



Establecimiento in vitro de aguacate (Persea americana Mill.) a partir de meristemas axilares

In vitro establishment of avocado (Persea Americana Mill.) from axillary meristems

Establecimiento in vitro de abacate (Persea Americana Mill.) a partir de meristemas axilares

Digna Yosibel Suatunce-Chiliquinga ^I
Digna.suatunce8776@utc.edu.ec
<https://orcid.org/0009-0003-3148-1329>

Eduardo Fabián Quinatoa-Lozada ^{II}
eduardo.quinatoa1839@utc.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-0552-1871>

Kleber Augusto Espinosa-Cunuhay ^{III}
kleber.espinosa@utc.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0002-5151-6301>

Cristian Santiago Tapia-Ramírez ^{IV}
cristians.tapia@esPOCH.edu.ec
<https://orcid.org/0000-0003-2104-5972>

Correspondencia: Digna.suatunce8776@utc.edu.ec

Ciencias Técnicas y Aplicadas
Artículo de Investigación

* **Recibido:** 30 de diciembre de 2023 * **Aceptado:** 03 de enero de 2024 * **Publicado:** 07 de febrero de 2024

- I. Estudiante de Agronomía, Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- II. Ingeniero Agrónomo, Máster en Biotecnología Molecular y Celular de Plantas, Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- III. Ingeniero Agrónomo, Magíster en Sanidad Vegetal, Universidad Técnica de Cotopaxi, Latacunga, Ecuador.
- IV. Ingeniero Agrónomo, Máster en Producción Hortofrutícola, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.

Resumen

La técnica de propagación por cultivo in vitro es una alternativa para la producción de plantas a gran escala y libre de enfermedades, conservando las características genéticas de la planta madre. El objetivo de esta investigación fue establecer un protocolo de establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares. Se utilizaron dos ensayos. El primer ensayo consistió en determinar el mejor protocolo de desinfección para el establecimiento aséptico de las micro estacas la cual consistió en diferentes concentraciones de etanol (75 – 95%) e hipoclorito de sodio (3%), en tiempos de inmersión variados (1, 5, 10 minutos) y se evaluaron el porcentaje de contaminación y la viabilidad. En un segundo ensayo se realizó la inoculación de los explantes in vitro en la que se evaluó diferentes medios de cultivo combinando Murashige &vSkoog y Woody Plant Medium con diferentes tipos de fitohormonas (Bencilaminorurina BAP, isopenteniladenina 2iP, Ácido indol butírico IBA), en el que se evaluaron altura de brote, número de brotes por explante y la contaminación polifenólica. Entre los resultados obtenidos tenemos que las diferencias en los tiempos de inmersión en los agentes desinfectantes influyen en el porcentaje de contaminación microbiana de los explantes de partida en la fase de establecimiento. El mejor método de desinfección fue el protocolo D en la que el tiempo de inmersión de los explantes en alcohol e hipoclorito de sodio fue de 1 minuto, reportando un 48% de contaminación y una viabilidad de los explantes de un 78%. El mejor promedio en altura de brote se dio al combinar Woody Plant Medium con 0.5 mg/L de 2iP en la que se obtuvo 1.38 cm en promedio, mientras que, los tratamientos WP y MBA obtuvieron los mayores promedios de brotes por explante de 2.1 y 1.95 respectivamente y finalmente el tratamiento MBA el mismo que contenía carbón activado y ácido ascórbico se observó el más bajo porcentaje de contaminación polifenólica (8%).

Palabras clave: Aguacate; Explantes; In vitro; Meristemos, Micropropagación.

Abstract

The propagation technique by in vitro culture is an alternative for the production of large-scale, disease-free plants, preserving the genetic characteristics of the mother plant. The objective of this research was to establish an in vitro establishment protocol for avocado (*Persea Americana* Mill.) from axillary meristems. Two trials were used. The first test consisted of determining the best disinfection protocol for the aseptic establishment of the micro cuttings, which consisted of different concentrations of ethanol (75 - 95%) and sodium hypochlorite (3%), at varied immersion

