



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO



DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

**COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO**

DOCTORADO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

**ALGUNOS ENFOQUES CONVENCIONALES Y
MODERNOS PARA PROMOVER LA PROPAGACIÓN
VEGETATIVA DE PORTAINJERTOS DE AGUACATE
(*Persea americana* Mill.)**

TESIS

**Que como requisito parcial para
obtener el grado de:**

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

Mercedes Martínez Villagómez

Bajo la supervisión de: Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego



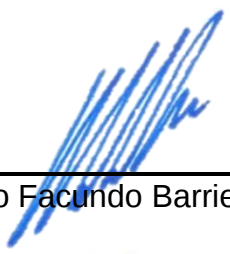
Chapingo, Estado de México, junio 2025.

ALGUNOS ENFOQUES CONVENCIONALES Y MODERNOS PARA PROMOVER
LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE PORTAINJERTOS DE AGUACATE
(*Persea americana* Mill.)

Tesis realizada por **MERCEDES MARTÍNEZ VILLAGÓMEZ** bajo la supervisión del
Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial
para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESIDENTE:



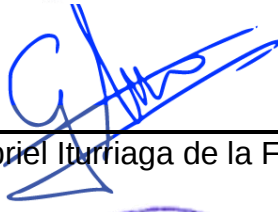
Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego

ASESOR:



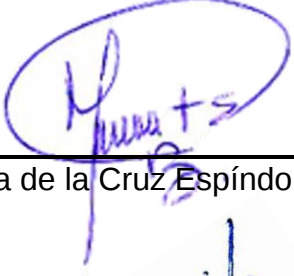
Dr. José Óscar Mascorro Gallardo

ASESOR:



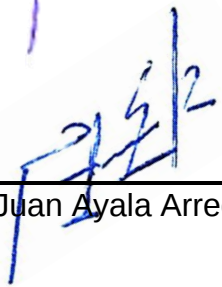
Dr. Gabriel Iturriaga de la Fuente

ASESORA:



Dra. María de la Cruz Espíndola Barquera

LECTOR EXTERNO:



Dr. Juan Ayala Arreola

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vii
LISTA DE FIGURAS	x
DEDICATORIAS	xiv
AGRADECIMIENTOS	xv
DATOS BIOGRÁFICOS	xvi
RESUMEN GENERAL	xvii
GENERAL ABSTRACT	xviii
1. INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1.1 Literatura citada	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Introducción	4
2.1.1 Importancia de los portainjertos clonales de aguacate	4
2.1.2 Métodos de propagación clonal empleados en aguacate	5
2.1.3 Enfoque de la revisión	7
2.2 Bases fisiológicas y moleculares de la propagación clonal	8
2.2.1 Edad de la planta madre	8
2.2.2 Mecanismos genéticos y moleculares	9
2.2.2.1 Factores de respuesta a auxinas (<i>ARF</i>)	9
2.2.2.2 Genes <i>SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE</i> (<i>SPL</i>)	10
2.2.2.3 Genes <i>SCARECROW</i> (<i>SCR</i>)	11
2.2.2.4 Genes <i>WUSCHEL</i> -related homeobox (<i>WOX</i>)	12
2.3 Regulación hormonal	13
2.3.1 Auxinas	13
2.3.2 Citocininas	14
2.3.3 Giberelinas	14

2.3.4	Etileno	15
2.3.5	Ácido abscísico	15
2.4	Etiolación	16
2.5	Mecanismos fisiológicos y moleculares	17
2.6	Ajustes metabólicos y energéticos.....	17
2.7	Aplicaciones prácticas en la propagación de aguacate	18
2.8	Auxinas: mecanismos y aplicaciones.....	19
2.8.1	Transporte	19
2.8.2	Mecanismos moleculares y regulación hormonal.....	20
2.8.3	Respuestas ambientales, estabilidad y aplicaciones.....	21
2.8.4	Las auxinas en la propagación clonal de aguacate.....	22
2.9	Bioestimulantes como potenciadores de la propagación	25
2.9.1	Tipos y mecanismos.....	25
2.9.1.1	Inoculantes microbianos	25
2.9.1.2	Ácidos húmicos y fúlvicos	27
2.9.1.3	Extractos de algas marinas.....	28
2.9.1.4	Hidrolizados de proteínas y aminoácidos.....	29
2.9.2	Efectos de los bioestimulantes en plantas madre de especies leñosas.....	31
2.10	Limitaciones.....	32
2.11	Conclusiones	33
2.12	Literatura citada.....	34
3.	EFFECT OF AUXINS ON THE ROOTING OF THE AVOCADO ROOTSTOCK 'DUKE 7'	60
3.1	Introduction	61
3.2	Materials and Methods.....	63
3.2.1	Experimental site and plant material	63
3.2.2	Experimental establishment	64
3.2.3	Experimental design.....	65
3.2.4	Evaluated variables	66
3.2.5	Statistical analysis	66

