



PERÚ

Ministerio
de Agricultura

Instituto Nacional
de Innovación Agraria



MICROPROPAGACIÓN DE PALTO (*Persea americana* Mill.)



PLANTA MADRE



Explantes



INICIACIÓN



MULTIPLICACIÓN



ACLIMATACIÓN



ENRAIZAMIENTO



MINISTERIO DE AGRICULTURA
INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN AGRARIA
SUB DIRECCIÓN DE RECURSOS GENÉTICOS Y BIOTECNOLOGÍA

MICROPROPAGACIÓN DE PALTO (*Persea americana* Mill.)

Blg. Rosa María Cabrera Pintado

© INSTITUTO NACIONAL DE INNOVACIÓN AGRARIA - INIA

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN AGRARIA

DIRECCIÓN DE EXTENSIÓN AGRARIA

Revisión: Subdirección de Recursos Genéticos y Biotecnología

Diagramación e Impresión:

Programa Nacional de Medios y Comunicación Técnica

Primera Edición:

Abril, 2011

Tiraje: 500 ejemplares

Av. La Molina N° 1981, Lima 12 Casilla N° 2791 - Lima 1

Telefax: 3495631 / 3492600 - Anexo 248

Prohibida la reproducción total o parcial sin autorización

Hecho el Depósito Legal en la Biblioteca Nacional del Perú N°: 2011 - 04929

CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN.....	5
2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL PALTO.....	7
2.1 Sunblotch.....	7
2.2 Podredumbre de la raíz o tristeza del palto.....	9
3. MICROPROPAGACIÓN	11
3.1 Fases de la Micropropagación de Palto.....	12
3.1.1 Fase 0: Preparación o acondicionamiento de la planta madre.....	14
3.1.2 Fase I : Iniciación o establecimiento	15
3.1.3 Fase II : Multiplicación o proliferación	19
3.1.4 Fase III : Enraizamiento	20
3.1.5 Fase IV: Aclimatación	22
4. BIBLIOGRAFÍA	25

1. INTRODUCCIÓN

El palto (*Persea americana* Mill.) es una especie cultivada en las regiones tropicales y subtropicales de más de 50 países, siendo un frutal que en los últimos años ha alcanzado importancia económica debido a su gran demanda en los mercados nacional e internacional, por lo que se le considera como uno de los frutales más importantes del mundo.

De acuerdo a las estimaciones de la FAO, la producción mundial de paltas se ha cuadruplicado durante las últimas cuatro décadas, llegando a 3,25 millones de toneladas en el año 2008. México es el principal productor mundial de paltas, representando un tercio del total, lo siguen Chile, Indonesia, República Dominicana, Colombia, Brasil, Perú, Estados Unidos y Guatemala (FAOSTAT, 2011).

El Perú se encuentra dentro de los diez principales países productores de palta, alcanzando un promedio de 100 mil toneladas. Las exportaciones peruanas de palta en el año 2010 alcanzaron un total de US \$. 84,637 millones y 59 520,6 t. Haciendo una comparación entre el año 2005 y 2010 se puede observar que las exportaciones de palta han experimentado un crecimiento de 362,2% en valor y 318,8% en volumen, esto responde al incremento en la superficie sembrada de este frutal, así como a la mayor demanda que posee, especialmente en la Unión Europea. Los principales destinos de las exportaciones peruanas son: España, Holanda, Reino Unido, Francia y Canadá (MINAG, 2011).

La producción de palta en el Perú es durante todo el año, sin embargo la variedad de exportación que es la Hass, sólo se produce y exporta entre los meses de mayo a setiembre (MINAG, 2006), pero representa una ventana importante para los mercados internacionales.

Las principales zonas productoras de nuestro país son los departamentos de Lima, La Libertad, Junín, Ica y Ancash. Los que destinan su producción a la exportación son principalmente La Libertad, Lima e Ica (MINAG, 2006).

La palta constituye una importante fruta que ha sido incorporada en la dieta alimenticia de la población de muchos países del mundo, debido a que posee valiosas propiedades nutricionales como su alto contenido de aceite (12 a 30 %) y proteína (3 a 4 %), además de su contenido de hidratos de carbono, vitaminas y minerales (Teliz, 2000), estas características le confieren grandes posibilidades de incremento en su consumo en la dieta humana. Contiene casi 30 % de grasa, siendo predominantemente ácido oleico monoinsaturado (Efendi, 2003).