times (1, 5, 10 minutes) and the percentage of contamination and viability were evaluated. In a second trial, the inoculation of the explants in vitro was carried out in which different culture media were evaluated combining Murashige & Skoog and Woody Plant Medium with different types of phytohormones (Benzylaminorurin BAP, isopentenyladenine 2iP, Indole butyric acid IBA), in which Shoot height, number of shoots per explant and polyphenol contamination were evaluated. Among the results obtained, we have that the differences in the immersion times in the disinfectant agents influence the percentage of microbial contamination of the starting explants in the establishment phase. The best disinfection method was protocol D in which the immersion time of the explants in alcohol and sodium hypochlorite was 1 minute, reporting 48% contamination and a viability of the explants of 78%. The best average in shoot height was given when combining Woody Plant Medium with 0.5 mg/L of 2iP in which 1.38 cm on average was obtained, while the WP and MBA treatments obtained the highest average of shoots per explant of 2.1 and 1.95 respectively and finally the MBA treatment, the same one that contained activated carbon and ascorbic acid, the lowest percentage of polyphenol contamination was observed (8%).

Keywords: Avocado; Explants; In vitro; Meristems, Micropropagation.

Resumo

A técnica de propagação por cultivo in vitro é uma alternativa para a produção de plantas em larga escala e livres de doenças, preservando as características genéticas da planta mãe. O objetivo desta pesquisa foi estabelecer um protocolo de estabelecimento in vitro para abacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemas axilares. Foram utilizados dois ensaios. O primeiro teste consistiu em determinar o melhor protocolo de desinfecção para o estabelecimento asséptico das microestacas, que consistiu em diferentes concentrações de etanol (75 - 95%) e hipoclorito de sódio (3%), em tempos de imersão variados (1, 5, 10 minutos) e foram avaliadas a porcentagem de contaminação e a viabilidade. Em um segundo ensaio, foi realizada a inoculação dos explantes in vitro, onde foram avaliados diferentes meios de cultura combinando Murashige & Skoog e Woody Plant Medium com diferentes tipos de fitohormônios (Benzilaminorurina BAP, isopenteniladenina 2iP, ácido indol butírico IBA), em que Shoot foram avaliados altura, número de brotos por explante e contaminação por polifenóis. Dentre os resultados obtidos, temos que as diferenças nos tempos de imersão nos agentes desinfetantes influenciam no percentual de contaminação microbiana dos explantes iniciais na fase de estabelecimento. O melhor método de desinfecção foi o protocolo D

em que o tempo de imersão dos explantes em álcool e hipoclorito de sódio foi de 1 minuto, relatando 48% de contaminação e uma viabilidade dos explantes de 78%. A melhor média na altura dos brotos foi dada ao combinar o Woody Plant Medium com 0,5 mg/L de 2iP onde se obteve 1,38 cm em média, enquanto os tratamentos WP e MBA obtiveram a maior média de brotos por explante de 2,1 e 1,95 respectivamente e por fim no tratamento MBA, o mesmo que continha carvão ativado e ácido ascórbico, foi observado o menor percentual de contaminação por polifenóis (8%).

Palavras-chave: Abacate; Explantes; Em vitro; Meristemas, Micropropagação.

Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill.) es un cultivar originario de Mesoamérica y Centroamérica, su fruto es apetecido por su alto valor nutricional. Su distribución está en las zonas tropicales y subtropicales de todo el mundo (Galindo-Tovar et al., 2008).

A nivel mundial el consumo de aguacate crece a un ritmo del 3% cada año; sin embargo, la producción no avanza a la par (González et al., 2018), lo que significa una oportunidad para los países en vías de desarrollo como Ecuador para suplir dicha demanda.

El aguacatero es una planta multiplicada tradicionalmente de forma sexual (semilla), y en forma asexual por injertos, a pesar de que este método ha dotado de suficiente material, presenta ciertas limitaciones en relación con la disponibilidad de genotipos con alta productividad, una calidad deficiente en sus frutos, la transmisión de enfermedades de una generación a otra.

El cultivo in vitro es una alternativa a la propagación convencional y sus diferentes limitantes que esta tecnología presenta, ya que permite multiplicar material vegetal en una forma rápida en cualquier época del año, sobre todo se encuentra libre de enfermedades (Ahmed et al., 2001). La técnica consiste en utilizar explantes en estado vegetativo, sano, previamente tratado para propiciar su crecimiento en un ambiente controlado de luz, temperatura y humedad relativa. Varios autores reportan cultivares de aguacate establecidos a partir de segmentos nodales ya sea como meristemas axilares o apicales, por vía de embriogénesis, varetas y microestacas (Zulfiqar et al., 2009); (Ibarra et al., 2015); (Blanco Anleu, 2017); (Mansoor, 2018); (Akkaya & Dalkiliç, 2020); (Diriba et al., 2020); (Zúñiga-Chávez, 2023); (Abo El-Fadl et al., 2022); (Rodarte Perales, 2023).