3.3	Results and Discussion.....	67
3.3.1	Analysis of variance	67
3.3.2	Effect of the rooting agent	68
3.3.3	Effect of the concentration.....	74
3.3.4	Interactive effects of rooting agent type and concentration	77
3.4	Conclusions	82
3.5	References	83
4.	OPTIMIZACIÓN DE LA PROPAGACIÓN CLONAL DE AGUACATE MEDIANTE LA APLICACIÓN DE BIOESTIMULANTES A LA PLANTA MADRE.....	87
4.1	Introducción	89
4.2	Materiales y Métodos.....	91
4.2.1	Ubicación del experimento y material vegetal	91
4.2.2	Establecimiento y manejo de las plantas madre	91
4.2.3	Diseño experimental y aplicación de tratamientos	93
4.2.4	Evaluación de enraizamiento	94
4.2.5	Variables evaluadas.....	94
4.2.6	Análisis estadístico de los datos.....	95
4.3	Resultados y Discusión.....	95
4.3.1	Longitud, diámetro de vareta y entrenudos	99
4.3.2	Prendimiento y etiolación	102
4.3.3	Desarrollo de raíces y calidad de enraizamiento.....	105
4.4	Conclusiones	112
4.5	Literatura citada	112
5.	LA FORMULACIÓN Y EL TIPO DE AUXINA DETERMINAN LA CALIDAD RADICAL EN EL PORTAINJERTO DE AGUACATE ‘DUKE 7’	121
5.1	Introducción	124
5.2	Materiales y Métodos.....	125
5.2.1	Ubicación del experimento y material vegetal	125
5.2.2	Diseño experimental.....	127
5.2.3	Variables evaluadas.....	128

5.2.4	Análisis estadístico	129
5.3	Resultados y Discusión.....	130
5.3.1	Análisis de varianza	130
5.3.2	Efecto de la formulación	132
5.3.3	Efecto de la concentración	137
5.3.4	Efecto de la proporción	141
5.3.5	Efecto de la interacción de factores	144
5.4	Conclusiones	152
5.5	Literatura citada	154

LISTA DE CUADROS

Capítulo 1

Table 1- Experimental treatments: auxin types and concentrations evaluated in the rooting of 'Duke 7' avocado rootstock etiolated shoots.....	65
Table 2- Mean squares obtained in the analysis of variance to evaluate the effect of five rooting agents and three concentrations on variables related to the rooting of etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'.....	68
Table 3- Mean squares obtained in the analysis of variance to evaluate the effect of five rooting agents and three concentrations on variables related to the rooting of etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'.....	68
Table 4- Average values by type of rooting agent for the variables: percentage of shoot survival, percentage of rooting, rooting quality index, and percentage of callus presence in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.....	69
Table 5- Mean values by rooting agent type for the variables number, length, and diameter of roots, and presence of secondary roots in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.....	70
Table 6- Mean values by rooting agent concentration for the variables: Survival percentage, rooting percentage, quality index, and callus presence percentage in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.....	75
Table 7. Mean values by rooting hormone concentration for the variables number, length, and diameter of roots and presence of secondary roots in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.....	76

Capítulo 4

Cuadro 1. Solución nutritiva utilizada para el cultivo de plantas de aguacate durante el ciclo del experimento.....	91
Cuadro 2. Composición de los bioestimulantes evaluados.....	93
Cuadro 3. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación sobre el número de varetas e injertos por planta donadora y el número de yemas e injertos por vareta en cuatro cultivares de aguacate empleados como portainjertos clonales.....	96
Cuadro 4. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación en variables relacionadas con el vigor de vareta en plantas de cuatro cultivares de aguacate empleados como portainjertos clonales.....	100
Cuadro 5. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación en variables relacionadas la calidad y porcentaje de prendimiento y la duración de las etapas de prendimiento y etiolación de cuatro genotipos de aguacate empleados como portainjertos clonales. ..	103
Cuadro 6. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación en el enraizamiento de cuatro cultivares de aguacate empleados como portainjertos clonales.....	107