El palto (*Persea americana* Mill.) es una especie frutal altamente heterocigota y el uso de patrones provenientes de semilla resulta en una alta variabilidad de comportamiento en el campo (Barceló et al., 1999). Una alternativa para la uniformidad de la producción y productividad es la micropropagación de plantas selectas libres de enfermedades y obtenidas a partir de yemas o meristemas.

En la presente publicación se describe detalladamente el protocolo para la micropropagación de palto, el cual se ha estandarizado a partir de las investigaciones realizadas en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales del Programa Nacional de Innovación en Biotecnología Vegetal del Instituto Nacional de Innovación Agraria en la Estación Experimental Agraria Donoso como estrategia para recuperar clones de alto valor agronómico frente a enfermedades como el sunblotch (manchado solar del palto) y podredumbre de la raíz (tristeza del palto).

2. PRINCIPALES ENFERMEDADES DEL PALTO

Entre las más importantes enfermedades que afectan al cultivo de palto destacan el Sunblotch (manchado solar) y la podredumbre de la raíz o tristeza del palto.

2.1 Sunblotch

El manchado solar o mancha de sol es una enfermedad de importancia económica en el cultivo de palto, habiéndose reportado por primera vez en California (Estados Unidos) y fue descrita inicialmente como un problema fisiológico (Coit, 1928). El agente causal es el viroide de la mancha de sol del palto Avocado Sunblotch Viroid (ASBVd), el cual consiste de una cadena simple circular de ARN de 247 nucleótidos de tamaño, perteneciente a la familia Avsunviroidae. El ASBVd se replica en los cloroplastos usando riboenzimas que se encuentran inmersas en su propia secuencia (Suárez et al., 2005).

Los síntomas de la enfermedad son la presencia de zonas cloróticas alargadas o irregulares que recorren al fruto en forma longitudinal (foto 1), las hojas jóvenes o en crecimiento muestran ligera deformación con clorosis irregular en forma de mosaico; sin embargo, las plantas no expresan síntomas generalizados, dando a entender que existe cierta tolerancia o respuesta asintomática (Solid ODP, 2010).

La mancha del sol afecta por igual a todos los cultivares de palto, se transmite a través de semilla botánica, partes vegetativas, polen, herramientas contaminadas, y la erradicación de las plantas afectadas es el único medio de control

disponible para prevenir su diseminación (Suárez et al., 2005; Litz et al., 2005 y Olano et al., 2002). No se conoce ningún insecto vector (Martínez et al., 2003).

Las evaluaciones de productividad han demostrado que las plantas de palto infectadas con ASBVd pueden presentar una reducción de 27,3 % en el rendimiento total de fruta y producir un incremento del 52,7% en frutos con baja calidad por la presencia de manchas en el fruto (Da Graca et al., 1983).

Entre las medidas preventivas se considera reemplazar las plantaciones viejas con material indexado, propagar solamente material libre de ASBVd, monitorear las plantaciones, seleccionar cuidadosamente las yemas a injertar, instalar plantones sanos procedentes de viveros con garantía fitosanitaria, eliminación y quema de árboles que presenten síntomas de la enfermedad y desinfección de las herramientas de poda y cosecha. Siendo el único control efectivo la erradicación de plantas infectadas (solid OPD, 2010).



Foto 1. Fruto de palto con síntomas de ASBVd (foto M. Marcelo).

2.2 Podredumbre de la raíz o tristeza del palto

Es una enfermedad de distribución mundial, detectada en más de 70 países. El agente causal es el oomyceto *Phytophthora cinnamomi* Rands., que fue aislado por primera vez por Rands en 1922 a partir de la canela en Sumatra. Posteriormente ha sido aislado en más de 70 países del mundo sobre más de 1 000 variedades y especies de plantas (Vidales, 2002). Entre sus huéspedes se incluyen palto, piña, castaño, eucalipto, pinos, melocotón, peral, macadamia, especies ornamentales y plantas nativas.

Los síntomas de la enfermedad son decaimiento gradual de la parte aérea del árbol, las hojas adquieren color verde claro y tienden a marchitarse, las plantas no emiten nuevos brotes, y la defoliación comienza por la parte superior de la copa, avanzando hacia abajo (muerte descendente) (MINAG, 2010). Se considera que esta sintomatología se debe a la pudrición o necrosis de raicillas o raíces tiernas, que en el follaje se expresa como clorosis, defoliación (foto 2), presencia de frutos pequeños y baja formación de brotes. Debido a la necrosis, las raíces se quiebran fácilmente; la absorción de agua y nutrientes minerales se reduce (Solid OPD, 2010).