La calidad y tipo de explante empleado, método de desinfección en el establecimiento, la asepsia, el medio de cultivo utilizado en las diferentes fases de micropropagación, como también, las

condiciones ambientales de incubación son fundamentales para el éxito de esta técnica (Mroginski & Flaschland, 2004).

En Ecuador, los agricultores han venido produciendo cultivos tradicionales en el Callejón Interandino como la papa, tomate de árbol, mora y frutales de temporada, que con el pasar de los años se han ido convirtiendo en personas dependientes de estos cultivos. Sin embargo, existe otros frutales, como es el caso del aguacate, con un gran potencial para la diversificación agrícola. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue el establecimiento in vitro del cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill.) con diferentes medios de cultivo, de esta forma presentar a los agricultores una alternativa de cultivo y, sobre todo, material de alta calidad.

Materiales y métodos

Selección y colecta del material vegetal

Se recolectaron meristemos axilares de aguacate en la zona agrícola de la finca “Malqui Machay” del recinto Malqui, parroquia de Guasaganda del Cantón La Maná, con una altitud de 1000 msnm. Se seleccionaron ramas vigorosas y sanas del tercio medio de las plantas. Se realizaron cortes del material vegetal de aproximadamente 2 cm a 2.5 cm de longitud, estas microestacas fueron sumergidas en un fungicida y un bactericida (fosetil aluminio + getamicina) para bajar la carga de contaminación del material y enviadas para el ensayo al laboratorio de biotecnología “Vitro Plantas” del cantón Cevallos.

Ensayo 1: Establecimiento aséptico de las microestacas

Una vez recolectado y realizado la primera desinfección con fungicida y bactericida son lavados en el laboratorio con agua y jabón antibacterial. Seguidamente, se sometieron a diferentes protocolos de desinfección con diferentes concentraciones de etanol e hipoclorito de sodio, en tiempos de inmersión variados dentro de cámara de flujo laminar, como se muestra en el cuadro 1. Finalmente, fueron enjuagadas con agua destilada estéril.

*Cuadro 1: Protocolos de desinfección de los explantes usados en el establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares.*

| PROTOCOLO | AGENTE DESINFECTANTE |
|-----------|----------------------|
|-----------|----------------------|

| | Fungicida/Bactericida | Alcohol etílico | Hipoclorito de sodio | Acido ascórbico | Agua destilada/estéril |
|-------------|---|-----------------|----------------------|-----------------|------------------------|
| PROTOCOLO A | Fosetil aluminio (1g7L) Gentamicina (1g/L) | 75% (5 min) | 3% (5min) | | series por 5-10-5 min |
| PROTOCOLO B | Fosetil aluminio (1g7L) Gentamicina (1g/L) | 95% (5 s) | 3% (10 s) | 2g/L (5min) | series por 5-10-5 min |
| PROTOCOLO C | Fosetil aluminio (1g7L) Gentamicina (1g/L) | 95% (5min) | 3% (5 min) | 2g/L (5min) | series por 5-10-5 min |
| PROTOCOLO D | Fosetil aluminio (1g7L) Gentamicina (1g/L) | 95% (1 min) | 3% (1 min) | 2g/L (5min) | series por 5-10-5 min |

Elaborado por: (Suatunce, 2024)

VARIABLES EVALUADAS

Porcentaje de contaminación y viabilidad

Los datos de contaminación y viabilidad se registraron a los 28 días de haber realizado el establecimiento. Se contabilizó los explantes contaminados con agentes fúngicos y/o bacterianos y los explantes que presentaron alguna respuesta de prendimiento o viables.

Ensayo 2: Inoculación de los explantes in vitro

Para la inoculación los explantes fueron cortados con la ayuda de un bisturí en sus extremos la parte necrosada o dañada por acción de los agentes desinfectantes, luego fueron introducidos en frascos de vidrio el cual contenía 20 ml de diferentes formulaciones de medios de cultivo (Murashige & Skoog, 1962) y Woody Plant Medium (Mccown & Sellmer, 1987) completo, suplementado con diferentes tipos de fitohormonas, como se muestra en el cuadro 2.

