

## NOTA TÉCNICA

## ***Azospirillum brasilense* Y ÁCIDO INDOL-3-BUTÍRICO EN EL ENRAIZAMIENTO DE TALLOS DE PALTO (*Persea americana* Mill.)**

Juan R. Palomino-Malpartida<sup>1</sup>, Roberta Esquivel-Quispe<sup>1</sup>, Jorge L. Huamancusi-Morales<sup>1</sup>, Susan M. Alarcón-Romani<sup>2</sup> y Cayo G. Blásquez-Morote<sup>2</sup>

## RESUMEN

La propagación del palto por semilla presenta inconvenientes porque la población obtenida es heterogénea y de productividad variable; en cambio, las producidas a través de tallos presentan características productivas homogéneas. Con el objetivo de estudiar mejoras a la propagación mediante tallos, se evaluó el efecto de aplicaciones de *Azospirillum brasilense* y de ácido-3-indol butírico (AIB), de forma independiente o en combinación, al tallo del palto. El experimento fue conducido mediante un diseño completamente aleatorizado, con cuatro tratamientos (*A. brasilense*, AIB, *A. brasilense* más AIB, y un testigo) con cinco repeticiones. En condiciones de laboratorio y cámara de crecimiento, se injertaron plántulas nodrizas de la variedad Villacampa con esquejes de la variedad Topa Topa; luego de la formación de la unión de tejidos, las plantas fueron mantenidas en condiciones de oscuridad para obtener brotes etiolados. Dichos tallos fueron sometidos a un raspado de aproximadamente 0,5 mm de profundidad, donde se aplicaron los tratamientos. Luego se realizó un acodo cubriendo el tallo etiolado con sustrato. Las variables evaluadas fueron altura de planta, diámetro de tallo, peso fresco de follaje y de raíces. Los resultados mostraron que el tratamiento con la combinación de los productos promovió el peso fresco de raíces y de follaje, así como del diámetro de tallo y de altura de la planta, superando significativamente al testigo. Se concluye que el tratamiento combinado influye significativamente en el enraizamiento de brotes etiolados y acodados de palto.

**Palabras clave adicionales:** Acodo, regulador de crecimiento, rizobacteria, tallo etiolado

## ABSTRACT

### ***Azospirillum brasilense* and indol-3-butyric acid in rooting of avocado stems (*Persea americana* Mill.)**

The propagation of avocado plants by seed presents the disadvantage that the population obtained is heterogeneous and of variable productivity. Instead, those obtained through stems have homogeneous productive characteristics. In order to study improvements to propagation through stems, the effect of applications of *Azospirillum brasilense* and indole-3-butyric acid (IBA), to the stem of the avocado, either independently or in combination, was evaluated. The experiment was conducted in a completely randomized design, with four treatments (*A. brasilense*, IBA, *A. brasilense* plus IBA, and a control) with five repetitions. Under laboratory and growth chamber conditions, grafting the nurse seedlings var. Villacampa with cuttings of the var. Topa Topa was performed. After the formation of the tissue union, the plant was kept in dark conditions to obtain etiolate shoots. These stems were subjected to a scraping of approximately 0.5 mm deep in the basal part, where the treatments were applied. Then a layering was performed covering the etiolated stem with substrate. The variables evaluated were plant height and stem diameter, along with fresh weight of foliage and roots. The results showed that the combination treatment better promoted all variables, significantly exceeding the control. It is concluded that the combination treatment influences the rooting of etiolated and layered avocado shoots.