El manejo y/o control de este patógeno representa un problema grave por sus características de supervivencia prolongada, corto periodo de latencia y por el gran número de propágulos que produce (Vidales, 2002).

El desarrollo de la enfermedad tiene lugar en suelos mal drenados y que tienen periodos de exceso de humedad debido a un excesivo riego o temporadas altas de lluvias. El patógeno se puede diseminar desde el vivero con plantas infectadas, ya sea por herramientas, por agua que puede contener zoosporas y por raíces infectadas. Las zoosporas son atraídas por la región de elongación de las raíces absorbentes, probablemente debido a la exudación de aminoácidos en esta zona.

Una alternativa para afrontar esta enfermedad es el uso de patrones tolerantes a este patógeno, como el Duke -7, clon muy vigoroso que presenta gran afinidad con las variedades Bacon y Hass. Además, es bastante tolerante a la salinidad (hasta 120 mg de cloruros).



Foto 2. Planta de palto enferma con podredumbre de la raíz (foto M.Marcelo).

3. MICROPROPAGACIÓN

La micropropagación es el conjunto de técnicas y métodos de cultivo de tejidos vegetales utilizados para multiplicar plantas asexualmente en forma rápida, eficiente y en grandes cantidades. Se utiliza para obtener plantas libres de enfermedades como virosis u obtener grandes cantidades de plantas que no se propagan eficientemente en campo. También para multiplicar o propagar plantas nuevas, como aquellas creadas por ingeniería genética, mutagénesis o mejoramiento genético. La multiplicación de plantas mediante proliferación de brotes axilares es el método de micropropagación más fiable en términos de estabilidad genética del material obtenido (George, 1993).

Por tanto, el cultivo de tejidos vegetales es una herramienta muy útil en los programas de mejoramiento, ya que tiene el potencial de producir plantas de calidad uniforme a escala comercial, a partir de un genotipo selecto (Olmos, 2004) y con una tasa de multiplicación específica para cada especie.

Se ha reportado la micropropagación de muchas especies frutales tropicales y subtropicales a partir de la proliferación de brotes apicales y explantes nodales, existiendo una mejor respuesta en especies herbáceas con una alta tasa de proliferación; sin embargo en especies de plantas leñosas el cultivo *in vitro* a partir de yemas apicales y nodales es más difícil, porque se presentan problemas como la oxidación de compuestos fenólicos, y ausencia de juvenilidad cuando los explantes provienen de árboles adultos (Deberg y Zimmerman, 1991). El éxito de la micropropagación de especies leñosas va ligado al uso del material juvenil o material adulto rejuvenecido (Pliego-Alfaro et al., 1999).

En ese sentido, la micropropagación es de gran utilidad tanto para la producción a gran escala de patrones clonales como para la multiplicación de genotipos que, tras su rejuvenecimiento *in vitro*, podrían propagarse por métodos convencionales.

Existe la necesidad de propagar clonalmente variedades de palto que estén libres del viroide del manchado solar y que sean genéticamente uniformes para usarlos no solo en estudios sobre tolerancia de patrones a *Phytophthora cinnamomi*, sino también para su instalación en casas malla o campos para disponer de plantas madre de palto libres de enfermedades (Schoeder, 1973).

3.1 Fases de la micropropagación de palto

La micropropagación de plantas de palto tiene 5 fases (gráfico 1):

- Fase 0 : Preparación o acondicionamiento de la planta madre
- Fase I : Iniciación o establecimiento
- Fase II : Multiplicación o proliferación
- Fase III : Enraizamiento
- Fase IV : Aclimatación