Capítulo 5

Cuadro 7. Descripción completa del diseño factorial y la estratificación de las variables experimentales.....	128
Cuadro 8. Análisis de varianza (ANOVA) para supervivencia, enraizamiento y crecimiento vegetativo en brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’.	130
Cuadro 9. ANOVA para variables radicales e índice de calidad de enraizamiento (ICE) en brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’.....	131

Cuadro 10. ANOVA para brotes con raíces secundarias (BRS), brotes con callo (BC), brotes con callo abundante (BCA) y brotes con distribución de raíces homogénea (BDRH) en brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’. ...	132
Cuadro 11. Comparación de medias y diferencias mínimas significativas honestas (DMSH) entre formulaciones de auxinas en variables de respuesta de brotes etiolados de aguacate.....	133
Cuadro 12. Comparación de medias y diferencias mínimas significativas honestas (DMSH) entre concentraciones de auxinas en variables de respuesta de brotes etiolados de aguacate.....	138
Cuadro 13. Comparación de medias y diferencias mínimas significativas honestas (DMSH) entre proporciones de auxinas en variables de respuesta de brotes etiolados de aguacate.....	141

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 3

- Fig. 1 - Average monthly ambient temperature and relative humidity variation during the experimental period..... 64
- Fig. 2- Influence of five rooting agents on callus formation and secondary root development in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'. IAA: indole-3-acetic acid; IBA: indole-3-butyric acid; NAA: 1-naphthalene acetic acid; K-IBA: indole-3-butyric acid 72
- Fig. 3- Interaction of auxin type and concentration on rooting of etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'. IAA: indole-3-acetic acid, NAA: 1-naphthalene acetic acid, IBA: indole-3-butyric acid, K-IBA: indole-3-butyric acid potassium salt, IBA + NAA: indole-3-butyric acid + 1-naphthalene acetic acid (Dip'N Grow®)..... 77
- Fig. 4- Rooting of etiolated shoots of 'Duke 7' rootstock with the application of IAA (indole-3-acetic acid), NAA (1-naphthalene acetic acid), IBA (indole-3-butyric acid), K-IBA (indole-3-butyric acid potassium salt) and IBA + NAA (indole-3-butyric acid + 1-naphthalene acetic acid) at three concentrations. ANR: average number of roots; Scale bar: 1.0 cm..... 81

Capítulo 4

- Figura 1. Fluctuación de la temperatura y humedad relativa dentro del invernadero durante la evaluación experimental. 92
- Figura 2. Efecto de tres tratamientos bioestimulantes sobre variables de crecimiento en plantas madre de cuatro cultivares empleados como portainjertos clonales de aguacate: a) número de varetas por planta donadora, b) número de yemas por vareta, c) número de injertos por vareta, d) número de injertos por planta donadora. Las barras de error indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$). 98
- Figura 3. Efecto de tres tratamientos bioestimulantes sobre variables de crecimiento de las varetas de cuatro cultivares empleados como portainjertos clonales de aguacate: a) longitud de vareta, b) diámetro de vareta, c) número de entrenudos por vareta, c) longitud de entrenudos. Las barras de error indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$). 101
- Figura 4. Efecto de tratamientos bioestimulantes en variables clave del injerto y etiolación en cuatro portainjertos clonales de aguacate: a) longitud de yemas de los injertos al momento de ingreso a etiolación, b) tiempo de prendimiento de los injertos, c) porcentaje de prendimiento, d) tiempo de etiolación. Las barras de error indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$). 104
- Figura 5. Comparación del efecto de tratamientos de tratamientos bioestimulantes en variables del enraizamiento de portainjertos cuatro portainjertos clonales de aguacate. Las barras indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$). 108

Figura 6. Influencia de cuatro tratamientos de bioestimulación en el enraizamiento de cuatro genotipos de aguacate empleados como portainjertos clonales. EAM: extractos de algas marinas. <i>T</i> : <i>Trichoderma</i>	110
--	-----