**Additional keywords:** Etiolated stem, growth regulator, layering, rhizobacteria

## INTRODUCCIÓN

*Persea americana* Mill., o palto, produce una fruta muy apreciada por el tipo de grasa saludable y

propiedades nutritivas para la alimentación humana; en consecuencia, su consumo crece intensamente, y en la actualidad, Perú es el

Recibido: Marzo 20, 2022

Aceptado: Agosto 15, 2022

<sup>1</sup> Laboratorio de Fruticultura y Post Cosecha de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH), Ayacucho, Perú. e-mail: [juan.palomino@unsch.edu.pe](mailto:juan.palomino@unsch.edu.pe) (autor de correspondencia); [roberta.esquivel@unsch.edu.pe](mailto:roberta.esquivel@unsch.edu.pe); [jorge.huamancusi@unsch.edu.pe](mailto:jorge.huamancusi@unsch.edu.pe)

<sup>2</sup> Proyecto de Investigación de Bacterias Promotoras de Crecimiento (PGPR), UNSCH-FOCAM. Ayacucho, Perú. e-mail: [cayogbm@gmail.com](mailto:cayogbm@gmail.com); [sumi222015@gmail.com](mailto:sumi222015@gmail.com)

segundo país exportador de esta fruta en el mundo (Maraví, 2021). Los sistemas de producción del palto vienen utilizando plantas injertadas sobre patrones de origen sexual, obteniéndose mucha variabilidad en cuanto a vigor, productividad, época de maduración y características que limitan el buen manejo agronómico de las plantaciones. Por el contrario, la multiplicación vegetativa permite obtener plantas genéticamente idénticas con rendimientos homogéneos y resistencia a la enfermedad denominada muerte regresiva, ocasionada por *Phytophthora cinnamomi* Rands, el patógeno más agresivo del cultivo del palto (Freire et al., 2018).

El enraizamiento de esquejes o tallos formados al ambiente natural del palto es aún inviable. En la mayoría de variedades de palto, el tallo producido a la luz no origina un número y densidad de raíces adecuados, a diferencia del tallo etiolado obtenido en oscuridad (Massoumi et al., 2017). La utilización de la técnica de miniestacas, asociada a la etiolación posibilitan tasas de enraizamiento viables, se han mostrado promisorias para la propagación vegetativa del algarrobo blanco (*Prosopis alba* Griseb) y posiblemente de otras especies nativas de difícil enraizamiento (Araujo et al., 2021).

Alcarráz et al. (2019) indicaron que las cepas nativas de la rizosfera de plantas de cafeto de los géneros *Azospirillum*, *Pseudomonas* y *Burkholderia* presentan actividad *in vitro* de promoción del crecimiento vegetal. Esto las convierte en potenciales biofertilizantes y se infiere que *A. brasilense* tiene similar efecto en el cultivo de palto.

El *A. brasilense* es del grupo de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, (PGPR, por sus siglas en inglés) (Cassán et al., 2014; Pereg et al., 2016). Khan et al. (2018) reportaron que *A. brasilense* constituye una alternativa biotecnológica en la agricultura sustentable que permite incrementar el rendimiento de los cultivos. Los inoculantes a base de rizobacterias permiten disminuir los costos de producción y el uso de fertilizantes químicos, plaguicidas y reguladores artificiales que tienen efectos negativos para el ambiente (Velasco et al., 2020). La acción de estos microorganismos facilita la absorción de nutrientes, lo cual permite disminuir el volumen utilizado de fertilizantes y pesticidas (Srivastava y Anshika, 2017; Ucea et al., 2020). El mecanismo

por el cual el *A. brasilense* mejora el crecimiento del vegetal es la producción de fitohormonas, principalmente el ácido-3-indol acético (AIA) que es una auxina encargada de estimular el crecimiento de raíces a partir del tallo (Ucea et al., 2020). Es así que Li et al. (2005) lograron la producción de mayor número y longitud de raíces de esquejes de clavel, aplicando *A. brasilense* y AIB (0.1%).

El AIB, aplicado externamente a las estacas de propagación, se utiliza principalmente para la inducción de raíces adventicias con resultados favorables en el número y longitud de éstas (Rogel et al., 2000). Para la propagación del árbol de la quina (*Cinchona officinalis* L.), Sánchez et al. (2021), informaron haber conseguido raíces en mini-estacas basales y apicales del árbol con el remojo en AIB.