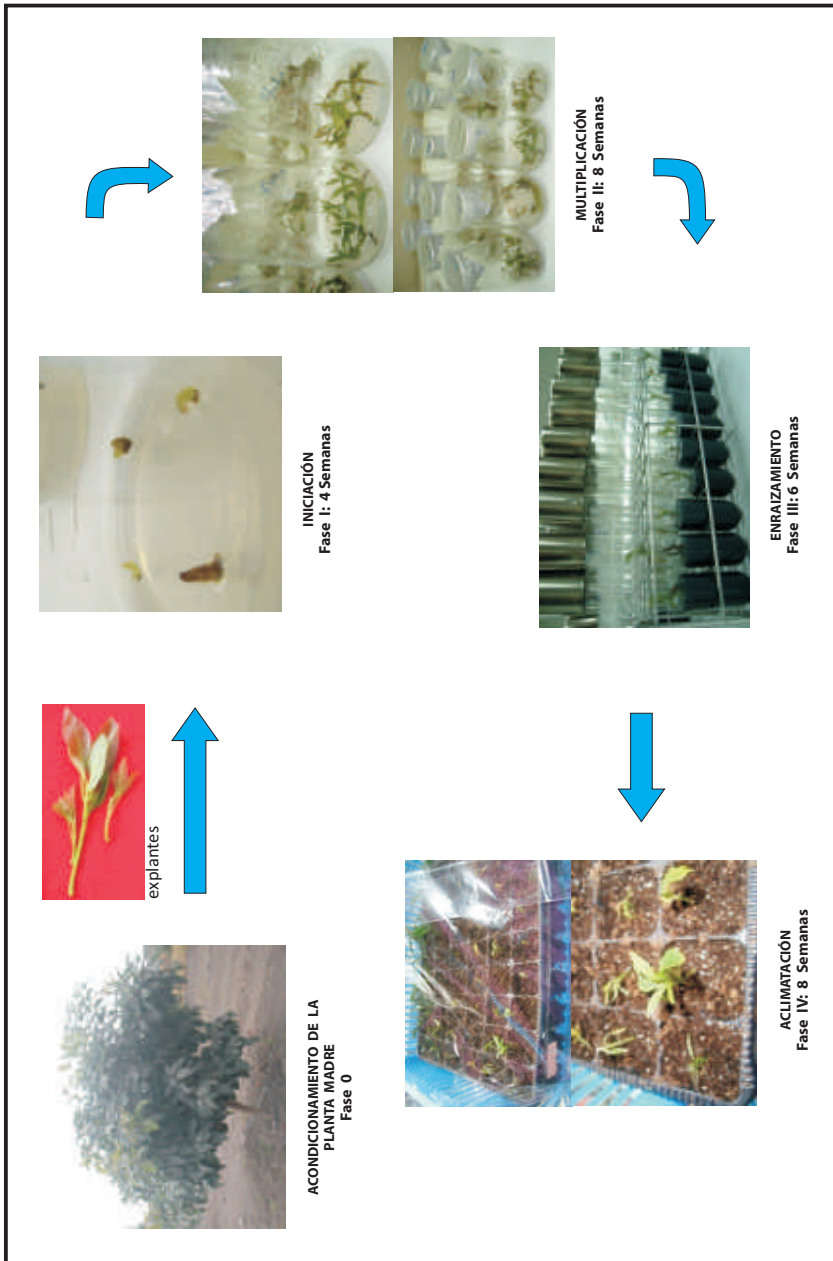


Gráfico 1. Fases de la micropropagación de palto (*Persea americana* Mill.)

3.1.1 Fase 0: Preparación o acondicionamiento de la planta madre

En esta fase se tiene que seleccionar la planta madre, donadora de explantes, que se va a utilizar y que debe destacar por sus características de producción y/o calidad de fruta.

La planta madre o élite debe haber tenido un adecuado manejo en campo que asegure un buen desarrollo y nivel nutricional de los explantes (foto 3). Es importante tener en consideración el estado fitosanitario, principalmente que no se haya detectado la presencia del viroide del manchado solar (ASBVd).



Foto 3. Planta madre de palto libre de ASBVd (C.E. La Molina)

Lo ideal es tener a la planta madre en condiciones de invernadero o casa malla con el óptimo suministro de

nutrientes y riegos oportunos para permitir un crecimiento vigoroso y libre de enfermedades.

Dos a tres semanas antes de la colecta de los explantes aplicar un fungicida sistémico para disminuir las posibilidades de contaminación en el establecimiento *in vitro*.

3.1.2 Fase I: Iniciación o establecimiento

Se recomienda que el cultivo *in vitro* de palto sea a partir de yemas vegetativas puesto que la micropropagación se realizará a partir de plantas indexadas libres del viroide del manchado solar (ASBVd). Las yemas vegetativas deben ser obtenidas de brotes tiernos (foto 4) provenientes de plantas en plena brotación.



Foto 4. Brotes tiernos de palto para la iniciación *in vitro*

Las muestras colectadas se lavan con abundante agua de caño para eliminar posibles agentes de contaminación presentes en la superficie foliar.

