- Benzioni, A., Kusewitt, D. F., & Forti, M. (1992). *In vitro propagation of avocado*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture.
- Bhojwani, S. S., & Razdan, M. K. (1996). *Plant tissue culture: Theory and practice*. Elsevier.

- Cabrera Pintado, M. (2011). *Morfología y desarrollo del cultivo de palto*. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).
- Cabrera Pintado, R. M. (2011). *Micropropagación de palto (Persea americana Mill.)*. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA).
- CABI (Centre for Agriculture and Bioscience International). (2018). *Persea americana: Descripción botánica y manejo del cultivo*. CABI.
- CEDEPAS (Centro de Desarrollo y Promoción Social). (2018). *Guía técnica de producción de palto*. CEDEPAS.
- CEDEPAS (Centro de Desarrollo para la Agricultura Sostenible). (2018). *Propuesta técnica para el manejo del cultivo de palto*. CEDEPAS.
- Cooper, P. A. (1987). Advances in the micropropagation of avocado (*Persea americana* Mill.). En *Symposium on In Vitro Problems Related to Mass Propagation of Horticultural Plants (Acta Horticulturae 212)*, 92–99.
- Cooper, W. C. (1987). *Avocado flowering and pollination*. Agricultural Research Service.
- Crane, J. H., & Balerdi, C. (2016). *Avocado growing in the home landscape*. University of Florida, IFAS Extension.

- DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística). (2015). *Caracterización del cultivo de aguacate en Colombia*. DANE.
- Desert Research Center. (2022). *In vitro propagation of avocado (Persea americana Mill.)*. Egyptian Journal of Desert Research, 72(1), 73–87.
- Fernández Pérez, A. N. (2020). *Instalación de palto cv. Hass en la Irrigación Olmos – Lambayeque* (Informe técnico). Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).
- Gálvez-Tuesta, O., & Chico-Ruíz, J. (2016). Callos embriogénicos inducidos en tallos de *Persea americana* con diferentes combinaciones de reguladores del crecimiento. *Revista SAGASTEGUIANA*, 4(2), 39–50.
- George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G.-J. (2008). *Plant propagation by tissue culture*. Springer.
- Grupo Hijuelas & Universidad de Queensland. (2025, 15 julio). Grupo Hijuelas y Universidad de Queensland validan tecnología pionera de micropropagación in vitro de paltos. *PortalFrutícola*.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., & Geneve, R. L. (2014). *Plant propagation: Principles and practices* (8.^a ed.). Pearson.

IDMA (Instituto de Desarrollo y Medio Ambiente). (2023). *Manual técnico del cultivo de palto*. IDMA.

IDMA (Instituto de Desarrollo y Medio Ambiente). (2023). *Prácticas agronómicas para el cultivo de palto*. IDMA.

INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). (2011). *Propagación clonal modificada en portainjerto de palto cv. Duke 07*. INIA.

INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). (2011). *Micropropagación de palto: Protocolo estandarizado*. INIA.

INIA (Instituto Nacional de Innovación Agraria). (2011). *Protocolo de desinfección de palto (Persea americana Mill.)*. INIA.

INTAGRI (Instituto de Investigación y Capacitación Agropecuaria, Industrial y Forestal). (2019). *Requerimientos de clima y suelo en el cultivo de aguacate*. INTAGRI.

Ircañaupa Huamaní, E. (2009). *Propagación clonal de paltos por etiolación*. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCHH).

Jácobo Morales, C. (2021). *Producción de plantas de palto en vivero en Chilca-Lima y San Miguel-Ayacucho*. Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

- Krumreich, C., Leite, T., & Aguiar, M. (2018). Characterization of avocado genotypes grown in Andean regions. *International Journal of Food Science and Technology*, 56(10), 5040–5048.
- La República. (2021). *Variedades de palta cultivadas en el Perú*. La República.
- Lemus, G. (2011). *El cultivo del palto*. Universidad de Chile.
- Lemus, R. (2011). *Manual de identificación botánica y características morfológicas del palto*. IICA.
- Litz, R. E. (2007). *Avocado*. En *Fruit Breeding*. Springer.
- Lloyd, G., & McCown, B. (1981). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators' Society*, 30, 421–427.
- Loyola-Vargas, V. M., & Ochoa-Alejo, N. (2012). *Plant cell culture protocols* (3.^a ed.). Springer.
- MIDAGRI (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego). (2020). *Condiciones agroclimáticas del cultivo de palto*. MIDAGRI.
- MIDAGRI (Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego). (2020). *Guía técnica para el cultivo de palto en el Perú*. MIDAGRI.

- Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI). (2020). *Manejo agronómico y aspectos fisiológicos del palto en el Perú*. MIDAGRI.
- Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473–497.
- Padrón, J. (1996). *Análisis del discurso e investigación social*. Temas para seminario. Universidad Simón Rodríguez (USR).
- PeruFrut. (2019). *Características de los portainjertos de paltos*. PeruFrut.
- Pinto, A. C. R., Demattê, M. E. S. P., Creste, S., & Barbosa, J. C. (2012). Surface-sterilization procedures for in vitro culture of orchid seeds. *Acta Horticulturae*, 961, 50–55.
- Pliego-Alfaro, F., & Bergh, B. O. (1992). *Avocado*. En *Biotechnology of Perennial Fruit Crops*.
- Pliego-Alfaro, F., & Murashige, T. (1987). Effects of antioxidants and phenolic adsorbents on growth of avocado tissue cultures. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*.
- Putz Agarwood Farm. (2024). *Persea americana (avocado) tissue culture protocol*. Putz Agarwood Farm.