Estay et al. (2016) afirmaron que esquejes de palto injertados, a los que se le practicaron lesiones superficiales en la corteza del tallo y con aplicación de auxinas para estimular el enraizamiento, presentaron una tasa baja de prendimiento, mientras que esquejes de tallos semileñosos de laurel (*Laurus nobilis* L.) que recibieron 4000 mg·L<sup>-1</sup> de AIB lograron 82.2% de enraizamiento frente al control (sin tratamiento con AIB), el cual no enraizó (Saeed y Amin, 2020). Por su parte, Tarnowski (2021) concluyó que no es necesaria la aplicación de AIB para obtener enraizamiento en los acodos aéreos de algarrobo (*Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz), aunque el producto puede mejorar ligeramente el porcentaje de prendimiento en acodos realizados en primavera. Lo anterior permite inferir que la edad de las ramas tiene influencia en el enraizamiento de estacas. Sin embargo, el palto no enraíza a partir de estacas leñosas en condiciones normales, sino aplicando la etiolación y acodado, así como el uso de fitohormonas (Rogel et al., 2000).

El presente trabajo se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del *A. brasilense* y del AIB, aplicados de manera individual y en conjunto sobre el enraizamiento y otras variables vegetativas del tallo etiolado y acodado del palto.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de Fruticultura y Postcosecha de la Facultad de Ciencias Agrarias, ubicado en el campus de la Universidad Nacional de San Cristóbal de

Huamanga-Ayacucho a 2750 msnm.

**Preparación de plantas nodrizas.** Las semillas seleccionadas por peso, tamaño y sanidad del palto de la variedad Villacampa fueron desinfectadas empleando un fungicida sistémico a base de carboxín y captan, y luego utilizadas para obtener las plantas nodrizas. Finalmente, con el propósito de facilitar la emisión de la plúmula y radícula, se realizó el corte en el ápice y en la base de la semilla con una cuchilla desinfectada con hipoclorito de sodio al 2 %.

Las plantas fueron cultivadas en una cámara de crecimiento con temperaturas que oscilaron entre 24,5 y 28,5 °C y humedad relativa entre 70 y 75%. Para los riegos se utilizó agua del grifo la cual fue reposada por 24 horas con la finalidad de disminuir su contenido de cloro.

**Material microbiológico y regulador del crecimiento vegetal.** Se utilizó la rizobacteria *A. brasilense*, aislada de muestras de raíces de maíz. Dichas cepas fueron seleccionadas y conservadas en el laboratorio del proyecto promotores del crecimiento vegetal de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga (UNSCH-FOCAM). El inoculante se preparó en medio líquido, para el cual se utilizó 1 mL de caldo de *A. brasilense* cultivado en 150 mL del medio específico NFb libre de nitrógeno, con azul de bromotimol e incubado a 30 °C por 5 días. Posteriormente, con el objeto de determinar el número de bacterias viables, se tomó 1 mL de caldo para la siembra en medio sólido NFb con 20 mg·L<sup>-1</sup> de extracto de levadura (Dobereiner, et al., 1995; García, et al., 2012). Después de la incubación se desarrollaron colonias blanquecinas y pequeñas con viraje del medio de verde a azul. El método de tinción permitió observar bacilos Gram negativos que confirmaron la presencia de *A. brasilense*, con una concentración de 1.5x10<sup>9</sup> UFC·mL<sup>-1</sup>, estimada por la técnica de recuento del número más probable. El AIB fue adquirido en laboratorios y se utilizó a una concentración de 2000 mg·L<sup>-1</sup>.

**Preparación del sustrato.** El material de propagación estuvo constituido de estiércol de vacuno descompuesto y seco, tierra agrícola y arena de río (1:1:1). La desinfección del sustrato humedecido se realizó por solarización; extendiéndose sobre el piso de concreto y polietileno negro, aproximadamente una capa de sustrato del 10 cm. de altura, cubriendo con plástico transparente durante 5 días, para un mejor efecto de

la temperatura sobre los microorganismos contaminantes; procedimiento aproximadamente similar a lo recomendado por Rosa et al. (2018).