Luego bajo condiciones asépticas se realiza el proceso de desinfección superficial de las muestras, según se detalla a continuación:

- 1° Sumergir en alcohol al 70% durante 1 minuto.
- 2° Remojar en solución de hipoclorito de sodio al 20 % adicionada de 0,1% de tween 20, por 10 minutos.
- 3° Enjuagar 3 a 4 veces con agua destilada esterilizada.

Una vez realizada la desinfección superficial, utilizando un microscopio binocular y herramientas de disección finas (pinza y bisturí) se procede a remover cuidadosamente una por una las hojas que envuelven a la yema y que se han decolorado por efecto del hipoclorito de sodio o se han necrotizado debido a la oxidación de los tejidos. Los explantes más recomendables para la iniciación *in vitro* son aquellos que miden alrededor de 2 a 3 mm de longitud. Luego, la yema es aislada del brote principal mediante cortes afilados en su base.

Inmediatamente se procede a colocar los explantes en tubos de ensayo o frascos conteniendo medio de cultivo estéril para la iniciación *in vitro* de palto, el cual está compuesto del medio básico de Murashige y Skoog (1962) con macronutrientes a media fuerza adicionado de bencil aminopurina (BA) y solidificado con 0,8% de agar (cuadro 1).

Cuadro 1. Composición del medio de Murashige y Skoog (1962) para la micropropagación de palto

Nutrientes /vitaminas /reguladores	mg/l
Macronutrientes	
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	370
KH ₂ PO ₄	170
Micronutrientes	
KI	0,83
H ₃ BO ₃	6,2
MnSO ₄ ·4H ₂ O	22,3
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	8,6
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0,25
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0,025
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0,025
Na ₂ EDTA	37,3
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27,8
Compuestos orgánicos	
Sacarosa (g)	30
Tiamina	0,1
Piridoxina	0,5
Acido nicotínico	0,5
Glicina	2,0
Mio-inositol	100
Bencil aminopurina (BA)	0,3 *
	0,65 **
	0,1 ***
Acido indolbutírico (IBA)	1 ****
pH	5,7

* Iniciación

** Multiplicación -fase sólida

*** Multiplicación -fase líquida

**** Enraizamiento

El explante, que en este caso es la yema, encuentra en el medio de cultivo todo lo necesario para su crecimiento y desarrollo (agua, sales minerales, vitaminas, reguladores del crecimiento y fuente de carbono).

A partir del séptimo día de la siembra *in vitro* se podrá observar el prendimiento de los explantes, y esto se evidencia con el desarrollo de nuevas hojas (foto 5). De esta forma se inicia el cultivo *in vitro* de palto. En este medio de cultivo permanecerán hasta 4 semanas.



Foto 5. Yemas de palto en medio de cultivo de iniciación

Las condiciones de incubación durante todo el proceso *in vitro* son las siguientes:

Temperatura : $23^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

Humedad relativa : 70%

Intensidad luminosa : 3000 lux

Fotoperíodo : 16 horas luz/8 horas oscuridad

Una vez que la fase de iniciación se ha completado con éxito, continúa la multiplicación de los explantes.

3.1.3 Fase II: Multiplicación o proliferación

El objetivo de esta fase es incrementar el material vegetal que se tiene establecido *in vitro*, para lo cual se subcultiva los explantes a frascos conteniendo medio de cultivo estéril para inducir la proliferación de brotes (foto 6).

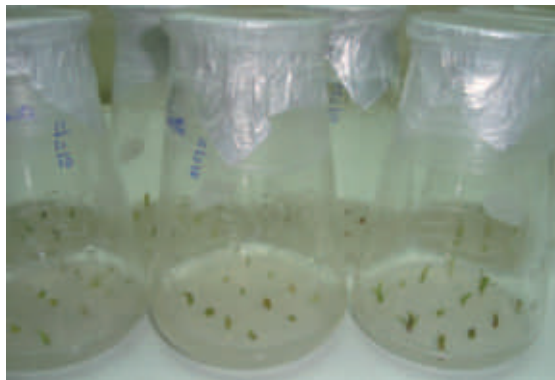


Foto 6. Yemas de palto recién subcultivadas en medio de multiplicación

El medio de cultivo utilizado en esta fase es similar a la fase anterior a diferencia de ser un medio de doble fase con diferente concentración de BA (cuadro 1).

En este medio de cultivo permanecerán 8 semanas, y luego se subcultivan nuevamente los brotes apicales y nodales obtenidos en medio de multiplicación (foto 7). Y así sucesivamente se incrementa el material vegetal.