*Cuadro 2: Medios de cultivo utilizados en el establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares.*

| TRATAMIENTOS | Murashige & Skoog | Woody Plant Medium | Carbón Activado | Ácido Ascórbico | Bencilamino purina (BAP) | Ácido indol butírico (IBA) | 6-γ,γ-dimetilalilaminopurina (2iP) | pH |
|--------------|-------------------|--------------------|-----------------|-----------------|--------------------------|----------------------------|------------------------------------|-----|
| MS | 1,5 g/L | | | | | | | 5,7 |
| MB | 1,5 g/L | | | | 0,5 mg/L | 0,1 mg/L | | 5,7 |
| MBA | 1,5 g/L | | 1 g/L | 1 g/L | 0,5 mg/L | 0,1 mg/L | | 5,7 |
| WP | | 1,2 g/L | | | | | 0,5 mg/L | 5,7 |

Elaborado por: (Suatunce, 2024)

Para este segundo ensayo se utilizó un diseño completamente al azar DCA con arreglo factorial Ax_B, Dónde A es el factor Fotoperiodo y B es el factor Medio de cultivo. En cada uno de los tratamientos de los dos ensayos se utilizó diez repeticiones con dos explantes en cada repetición o frasco. Se probó una diferencia significativa entre los tratamientos con un valor de α de 0.05 en las pruebas de Tukey, utilizando el análisis estadístico de ANOVA con el software Infostat.

Variables evaluadas

Altura del brote

Se evaluó a los 28 días después de su establecimiento in vitro, utilizando una regla se midió desde la base del brote hasta su ápice y su valor se registró en cm.

Número de brotes por explante

A los 28 días de haber establecido se contabilizó el número de brotes por cada explante (microestaca), se analizó en cada una de sus repeticiones para finalmente sacar un promedio.

Contaminación polifenólica

Con el fin de disminuir el necrosamiento de los explantes se consideró la adición de carbón activado y ácido ascórbico al medio de cultivo. Se contabilizó los explantes necrosados y que no presentaron algún tipo de respuesta en brotación y en relación al total de explantes se representó en porcentaje.

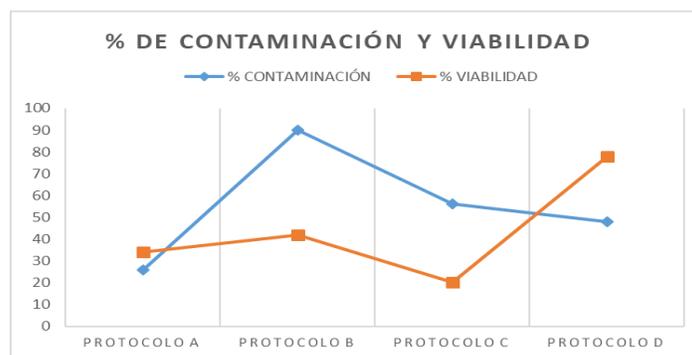
Resultados y discusión

Establecimiento aséptico de las microestacas

La contaminación microbiana por hongos o bacterias en los explantes son las mayores dificultades a la hora del establecimiento in vitro de cultivares de aguacate (Cortés-Rodríguez et al., 2011). La mayor tasa de contaminación se presentó utilizando el Protocolo B en la que el tiempo de inmersión de los explantes en el alcohol e hipoclorito de sodio fue de 5 y 10 segundos respectivamente, en el cual alcanza valores de hasta 90% de contaminación y como consecuencia la viabilidad de los explantes se ve reducida en un 42%. Si bien es cierto, que el porcentaje de contaminación más bajo se logra con el protocolo A con un 26% de contaminación, sin embargo, se puede observar que su viabilidad no supera el 34%. Por consiguiente, consideramos como mejor método de desinfección

al protocolo D como se aprecia en la figura 1, en la que el tiempo de inmersión de los explantes en alcohol e hipoclorito de sodio fue de 1 minuto, reportando un 48% de contaminación y una viabilidad de los explantes de un 78% superiores a los reportados por (Zulfiqar et al., 2009) en las que utilizando NaClO al 0.5% obtuvo valores entre 66 y 72% de contaminación y a los de (Ibarra et al., 2015) el mismo señala que esta variable se vio afectada por la presencia de hongos y bacterias los cuales impidieron el desarrollo favorable de al menos 50 % de los explantes. Sin embargo, (Diriba et al., 2020) reporta datos superiores a los nuestros utilizando etanol 70% por 1 minuto y NaClO al 1% por 5 minutos en la que su contaminación no supera el 10%.