**Injerto de plantas nodrizas.** Ramas vegetativas con yema terminal obtenidas de plantas adultas de palto variedad Topa Topa fueron injertadas mediante el tipo inglés simple sobre las plantas nodrizas a 15 cm de altura. El diámetro del patrón y la rama a injertar fueron semejantes; el labrado de las ramas se realizó mediante un corte en bisel, los tejidos cortados se juntaron con la mayor exactitud posible, para luego realizar el amarre con cinta plástica, y se mantuvo así hasta que el injerto cicatrizó.

La brotación de las yemas se obtuvo en un espacio con luz natural durante 45 días y luego las plantas fueron conducidas en un ambiente oscuro, para obtener brotes etiolados (Figura 1). El método adoptado se basó en la experiencia de Frolich y Platt (1972) quienes lograron propagar asexualmente el palto, enraizando tallos etiolados sometidos a acodos.

**Acodo y aplicación de tratamiento.** El brote obtenido a través del injerto fue sometido en la parte basal a un raspado superficial de aproximadamente 0,5 mm de profundidad en la circunferencia del tallo con la ayuda de una cuchilla de sierra desinfectada. En esa superficie se aplicó el inoculante líquido *A. brasilense* y AIB, utilizando pipetas de vidrio y material absorbente con el inóculo, para permitir el contacto con las lesiones del tallo. Finalmente, se realizó el acodo cubriendo el tallo etiolado con sustrato (arena, materia orgánica y tierra negra en la proporción 1:1:1).



**Figura 1.** Brotes etiolados de plantas de palto (*Persea americana*) usados en el ensayo

**Variables evaluadas.** A los 90 días, después de la instalación del experimento, se realizaron

mediciones de la altura de planta y diámetro del tallo, medido a 5 cm del cuello de la planta, así como el peso fresco del follaje y raíces.

**Diseño experimental.** Se empleó el diseño completamente al azar, con 4 tratamientos y 5 repeticiones (cada repetición fue un promedio de 5 plantas), totalizando 20 unidades experimentales y sobre las que se aplicaron los siguientes tratamientos: T0 (testigo), T1 (AIB), T2 (*A. brasilense*) y T3 (*A. brasilense* más AIB). Para el análisis estadístico se empleó análisis de varianza y separación de medias de Tukey, usando el

programa estadístico InfoStat, versión 2017.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el Cuadro 1 se muestra altura de planta, peso fresco de follaje y peso fresco de raíces donde el T3 supera con significancia a los tratamientos T1, T2 y T0.

En el mismo cuadro se observa que los tratamientos T3 y T2 no presentan diferencias estadísticas en el diámetro de tallo y peso fresco de raíces, pero son superiores al T1 y T0.

Cuadro 1. Efecto de la inoculación con *A. brasilense* y AIB en la altura, diámetro y pesos de las plántulas de *Persea americana* Mill

Tratamiento	Altura de planta (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Peso fresco del follaje (g)	Peso fresco de raíces (g)
T0	28,6 c	6,6 b	20,41 c	33,85 c
T1	40,6 b	6,0 b	28,40 b	43,34 bc
T2	39,4 b	8,4 a	30,23 b	56,08 ab
T3	50,4 a	8,2 a	37,81 a	61,76 a

Letras distintas en columnas indican diferencias significativas según la prueba de Tukey ( $P \leq 0,05$ ).

T0: Testigo, T1: AIB, T2: *A. brasilense*, T3: *A. brasilense* más AIB

Se evidenció que las variables altura de planta, diámetro del tallo, peso fresco de follaje y peso fresco de raíces fueron incrementadas en relación al testigo por efecto de *A. brasilense* y AIB, aplicados por separado y combinados. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Ucea et al. (2020) y Cassán et al. (2021), quienes afirman que las bacterias *A. brasilense* son exitosas promoviendo el crecimiento vegetal. Así mismo, Dalla et al. (2018) evaluaron el enraizamiento de esquejes de olivo (*Olea europaea* L.) utilizando AIB más *A. brasilense*, y observaron diferencias significativas respecto al control, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo.