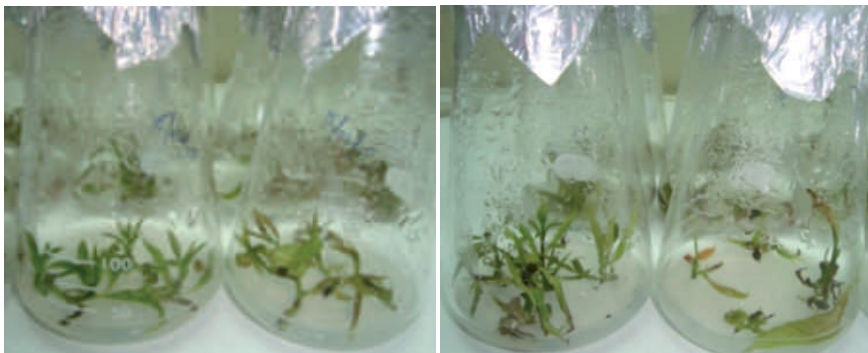


Foto 7. Brotes múltiples de palto después de 8 semanas del subcultivo de yemas en medio de multiplicación

3.1.4 Fase III: Enraizamiento

Antes de llevar las plántulas al exterior es necesario que desarrollen un sistema radicular que les sirva de soporte para mantenerse en el sustrato. La inducción de raíces se produce modificando ligeramente las características del medio de cultivo y generalmente se adiciona auxinas, como ácido indolbutírico (cuadro 1).

Los microesquejes apicales mayores de 2,0 cm de longitud (foto 8) son subcultivados al medio líquido de Murashige y Skoog con macronutrientes a un tercio de fuerza (MS/3) adicionado de 1 mg/l ácido indolbutírico (cuadro 1), donde permanecerán durante 3 días para inducir la formación de raíces (foto 9).

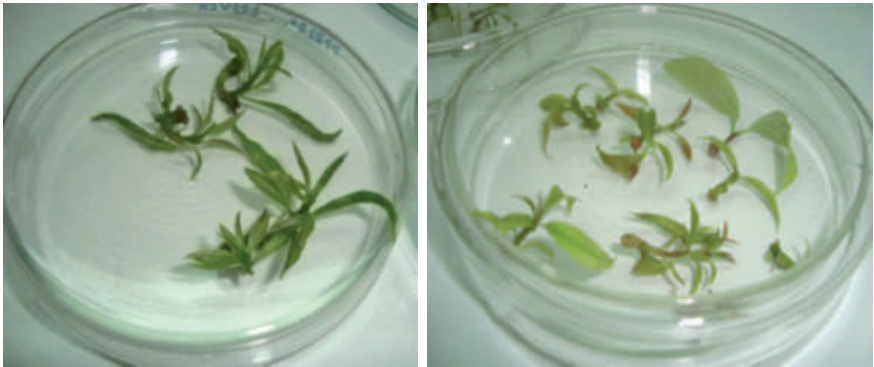


Foto 8. Plántulas de palto con brotes axilares desarrollados (izquierda) y microesquejes apicales seccionados (derecha) listos para sembrarlos en medio de enraizamiento.

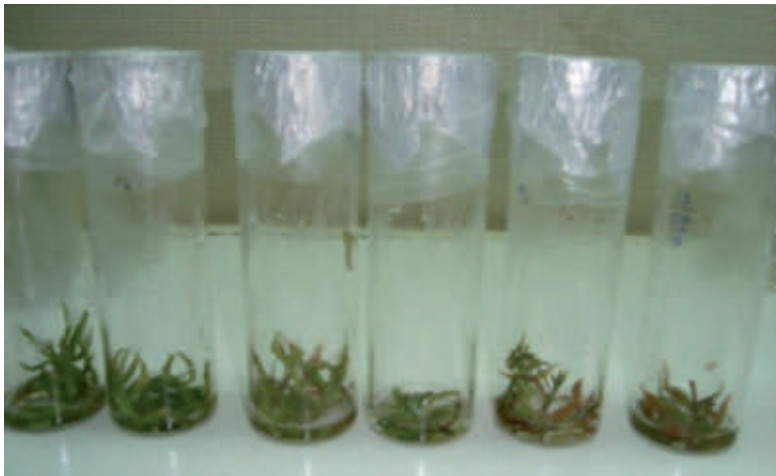


Foto 9. Microesquejes apicales en medio inductor de raíces

Luego se subcultiva al mismo medio de cultivo pero sin reguladores del crecimiento adicionado de 0,1 % carbón activado y solidificado con 0,8 % de agar (foto 10). En este medio de cultivo permanecerán 6 semanas. (foto 11).