Capítulo 5

Figura 7. Variación mensual promedio de la temperatura ambiente y la humedad relativa durante el período experimental.	126
---	-----

Figura 8. Supervivencia vs. eficacia: Mapas de calor del efecto de la formulación de auxinas en brotes acodados de 'Duke 7'. a) Porcentaje de supervivencia. b) Porcentaje de brotes con formación de callo. c) Número promedio de raíces por brote. d) Porcentaje de brotes con callo abundante. S: Auxina en formulación de sal potásica. A: Auxina en formulación ácida. ANA: Ácido 1-naftalenacético. AIB: Ácido indol-3-butírico.	135
---	-----

Figura 9. Valores de pH de las soluciones de ácido 1-naftalenacético e indol-3-butírico en sus formulaciones de sales potásicas y ácidas y su efecto en la distribución y capacidad de morfogénesis de raíces adventicias en brotes de 'Duke 7'. S: auxina en formulación de sal potásica. A: auxina en formulación ácida. ANA: ácido 1-naftalenacético. AIB: ácido indol-3-butírico. a) Mapa de calor de valores de pH dependientes de la formulación de las auxinas. b) Distribución de raíces homogénea provocada por formulaciones de sales potásicas con pH ligeramente ácido. c) Distribución de raíces heterogénea provocada por formulaciones de sales potásicas con pH ligeramente alcalino. d) Distribución de raíces homogénea provocada por formulaciones ácidas.	136
--	-----

Figura 10. Efectos de toxicidad contrastantes de las formulaciones ácida y potásica de auxinas aplicadas en brotes de 'Duke 7'. a) Brote tratado con ANA (ácido 1-naftalenacético) en formulación ácida (34.4 mM en solución etanol:isopropanol, 70:30 v/v) donde se observa necrosis severa (flechas amarillas) en la base del tallo, asociada al escurrimiento del enraizador aplicado (50 μ L). b) Ampliación de la región necrótica en el mismo tratamiento, donde se aprecia el daño localizado por contacto directo con la solución. c) Brote tratado con ANA en formulación potásica (44.2 mM en agua), sin evidencia de daño tisular, a pesar del mismo volumen aplicado.....	139
Figura 11. Efectividad de tratamientos y calidad estructural del sistema de raíces: mapas de calor y comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$). a) Porcentaje de enraizamiento. b) Índice de calidad de enraizamiento.	146
Figura 12. Uniformidad el sistema de raíces en 'Duke 7'. a) Mapa de calor. b) Comparación de medias entre tratamientos (Tukey, $\alpha = 0.05$). BDRH: Brotes con distribución de raíces homogénea.....	148
Figura 13. Efecto de formulaciones de ANA y AIB en la arquitectura radical de 'Duke 7': Interacción entre tipo de formulación, concentración y proporción. Supervivencia (porcentaje de brotes, rojo). Brotes con desarrollo de raíces homogéneo (porcentaje de brotes, azul). Cantidad de raíces promedio (verde).	149
Figura 14. Número y diámetro de raíces en brotes de 'Duke 7': mapas de calor y comparación de medias entre tratamientos. a) Número promedio de raíces por brote. b) Diámetro promedio de raíces. Comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$).....	151

DEDICATORIAS

A mis padres, por ser mi soporte inquebrantable y brindarme su amor incondicional; a mis hermanos y sobrinos, por ser mi alegría y motivación constante.

A CRQ por tu paciencia infinita, por ser mi lugar seguro, por cada gesto de apoyo y por acompañarme con tanto compromiso y dedicación.

A mis amigos, por ser mi red de apoyo en los momentos difíciles y por celebrar conmigo cada logro.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), a la Universidad Autónoma Chapingo y al Instituto de Horticultura del Departamento de Fitotecnia por el financiamiento y las facilidades brindadas para la realización de esta investigación.

De manera especial, al Dr. Alejandro Facundo Barrientos Priego por su invaluable dirección, revisión exhaustiva y apoyo constante durante todo este proceso.

Al Dr. José Óscar Mascorro Gallardo por sus observaciones y comentarios críticos que enriquecieron la presentación de los resultados.

Al Dr. Gabriel Iturriaga de la Fuente por su asesoría y constante disponibilidad durante el proceso de desarrollo de este trabajo.