El tratamiento T3 (*A. brasilense* combinado con AIB) mostró mejores resultados que con la aplicación individual de los productos, lo que permite inferir un efecto sinérgico de ellos. Lo anterior coincide con lo obtenido por Dalla et al. (2018), quienes lograron enraizar esquejes de olivo con AIB e inoculación de la bacteria *A. brasilense*. En este sentido, Khan et al. (2018) señalan que los reguladores y las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal trabajan sinérgicamente para promover el crecimiento de plantas en condiciones de déficit de nutrientes.

El enraizamiento de esquejes, según Massoumi et al. (2017), depende no sólo del tratamiento y del genotipo sino también del estado y condición de la planta donante y del estado de etiolación de la rama, proceso que puede estar relacionado con el transporte de auxina y con la reducción de hidratos de carbono endógeno que influyen en tejidos jóvenes, los cuales muestran una mayor capacidad de enraizamiento. En el caso del palto fue necesario darle la condición de etiolado a los tallos que recibieron los tratamientos como requisito para la propagación; esta afirmación se corrobora con lo señalado por Frolich y Platt (1972), quienes observaron que con la etiolación del tejido, en la mayoría de las variedades de aguacate, se produce mayor diferenciación de raíces que en tejido producido en condiciones de luz. Por su parte, Cassán et al. (2014) señalan a *A. brasilense* como modificador del crecimiento, desarrollo y comportamiento de las plantas en condiciones de estrés, otorgándole ventajas de sobrevivencia.

El mecanismo principal por el cual *A. brasilense* mejora el crecimiento vegetal parece ser la producción de fitohormonas, principalmente el ácido-3-indol acético (AIA) (Ucea et al., 2020), lo cual sugiere que junto al AIB constituyen dos

reguladores del crecimiento vegetal que determinan la formación de raíces sobre los tallos etiolados.

### CONCLUSIONES

La combinación de *A. brasilense* y AIB en brotes etiolados y acodados de palto (*Persea americana* Mill) promovieron, con relación al testigo, mayor altura de planta y diámetro del tallo, así como del peso fresco de follaje y raíces.

La aplicación aislada de *A. brasilense* incrementó el valor de todas las variables anteriores, mientras la aplicación de AIB sólo superó al testigo en altura de planta y peso fresco de follaje.

### AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga y al Proyecto microorganismo promotores del crecimiento vegetal (FOCAM-UNSCH) por su apoyo con los inoculantes a base de *A. brasilense*.