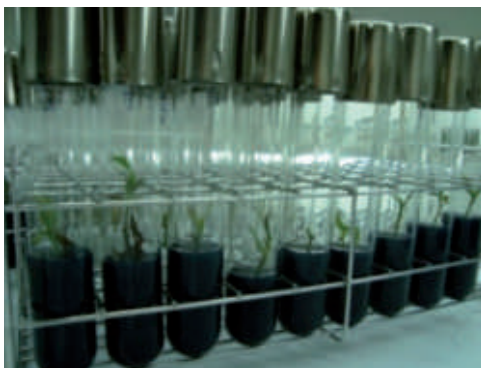


Foto 10. Plántulas de palto en medio sólido con carbón activado



Foto 11. Plántulas de palto con una a dos raíces desarrolladas.

3.1.5 Fase IV: Aclimatación

Esta fase consiste en el paso de las plántulas del cultivo artificial a condiciones naturales. Esta es una fase

extremadamente trascendental, ya que si no se realiza cuidadosamente se puede perder gran cantidad de plántulas.

Es importante considerar que las plántulas cultivadas *in vitro* se encuentran expuestas a alta humedad y baja intensidad luminosa, por tanto las hojas se caracterizan por tener menos ceras cuticular y epicuticular que protejan a las plántulas contra la deshidratación. Además tienen los estomas abiertos que favorecen la inmediata deshidratación de las plántulas al estar expuestas a baja humedad relativa (Zimmerman, 1988).

Las plántulas procedentes de la fase de enraizamiento se lavan varias veces con agua de caño con el fin de eliminar todos los restos de agar adheridos a las raíces y evitar el desarrollo de hongos contaminantes. Luego se siembran en sustrato Premix # 3 (Maruplast Int. EIRL) humedecido y se protegen con una cubierta plástica (foto 12).



Foto 12. Plántulas de palto en condiciones de aclimatación.

La adaptación a condiciones medio ambientales debe efectuarse cuidadosamente y utilizar cubiertas plásticas transparentes que protejan las bandejas o macetas con las plántulas obtenidas por cultivo *in vitro* y que mantengan un microambiente con alta humedad relativa.

Progresivamente se le va haciendo aberturas a la cubierta plástica para disminuir la humedad del microambiente, hasta que al cabo de 8 semanas se retira la cubierta dejando expuestas las plántulas y es cuando están listas para trasplantarlas a sustrato de vivero y mantenerlas en condiciones de casa malla, invernadero o tinglado.

La apariencia de las plántulas aclimatadas es que están más desarrolladas que al inicio de la aclimatación, sus hojas se ven lozanas con ceras, algunas veces hay presencia de nuevos brotes y al momento del trasplante se observa nuevas raíces desarrolladas con presencia de pelos radiculares (foto 13).



Foto 13. Plántula de palto aclimatada después de 8 semanas.

4. BIBLIOGRAFÍA

1. Barceló-Muñoz A, Encina CL, Simón-Pérez E y F. Pliego-Alfaro. 1999. Micropropagation of adult avocado. *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 58:11-17
2. Barrera C. y E. Rojas. 2007. Inicio de la Erradicación del Avocado Sunblotch Viroid (ASBVd) y Potato Spindle Tuber Viroid (PSTVD) en palto. *Proceedings VI World Avocado Congress (Actas VI Congreso Mundial del Aguacate)*. Viña Del Mar, Chile. 12–16 Nov. 2007. ISBN No 978-956-17-0413-8.
3. CEPES. 2008. Informe Final de la consultoría: Estudio de la Cadena de palta de Luricocha con criterios de equidad, inclusión y Sostenibilidad Ambiental. 130 pp.
4. Coi, E. 1928. Sunblotch of the avocado. A serious physiological disease. En: El viroide de la mancha del sol (ASBVd) es persistente en cultivos nucelares de aguacate (*Persea americana* Mill.). por Suárez E, Litz R, Sdrell R y D. Kuhn. 2005. *Rev. Colombiana de Biotecnología* 7(2):10-18
5. Da Graca, Messon T.E. y H.J. Antel. 1983. Effect of Avocado Sunblotch Disease on fruit yield. *South African Avocado Growers Association Yearbook* 6:86-87
6. Deberg P.C y R.H. Zimmerman, 1991. *Micropropagation Technology and Application*. Kluwer Academic Publishers. Netherlands, 484 pp
7. Efendi D. 2003. Transformation and Cryopreservation of Embryogenic Avocado (*Persea americana* Mill.) cultures. Tesis para optar el título de Doctor of Phyllosophy en la Universidad de Florida. 175 pp. USA.