A la Dra. María de la Cruz Espíndola Barquera por sus atinadas sugerencias y revisión detallada de los manuscritos y sugerencias para mejorar la presentación de esta investigación.

Al Dr. Juan Ayala Arreola, lector externo, por su minuciosa revisión y valiosas aportaciones a este trabajo.

A la Dra. Ana María Castillo González y el Dr. Edilberto Avitia García por brindarme su apoyo, sus conocimientos y motivarme a ser mejor en cada momento.

Reconozco también a Claudia Reyes Quiroz por su invaluable apoyo para llevar a cabo la ejecución de los experimentos y la recolección de datos, cuyo trabajo fue fundamental para el desarrollo de esta investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS



Datos personales

Nombre	Mercedes Martínez Villagómez
Fecha de nacimiento	24 de septiembre de 1990
Lugar de nacimiento	Acambay, Estado de México
CURP	MAVM900924MMCRLR01
Profesión	Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia
Cédula profesional	09583159

Desarrollo académico

Bachillerato	Preparatoria Oficial No. 109, Acambay, Estado de México.
Licenciatura	Ingeniero Agrónomo Especialista en Fitotecnia, UACH
Maestría	Maestro en Ciencias en Horticultura, UACH

RESUMEN GENERAL

ALGUNOS ENFOQUES CONVENCIONALES Y MODERNOS PARA PROMOVER LA PROPAGACIÓN VEGETATIVA DE PORTAINJERTOS DE AGUACATE (*Persea americana* Mill.)

La propagación clonal de portainjertos de aguacate (*Persea americana* Mill.) es clave para garantizar la uniformidad genética y la productividad en huertos comerciales, pero enfrenta desafíos críticos durante el enraizamiento. En este estudio se evaluaron estrategias para optimizar este proceso mediante el uso de auxinas en brotes etiolados de 'Duke 7' (Capítulos III y V) y la aplicación de bioestimulantes (L-aminoácidos, extractos de algas y *Trichoderma harzianum*) en plantas madre y su impacto en el enraizamiento de cuatro portainjertos (Capítulo IV). En el Capítulo III se identificó que el ácido 1-naftalenácetico (ANA) a 34.4 mM fue el tratamiento más efectivo para la inducción de raíces (55.3 raíces/brote) y calidad de enraizamiento (ICE = 154.9 cm), aunque con alta formación de callo (74.6 %). Por su parte, el ácido indol-3-butírico (AIB) logró un desarrollo radical moderado y la combinación AIB +ANA (34.4 mM) presentó un balance óptimo entre calidad radical y arquitectura de raíces. En el Capítulo IV se demostró que los L-aminoácidos incrementaron significativamente la producción de varetas en plantas madre y mejoraron el enraizamiento en 'Duke 7' (100 %) y 'Zutano' (95.8 %), pero no superaron las limitaciones en 'Day' (72.9 %) y 'Velvick' (31.2 %), mientras que *T. harzianum* mejoró la calidad radical en 'Duke 7', lo que evidenció respuestas específicas por portainjerto. Finalmente, en el Capítulo V se evidenció que las auxinas en formulaciones de sales potásicas permitieron alcanzar 100 % de enraizamiento y 99.28 % de supervivencia, pero con sistemas radicales menos desarrollados (ICE = 134.99 cm). No obstante, las auxinas en formulación ácida produjeron raíces más vigorosas (ICE = 323.53 cm) pero menor supervivencia (56.66 %). Además, la proporción ANA:AIB 100:0 generó raíces uniformes (78.3 raíces/brote) mientras que la proporción 0:100 (AIB puro) presentó un desempeño más limitado (34.14 raíces/brote). Estos hallazgos permiten diseñar protocolos diferenciados según el objetivo productivo y el portainjerto, que representa un enfoque concreto para optimizar la propagación clonal en viveros comerciales.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., propagación clonal, portainjertos, auxinas, bioestimulantes, enraizamiento.

GENERAL ABSTRACT

SOME CONVENTIONAL AND MODERN APPROACHES TO PROMOTE VEGETATIVE PROPAGATION OF AVOCADO ROOTSTOCKS (*Persea americana* Mill.)