### LITERATURA CITADA

- Alcarraz, M., V. Heredia y J.P. Julian. 2019. Cepas bacterianas nativas con actividades promotoras del crecimiento vegetal aisladas de la rizósfera de *Coffea* spp. en Pichanaqui, Perú. *Biotecnología Vegetal* 19(4): 285-295.
- Araujo, J.C., A.G. Bender, A.G. Reutemann, M.G. Perreta, M.S. Córdova, J.C. Tivano et al. 2021. Influencia del grado de lignificación de los propágulos de jardín y minijardín clonal en el enraizamiento de estacas y miniestacas de *Prosopis alba* Griseb. *Fave-Ciencias Agrarias* 20(1): 287-304.
- Cassán, F., J. Vanderleyden y S. Spaepen. 2014. Physiological and agronomical aspects of phytohormone production by model plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) belonging to the genus *Azospirillum*. *J. Plant Growth Regulation* 33: 440-459.
- Cassán, F., G. López, S. Nievas, A. Coniglio, D. Torres, F. Donadio et al. 2021. What do we know about the publications related with *Azospirillum*. A metadata analysis. *Microbial Ecology* 81(1): 278-281.
- Dalla, D., F. Villa, D. Fernandes y F. Corbari. 2018. Rooting of semihardwood cuttings of olive: indolbutyric acid, calcium and *Azospirillum brasilense*. *Comunicata Scientiae* 9(1): 34-40.
- Dobereiner, J., V. Baldani y J.I. Baldani. 1995. Como isolar e identificar bacterias diazotróficas de plantas não leguminosas-Itaguaí: Embrapa-CNPq. 60 p. <https://n9.cl/3zf34> (consulta de agosto 2022).
- Estay, C., R. Cautín, A. Neaman y M. Castro. 2016. Clonal propagation of the avocado: effects of the rooting step on graft union formation and development. *Ciencia e Investigación Agraria* 43(2): 233-241.
- Freire, M., B. do Amaral, S. Rodrigues, T. Cantuarias-Avilés y C. Fassio. 2018. Avances en la propagación del aguacate. *Revista Brasileira de Fruticultura*. 40(6): 1-18.
- Frolich, E.F. y R.G. Platt, 1972. Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook* 55: 97-109.
- García-Olivares, J., A. Mendoza-Herrera y N. Mayek-Pérez. 2012. Efecto de *Azospirillum brasilense* en el rendimiento del maíz en el norte de Tamaulipas, México. *Universidad y Ciencia* 28(1): 79-84.
- Khan, N., A. Bano y P. Zandi. 2018. Effects of exogenously applied plant growth regulators in combination with *pgpr* on the physiology and root growth of chickpea (*Cicer arietinum*) and their role in drought tolerance. *Journal of Plant Interactions* 13(1): 239-247.
- Li, Q., S. Saleh-Lakha y B.R. Glick. 2005. The effect of native and ACC deaminase-containing *Azospirillum brasilense* Cd1843 on the rooting of carnation cuttings. *Canadian Journal of Microbiology* 51: 511-514.
- Maraví, D. 2021. Palta Hass consolida al Perú como el segundo productor y exportador a nivel mundial. Departamento de Inteligencia de Mercados-PROMPERÚ. <https://n9.cl/mfffq> (consulta de agosto 2022).
- Massoumi, M., F.A. Krens, R.G.F. Visser y G. De Klerk. 2017. Etiolation and flooding of donor plants enhance the capability of *Arabidopsis* explants to root. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 130: 531-541.

15. Pereg, L., L.E. de-Bashan y Y. Bashan. 2016. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants. *Plant Soil* 399: 389-414.
16. Rogel-Castellanos, I., R.B. Muñoz-Pérez y J.G. Cruz-Castillo. 2000. Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indol butírico y obstrucción de savia. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6(1): 101-104.
17. Saeed, A. y T. Amin. 2020. Effects of location, gender and indole butyric acid on rooting of *Laurus nobilis* L. semi-hardwood stem cuttings. *Agricultural Science and Technology* 12(3): 260-263.
18. Sánchez-Santillan, T., J.B. Meléndez, E. Morales-Rojas, A.K. Chichipe-Puscan, S.M. Oliva-Cruz y M.H. Huamán-Vela. 2021. Multiplicación clonal del árbol de la quina (*Cinchona officinalis* L.): una alternativa para conservar el árbol nacional de Perú. *Bioagro* 33(3): 215-222.
19. Srivastava, R. y S. Anshika. 2017. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for sustainable agriculture. *Inter. J. Agricultural Science and Research* 7(4): 505-510.
20. Tarnowski, C. G. 2021. Evaluación de dos técnicas de acodamiento para la propagación vegetativa del algarrobo *Prosopis chilensis* (Mol) Stuntz. *Revista Fave-Ciencias Agrarias* 20(1): 305-315.
21. Ucea-Herrera, J.I., J. Di Carlo y J. Hernández-Mendoza. 2020. Impacto de *Azospirillum brasilense*, una rizobacteria que estimula la producción del ácido indol-3-acético como el mecanismo de mejora del crecimiento de las plantas en los cultivos agrícolas. *Revista Boliviana de Química* 37(1): 34-39.
22. Velasco-Jiménez, A., O. Castellanos-Hernández, G. Acevedo-Hernández, R. Clarenc y A. Rodríguez-Sahagún. 2020. Bacterias rizosféricas con beneficios potenciales en la agricultura. *Terra Latinoamericana* 38(2): 333-345.