Figura 1. Porcentaje de contaminación y viabilidad de los explantes utilizados en el establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares.



Elaborado por: (Suatunce, 2024)

En la figura 2 se puede observar un explante (microestaca) de aguacate viable (A) es decir que no mostró ningún tipo de contaminación y sus yemas mostraron su prendimiento. La figura (B) muestra contaminación microbiana (hongos) tanto en el medio de cultivo como, en sus explantes.

Figura 2: Explantes viables (A) y explantes contaminados (B) en el establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares.



Elaborado por: (Suatunce, 2024)

Altura del brote

El mejor promedio en altura de brote se dio al combinar Woody Plant Medium con 0.5 mg/L de 2iP en la que se obtuvo 1.38 cm en promedio como se muestra en el Cuadro 3, cercanos a los mostrados por (Zulfiqar et al., 2009) en los que reporta promedios de 1.56 cm utilizando también yemas axilares, mientras que al utilizar Murashige & Skoog sin ninguna hormona se obtuvo el promedio más bajo 0.28 cm, sin embargo (Diriba et al., 2020) reporta promedios más alentadores de 2.10 cm en brotes provenientes de meristemas axilares y cultivados en medios con 0.125 mg/L de IBA + 0.5 mg/L 6-BAP.

Cuadro 3: Altura de brote en cm evaluado en el establecimiento in vitro de aguacate (Persea americana Mill.) a partir de meristemas axilares.

| TRATAMIENTO | ALTURA DE BROTE (cm) | |
|-------------|----------------------|-------|
| | MEDIA | RANGO |
| WP | 1,38 | a |
| MBA | 0,95 | b |
| MB | 0,45 | c |
| MS | 0,28 | c |
| EE | 0,11 | |
| CV (%) | 36,01 | |

Elaborado por: (Suatunce, 2023)

Número de brotes

Los reguladores de crecimiento desempeñan un papel fundamental en el desarrollo cualitativo y cuantitativo de los brotes (Prando et al., 2014), como se muestra en el Cuadro 4 la combinación de la hormona 2iP con las sales de Woody Plant Medium del tratamiento WP se obtuvo el mayor promedio de brotes por explante de 2.1, compartiendo el mismo rango con el tratamiento MBA con 1.95 brotes por explante, el mismo que combina Murashige & Skoog con IBA y 6-BAP, a diferencia con el Tratamiento MS que no contiene hormonas adicionales. Nuestros resultados fueron superiores a los obtenidos por (Diriba et al., 2020) quien reporta promedios de 1.94 brotes por explante, como también superiores a los publicados por (Mansoor, 2018) quien reportó medias que oscilaban entre 0.46 y 1.08

Cuadro 4: Número de brotes por explante, evaluados en el establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares.

| TRATAMIENTO | NÚMERO DE BROTES POR EXPLANTE | |
|-------------|-------------------------------|-------|
| | MEDIA | RANGO |
| WP | 2,1 | a |
| MBA | 1,95 | a |
| MS | 1,0 | b |
| MB | 1,0 | b |
| EE | 0,12 | |
| CV (%) | 35,28 | |

Elaborado por: (Suatunce, 2024)

En la figura 3 se puede evidenciar explantes (microestacas) de aguacate de los cuales se tomaron las variables altura de brote (A) y el número de brotes por explante (B).

Figura 3. Altura de brote (A) y número de brotes por explante (B) en el establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) a partir de meristemos axilares.