- Raharjo, S. H. T., Litz, R. E., & Moon, P. A. (2008). Micropropagation of avocado via shoot-tip culture. *HortScience*.
- Restrepo Osorio, C., Gómez Velásquez, F. A., Gil Correal, A., Torres Bonilla, J. M., & Urrea Trujillo, A. I. (2018). *In vitro* propagation of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. Hass through morphogenesis. *Acta Agronómica*, 67(1), 160–167.
- Roca, W., & Mroginski, L. (1991). *Cultivo de tejidos en la agricultura: Fundamentos y aplicaciones*. CIAT.
- Rodarte Perales, E. (2023). *Inducción in vitro de brotes y callos en aguacate (Persea americana Mill.)* [Tesis]. Universidad Autónoma Chapingo.
- Rodríguez Ayala, N. P. (2022). *Evaluación de sustratos y dosis de Root-hor en el enraizamiento de estacas de palto en Tingo María* [Tesis]. Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS).
- Sigma-Aldrich. (2023). *Explant sterilization – plant tissue culture protocol*. Sigma-Aldrich.
- Universidad Nacional de Cajamarca (UNC). (2025). *Características físico-químicas de frutos de palta Hass y Fuerte en el Valle de Condebamba*. UNC.

Universidad Nacional de Colombia (UNAL). (2018). *In vitro propagation of avocado cv. Hass through morphogenesis*. *Acta Agronómica*, 67(1), 160–167.

Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión (UNJFSC). (2018). *Evaluación de variedades de palto en sistemas de producción regionales*. UNJFSC.

Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS). (2022). *Ensayos de propagación clonal de portainjertos de aguacate* (Tesis / reporte institucional). UNAS.

Universidad Tecnológica de los Andes (UTEA). (2025). *Variedades comerciales de palto cultivadas en el Perú*. UTEA.

Vargas, J., Ramírez, M., & Torres, P. (2022). Manejo hídrico y eficiencia productiva en el cultivo de palto. *Revista de Agricultura Andina*, 14(2), 45–58.

Vargas, J., Torres, A., & Rengifo, C. (2023). *Biología reproductiva y dinámica floral del palto (Persea americana)*. UNSAAC.

Vargas, J., Torres, P., & Rengifo, H. (2023). Influencia de la temperatura y radiación solar en la fenología del palto. *Journal of Tropical Crops*, 11(1), 22–33.

Vásquez Meléndez, K. J., & Chirinos Guevara, E. S. (2019). *Inducción de brotes in vitro de palto (Persea americana var. Hass) utilizando combinaciones de BAP y AG₃* [Tesis]. Universidad Nacional del Santa (UNS).

Villa-Sánchez, F. (2008). Inducción in vitro de brotes de cultivares de aguacate raza mexicana. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 7(2), 25–34.

Western Sydney University (WSU). (2002). *Studies on the tissue culture and potential for the development of a genetic transformation system for avocados*.

Williams, L. O. (1977). *Avocado taxonomy and history* [Documento histórico sobre *Persea americana*]. (Descripción de las razas Mexicana, Guatemalteca y Antillana y su clasificación botánica). Manuscrito no publicado / citado en análisis de Brown & colaboradores.

Whiley, A., Schaffer, B., & Wolstenholme, B. (2002). *Avocado: Botany, production and uses*. CABI.

ANEXOS

Anexo 1. Promedio de longitud de brote de explante

Repetición	Explante		
	T1 (yema apical)	T2 (yema axilar)	T3 (explante nodal)
R1	1,50	2,10	6,50
R2	2,00	3,50	4,80
R3	1,90	1,50	5,80
R4	3,50	3,50	7,00
R5	2,00	1,30	5,00
R6	1,20	3,00	5,50
R7	3,00	2,10	3,80
R8	2,50	4,30	4,50
R9	2,00	1,70	4,80
R10	3,50	2,50	6,50
R11	2,00	3,20	2,50
R12	2,60	2,80	5,90
R13	1,80	3,50	7,50
R14	3,20	2,30	7,00
R15	3,00	4,80	6,50
R16	2,30	4,80	6,00
R17	4,00	2,80	6,50
R18	2,80	2,50	6,00
R19	2,00	3,20	6,80
R20	3,50	5,00	7,50
Promedio	2,54	3,02	5,82

Anexo 2. Promedio de número de hojas por brote de explante

Repetición	Explante		
	T1 (yema apical)	T2 (yema axilar)	T3 (explante nodal)
R1	1,00	3,00	5,00
R2	2,00	3,00	3,00
R3	2,00	2,00	3,00
R4	1,00	2,00	3,00
R5	3,00	3,00	4,00
R6	1,00	2,00	5,00
R7	2,00	2,00	3,00
R8	2,00	4,00	4,00
R9	3,00	3,00	5,00
R10	2,00	2,00	4,00
R11	2,00	1,00	2,00
R12	1,00	3,00	5,00
R13	2,00	2,00	4,00
R14	3,00	2,00	3,00
R15	2,00	2,00	3,00
R16	1,00	3,00	5,00
R17	2,00	4,00	3,00
R18	2,00	3,00	4,00
R19	3,00	3,00	4,00
R20	2,00	2,00	4,00
Promedio	1,95	2,55	3,80

Anexo 3. *Planta madre de Persea americana Mill.*



Anexo 4. *Conservación del material seleccionado.*



Anexo 5. *Explante seleccionados en el Laboratorio para el protocolo de Introducción.*



Anexo 6. *Explante nodal, yema axilar y apical en cámara de flujo laminar para el establecimiento in vitro*