Clonal propagation of avocado rootstocks (*Persea americana* Mill.) is crucial to ensure genetic uniformity and productivity in commercial orchards, but faces critical challenges during rooting. This study evaluated strategies to optimize this process through the use of auxins in etiolated shoots of 'Duke 7' (Chapters III and V) and the application of biostimulants (L-amino acids, seaweed extracts, and *Trichoderma harzianum*) on mother plants and their impact on the rooting of four rootstocks (Chapter IV). Chapter III identified that 1-naphthaleneacetic acid (NAA) at 34.4 mM was the most effective treatment for root induction (55.3 roots/shoot) and rooting quality (RQI = 154.9 cm), albeit with high callus formation (74.6 %). Meanwhile, indole-3-butyric acid (IBA) achieved moderate root development, and the IBA+NAA combination (34.4 mM) showed an optimal balance between root quality and architecture. Chapter IV demonstrated that L-amino acids significantly increased scion production in mother plants and improved rooting in 'Duke 7' (100 %) and 'Zutano' (95.8 %), but did not overcome limitations in 'Day' (72.9 %) and 'Velvick' (31.2 %), while *T. harzianum* enhanced root quality specifically in 'Duke 7', evidencing rootstock-specific responses. Finally, Chapter V revealed that auxins in potassium salt formulations achieved 100 % rooting and 99.28% survival, but with less developed root systems (RQI = 134.99 cm). However, acidic auxin formulations produced more vigorous roots (RQI = 323.53 cm) but lower survival (56.66 %). Furthermore, the NAA:IBA ratio of 100:0 produced uniform roots (78.3 roots/shoot) while the 0:100 ratio (pure IBA) showed more limited performance (34.14 roots/shoot). These findings enable the design of differentiated protocols according to the production objective and selected rootstock, representing a concrete strategy to enhance clonal propagation in commercial nurseries.

Keywords: *Persea americana* Mill., clonal propagation, rootstocks, auxins, biostimulants, rooting.

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La producción comercial de aguacate (*Persea americana* Mill) enfrenta desafíos críticos asociados a la heterogeneidad genética de los portainjertos propagados por semilla, lo que genera variabilidad en el crecimiento, susceptibilidad a patógenos como *Phytophthora cinnamomi* Rands y menor tolerancia a estrés abiótico (salinidad, suelos alcalinos y compactación) (Salazar-García et al., 2004; Medina-Urrutia et al., 2017). La propagación clonal de portainjertos surge como una solución estratégica para estandarizar la productividad, mejorar la calidad de las cosechas y garantizar la sostenibilidad de los huertos (Ben-Ya'acov & Zilberstaine, 1999; Cohen et al., 2023). Sin embargo, su implementación a escala comercial está limitada por la baja eficiencia de formación de raíces adventicias en la etapa de enraizamiento, proceso complejo en especies leñosas como el aguacate (Hiti-Bandaralage et al., 2017; Ernst. 1999).

El método clásico de propagación clonal, basado en el enraizamiento de tejidos etiolados (Folich & Platt, 1972), mediante acodos (Ernst, 1999), depende críticamente de la aplicación de auxinas sintéticas (ácido indol-3-butírico: AIB y ácido 1-naftalenacético: ANA) para inducir raíces adventicias (Lakehal & Bellini, 2019). No obstante, los protocolos actuales se sustentan en estudios pioneros que no consideran avances recientes en formulaciones (sales potásicas y formulaciones ácidas), concentraciones óptimas ni interacciones entre auxinas (Damodaran & Strader, 2019; Bhatla & Lal, 2023). Además, la calidad del material vegetal, determinada por el manejo agronómico de las plantas madre donadoras de vareta, influye de manera directa en el éxito del enraizamiento; sin embargo, este aspecto ha sido poco estudiado en el cultivo de aguacate (Brighenti et al., 2023; Kaur et al., 2024).

Esta investigación tuvo como objetivo desarrollar y optimizar protocolos de propagación clonal para portainjertos de aguacate mediante la evaluación de estrategias basadas en auxinas y bioestimulantes, con el fin de mejorar la eficiencia del enraizamiento, la calidad del material vegetal y la uniformidad genética, aspectos fundamentales para producir plantas vigorosas.