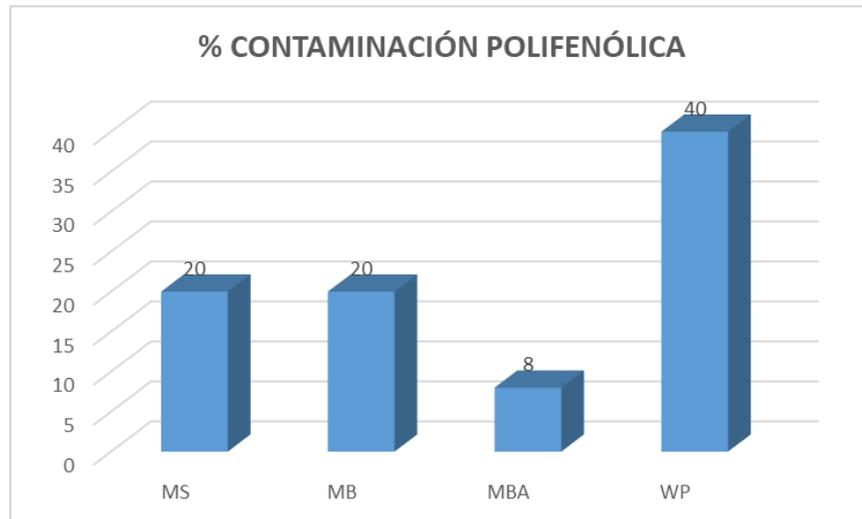
Elaborado por: (Suatunce, 2024)

Oxidación Polifenólica

La contaminación polifenólica es el necrosamiento de los explantes (microestacas) en los medios de cultivo, para lo cual (Cortés-Rodríguez et al., 2011) sugiere adicionar ciertos compuestos antioxidantes como el carbón activado y ácido ascórbico en los medios de cultivo para reducir hasta un 70% el proceso de oxidación. Como se muestra en la Figura 4 en nuestro estudio el mayor porcentaje de contaminación polifenólica se observó en el tratamiento WP (40%) el cual no contenía adicionado carbón activado y ácido ascórbico en su medio de cultivo; por el contrario, el tratamiento MBA el mismo que contenía carbón activado y ácido ascórbico se observa un bajo

porcentaje de contaminación polifenólica (8%), similares a los datos reportados por (Ibarra et al., 2015) el mismo que menciona que utilizando carbón activado en los medios de cultivo, la contaminación polifenólica no rebasa el 7%.

Figura 4: Porcentaje de contaminación polifenólica en el establecimiento *in vitro* de aguacate (*Persea americana Mill.*) a partir de meristemos axilares.



Elaborado por: (Suatunce, 2024)

En la figura 5 se puede observar la contaminación polifenólica en el medio de cultivo (A) y la consecuente muerte de los explantes. Como también, los explantes necrosados (B) por la oxidación polifenólica de los mismos.

Figura 5: Contaminación polifenólica en el medio de cultivo (A) y explantes necrosados y oxidados (B) en el establecimiento *in vitro* de aguacate (*Persea americana Mill.*) a partir de meristemos axilares.



Elaborado por: (Suatunce, 2024)

Conclusiones

Las diferencias en los tiempos de inmersión en los agentes desinfectantes influyen en el porcentaje de contaminación microbiana de los explantes de partida en la fase de establecimiento.

El mejor método de desinfección fue el protocolo D en la que el tiempo de inmersión de los explantes en alcohol e hipoclorito de sodio fue de 1 minuto, reportando un 48% de contaminación y una viabilidad de los explantes de un 78%.

El mejor promedio en altura de brote se dio al combinar Woody Plant Medium con 0.5 mg/L de 2iP en la que se obtuvo 1.38 cm en promedio

Los tratamientos WP y MBA obtuvieron los mayores promedios de brotes por explante de 2.1 y 1.95 respectivamente.

El tratamiento MBA el mismo que contenía carbón activado y ácido ascórbico se observó el más bajo porcentaje de contaminación polifenólica (8%).