8. FAO Statistics. 2011. [Http:www.faostat](http://www.faostat). Accedido Febrero 14, 2011.
9. George, E.F. 1993. Plant Propagation by Tissue Culture I. The Technology. Exegetics Ltd. Edington, England.
10. Litz RE, Wijhatksono, Raharjo S, Efendi D, Pliego - Alfaro F y Barceló - Muñoz A. *Persea americana* Avocado. In: Biotechnology of fruit and nut crops por R. E. Litz. (Biotechnology in agriculture series N° 29) CABI Publishing 707 pp.
11. Martínez R., Hernández F., Martínez - Valero R. y P. Legua. 2003. Contribución al estudio de una manifestación de agallas leñosas asociadas al Sunblotch en vergeles adultos de aguacatero (*Persea americana* Mill.). Proceedings V World Avocado Congress (Actas V Congreso Mundial del Aguacate) pp. 607-610.
12. MINAG. 2006. Perfil del mercado de la palta. 20 pp.
<http://www.planeamientoygestion.com.pe>
13. MINAG. 2010. Manual Técnico de Buenas Prácticas Agrícolas en el Cultivo de Palto. Proyecto Apoyo al Desarrollo de la Cadena Productiva de la Palta en Tres Regiones de Intervención del PRONAMACHS: Ancash, Cajamarca y Lima. 124 pp.
14. MINAG. 2011. Comercio Exterior para el Agro.
<http://dbsys.minag.gob.pe/siscec/>. Accedido Febrero 11, 2011.
15. Murashige T. y F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* 15: 473-497.
16. Olano C, Schnell R.J. y D. Khun. 2002. Current Status of ASBVD infection among avocado accessions in the Nacional Germoplast Collection. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 115:280-282.

17. Olmo S, Luciani G. y E. Galdeano. 2004. Biotecnología y Mejoramiento Vegetal. Parte V. Métodos de Propagación y Conservación de Germoplasma. Pag. 161. En: Biotecnología y Mejoramiento Vegetal por Echenique V., Rubinstein C. y L. Mroginski. 424 pp.
18. Pliego -Alfaro F, Barceló -Muñoz A., Simón -Pérez E., De la Viña -Nieto G., Sánchez -Romero C. y R. Perán-Quesada. 1999. La Micropropagación en la Mejora de Patrones de aguacate (*Persea americana* Mill.): Problemas y Limitaciones. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 239-244
19. Schroeder C.A . 1973. Apical and other responses of tissues of avocado in aseptic culture. California Avocado Society 1972-73 Yearbook 56:138-141
20. Solid OPD. 2010. Tecnología productiva del palto (Módulo 1). Lima, Perú. 180 pp.
21. Suárez E, Litz R, Sdrell R y D. Kuhn. 2005. El viroide de la mancha del sol (ASBVd) es persistente en cultivos nucelares de aguacate (*Persea americana* Mill.). Rev. Colomb. Biotecnol. 7(2):10-18
22. Teliz D. 2000. El aguacate y su manejo integrado. Editorial Mundi Prensa. 18° Edición. México 219 pp. En: Efecto de factores físicoquímicos sobre la actividad microbiana de la rizósfera del aguacatero (*Persea americana* Mill.) para el control de *Phytophthora cinnamomi* (Rands.) por F. Vidales. 2002. Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias, México. 120 pp.
23. Vidales F. 2002. Efecto de factores físicoquímicos sobre la actividad microbiana de la rizósfera del aguacatero (*Persea americana* Mill.) para el control de *Phytophthora cinnamomi* (Rands.). Tesis para optar el grado de Doctor en Ciencias, México. 120 pp.

24. Vidoy I, Imbroda I, Ariza MA, Zea T, Pliego-Alfaro F y A. Barceló-Muñoz. 2005. Micropropagación de portainjertos de aguacate (*Persea americana* Mill.) seleccionados por su tolerancia a podredumbres radiculares. VI Reunión Sociedad Española de Cultivo *In vitro* de tejidos vegetales. 11-13 Setiembre 2005, Córdoba-España, página 61.
25. Zimmerman R.H. 1988. Micropropagation of Woody Plants: Post Tissue Culture Aspects. *Acta Horticulturae* 227:489-499.