En el Capítulo II se presenta una amplia revisión de literatura que aborda las limitaciones en la propagación de portainjertos de aguacate mediante un enfoque que integra las bases fisiológicas del enraizamiento adventicio, los mecanismos de acción y aplicaciones prácticas de las auxinas, así como las posibles sinergias con bioestimulantes para optimizar el proceso. En el Capítulo III se evaluó sistemáticamente la eficacia de diferentes tipos de auxinas (AIB, ANA, ácido indol-3-acético: AIA, sal potásica de AIB: K-AIB) y concentraciones (24.6-44.2 mM) en brotes etiolados de 'Duke 7' a partir del análisis de variables clave como porcentaje de enraizamiento, calidad radical y formación de callo. Por su parte, en el Capítulo IV se examinó el impacto de tres bioestimulantes (L-aminoácidos, extractos de algas marinas y *Trichoderma harzianum*) en la productividad de plantas madre y su relación con el éxito de enraizamiento en cuatro portainjertos de aguacate. Finalmente, en el capítulo V se profundizó en el estudio comparativo de formulaciones de auxinas (ácidas y sales potásicas), al evaluar su eficacia en diferentes proporciones para optimizar la supervivencia y el desarrollo del sistema radical en 'Duke 7'. Cada estudio empleó diseños experimentales rigurosos que permitieron establecer protocolos diferenciados según las características específicas de cada portainjerto.

Los aportes innovadores de esta investigación incluyen: criterios técnicos para la selección de auxinas y formulaciones según objetivos específicos, por ejemplo, el uso de ANA para inducción abundante de raíces frente a AIB para equilibrio entre supervivencia y calidad radical; evidencia sólida sobre el efecto de los bioestimulantes en la producción de varetas (manejo de plantas madre) y su efecto diferenciado en el enraizamiento según el genotipo; y protocolos mejorados que superan las limitaciones de los métodos tradicionales que se

utilizan a nivel comercial, con aplicaciones directas para desarrollar e impulsar la industria de viveros en México. Estos hallazgos representan un importante avance para disminuir las limitaciones tecnológicas en la producción de portainjertos clonales, y constituyen un componente fundamental para enfrentar los retos fitosanitarios y climáticos que enfrenta la producción de aguacate.

1.1 Literatura citada

- Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2023). Auxins. In *Plant physiology, development and metabolism* (pp. 399–420). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-99-5736-1_15
- Ben-Ya'acov, A., & Zilberstaine, M. (1999). Clonal avocado (*Persea americana* Mill.) rootstocks in Israel. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 39–42.
- Brighenti, A. F., de Freitas, F. R., Malohlava, I. T. C., Votre, T. C. G., Voltolini, J. A., da Silva, A. L., Feldberg, N. P., & Würz, D. A. (2023). Biostimulants and indolebutyric acid improve rooting of wood cuttings from different grapevine rootstocks. *Ciência E Técnica Vitivinícola*, 38(1), 1–9. <https://doi.org/10.1051/ctv/ctv202338011>
- Cohen, H., Bar-Noy, Y., Irihimovitch, V., & Rubinovich, L. (2022). Effects of seedling and clonal West Indian rootstocks irrigated with recycled water on 'Hass' avocado yield, fruit weight and alternate bearing. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 51(1), 1–13. <https://doi.org/10.1080/01140671.2022.2098779>
- Damodaran, S., & Strader, L. C. (2019). Indole 3-butyric acid metabolism and transport in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*, 10, Article 851. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00851>
- Ernst, A. (1999). Micro cloning: a multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 217–220.
- Frolich, E. F., & Platt, R. G. (1972). Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 55, 97–109.

- Hiti-Bandaralage, J. C. A., Hayward, A., & Mitter, N. (2017). Micropropagation of Avocado (*Persea americana* Mill.). *American Journal of Plant Sciences*, 08(11), 2898–2921. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811197>
- Kaur, A., Devgan, M., Sharma, R., Kumar, A., Choudhary, A., Singh, R. P., Reddy, D. M., Venkatapuram, A., Mehta, S., & Husen, A. (2024). Role of biostimulant in adventitious rooting via stimulation of phytohormones. In A. Husen (Ed.), *Biostimulants in plant protection and performance* (pp. 237–254). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15884-1.00013-0>
- Lakehal, A., & Bellini, C. (2019). Control of adventitious root formation: insights into synergistic and antagonistic hormonal interactions. *Physiologia Plantarum*, 165(1), 90–100. <https://doi.org/10.1111/ppl.12823>
- Medina-Urrutia, V. M., Baltazar-Lorenzo, E., Virgen-Callero, G., & Pimienta-Barrios, E. (2017). Factores bióticos y abióticos que afectan la adaptación y crecimiento en plantaciones jóvenes de aguacate en Sayula, Jalisco, México. In S. Salazar García, & A. F. Barrientos Priego *Memorias del V congreso latinoamericano del aguacate* (pp. 281–291). APEAJAL.
- Salazar-García, S., Velasco-Cárdenas, J. de J., Medina-Torres, R., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(2), 183–190.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Introducción