Referencias

1. Abo El-Fadl, R. E., Ahmed, M. E., & Abd Alhady, M. R. A. (2022). IN VITRO PROPAGATION OF AVOCADO (*PERSEA AMERICANA* MILL.). *Egyptian Journal of Desert Research*, 72(1), 73-87. <https://doi.org/10.21608/ejdr.2022.133868.1102>
2. Ahmed, Z., Akhter, F., Haque, S., Banu, H., Rahman, M., & Faruquzzaman, A. (2001). Novel Micropropagation Sistem. *OnLine Journal of Biological Sciences*, 1(11), 1106-1111.
3. Akkaya, L., & Dalkiliç, G. G. (2020). Fuerte Avokado (*Persea americana* Mill.) Çeşidinin In Vitro Çoğaltımı. *Uluslararası Anadolu Ziraat Mühendisliği Bilimleri Dergisi*, 2(3), Article 3.
4. Blanco Anleu, J. A. (2017). Establecimiento in vitro de aguacate (*Persea americana* Mill.) Variedad Criollo. Zamorano, Escuela Agrícola Panamericano, 20.
5. Cortés-Rodríguez, M. A., López-Gómez, R., Martínez-Pacheco, M. M., Suárez-Rodríguez, L. M., Hernández-García, A., Salgado-Garciglia, R., Vidales Fernández, I., & Ángel Palomares, M. E. (2011). IN VITRO PROPAGATION OF MEXICAN RACE AVOCADO (*PERSEA AMERICANA* MILL. VAR. DRYMIFOLIA). *Acta Horticulturae*, 923, 47-52. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2011.923.5>

6. Diriba, T., Wolella, E. K., Asfere, Y., & Abera, G. (2020). OPTIMIZATION OF EFFICIENT PROTOCOL FOR *in vitro* MASS PROPAGATION OF SELECTED ACCESSIONS OF AVOCADO (*Persea americana*) MILL. BY AUXILIARY AND APICAL BUDS CULTURE. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 23, 75-87.
7. Galindo-Tovar, M. E., Ogata-Aguilar, N., & Arzate-Fernández, A. M. (2008). Some aspects of avocado (*Persea americana* Mill.) diversity and domestication in Mesoamerica. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 55(3), 441-450. <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9250-5>
8. González, G. L. G., Sánchez, C. I. F., Ortiz, M. F. P., & Rojas, X. A. A. (2018). PRODUCCIÓN DE AGUACATE HASS UNA ALTERNATIVA PARA EL DEPARTAMENTO DEL HUILA. *Creceer Empresarial Journal of Management and Development*, 02, Article 02.
9. Ibarra, A., Gutierrez, A., García, E., & Ojeda, M. (2015). Inducción de brotes de dos cultivares de aguacate *Persea americana* Mill. *Recursos Genéticos y Manejo de Viveros*, 109-114.
10. Mansoor, F. (2018). Development of a Protocol for the Proliferation of *In Vitro* Axillary Buds in Avocado (*Persea americana*) cv. 'Edranol'. Mansoor, F. (2018). Development of a protocol for the proliferation of *in vitro* axillary buds in avocado (*Persea americana*) cv.'edranol' (University of the Witwatersrand, Faculty of Science, School of Animal, Plant and Environmental Sciences. <https://core.ac.uk/download/pdf/188769186.pdf>
11. Mccown, B. H., & Sellmer, J. C. (1987). General Media and Vessels Suitable for Woody Plant Culture. En J. M. Bonga & D. J. Durzan (Eds.), *Cell and Tissue Culture in Forestry: General Principles and Biotechnology* (pp. 4-16). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-0994-1_2
12. Mroginski, P. S., & Flaschland, E. (2004). *Biotecnología y mejoramiento vegetal II*. Argenbio.
13. Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. *Physiologia Plantarum*, 15(3), 473-497. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1962.tb08052.x>

14. Prando, M. A. S., Chiavazza, P., Faggio, A., & Contessa, C. (2014). Effect of coconut water and growth regulator supplements on in vitro propagation of *Corylus avellana* L. *Scientia Horticulturae*, 171, 91-94. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.03.052>
15. Rodarte Perales, E. (2023). Inducción in vitro de brotes y callos en aguacate (*Persea americana* Mill.) [Universidad Autónoma Chapingo]. <https://repositorio.chapingo.edu.mx/handle/123456789/2344>
16. Zulfiqar, B., Abbasi, N. A., Ahmad, T., & Hafiz, I. A. (2009). Effect of explant sources and different concentrations of plant growth regulators on in vitro shoot proliferation and rooting of avocado (*Persea americana* Mill.) cv. «Fuerte». *Pak. J. Bot.*, 41(5), 2333-2346.
17. Zúñiga-Chávez, R. (2023). Estandarización e implementación de un protocolo de propagación y enraizamiento para *Persea americana*. <https://rei.iteso.mx/handle/11117/9438>

© 2024 por los autores. Este artículo es de acceso abierto y distribuido según los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).