2.1.1 Importancia de los portainjertos clonales de aguacate

Los portainjertos en el cultivo de aguacate (*Persea americana* Mill.) desempeñan un papel crítico en la productividad, uniformidad y sustentabilidad de los huertos (Hiti-Bandaralage et al., 2017). Tradicionalmente, se han utilizado portainjertos propagados por semillas, pero los métodos de propagación clonal han tomado relevancia debido a su capacidad para abordar varias limitaciones que presentan los portainjertos convencionales (Alberti et al., 2018).

Los portainjertos propagados por semilla se derivan de material genéticamente heterocigoto, lo que genera alta variabilidad en las plantas (García et al., 2022). Esta diversidad genética se manifiesta en diferencias morfológicas, fisiológicas y bioquímicas que en última instancia se refleja en árboles que presentan diferencias en resistencia a patógenos (van den Berg et al., 2021), vigor y capacidad productiva, que dan lugar a huertos heterogéneos con rendimientos poco predecibles (Cohen et al., 2022).

En contraste, la propagación clonal garantiza uniformidad genética al replicar portainjertos élite con características óptimas. Este método permite un desempeño homogéneo en el huerto, que asegura consistencia en productividad, adaptación al estrés abiótico y respuesta a enfermedades (Hiti-Bandaralage et al., 2017).

2.1.2 Métodos de propagación clonal empleados en aguacate

Aunque los portainjertos clonales ofrecen ventajas, su propagación a gran escala representa un desafío importante. El aguacate, en particular, tiene una capacidad limitada de enraizamiento (Gleeson et al., 2016). Sin embargo, se han desarrollado técnicas para optimizar su propagación (Frolich & Platt, 1972; Ernst, 1999).

El enraizamiento de estacas fue uno de los primeros métodos explorados para efectuar la propagación clonal del aguacate, su uso surgió en programas de mejoramiento genético durante el siglo XX (Kadman & Ben Ya'acov, 1965). Sin embargo, a gran escala no demostró viabilidad económica debido a bajas tasas de enraizamiento (<30 % en promedio) y heterogeneidad de respuesta entre portainjertos, particularmente de las razas antillana y guatemalteca (Hofshi, 1996). Aunque estudios en la década de 1970 lograron incrementar el enraizamiento hasta 62 % mediante etiolación y reguladores de crecimiento como el ácido indol-3-butírico (AIB), estos resultados solo fueron reproducibles bajo condiciones controladas de humedad relativa (70–80 %), temperatura (16–32 °C) y exclusivamente en portainjertos de la raza mexicana, genéticamente más predispuestos a la rizogénesis (Frolich & Platt, 1972; Pliego-Alfaro et al., 2020). La recalcitrancia de los tejidos maduros, sumada a los elevados costos logísticos y de infraestructura especializada, dificultó su adopción comercial, por lo que su aplicación se limitó principalmente a programas experimentales (Hiti-Bandaralage et al., 2017).

Ante estas limitaciones, surgieron técnicas innovadoras como el método 'Brokaw', desarrollado en California (EE.UU.) durante la década de 1970 como adaptación del protocolo de Frolich y Platt (1972). Esta técnica superó las barreras del enraizamiento tradicional al emplear brotes etiolados que se desarrollaron a partir del injerto del material a clonar sobre una semilla "nodriza" y la colocación estratégica de un anillo metálico en la base del brote para inducir raíces adventicias (Ernst et al., 2013). Su adopción masiva en países como Israel

y Estados Unidos se debió a su relativa simplicidad operativa y costos moderados, aunque presentaba debilidades críticas como la dependencia del correcto estrangulamiento del anillo para separar los sistemas radicales clonal y seminal. Esta condición generaba sistemas de raíces con calidad inconsistente (20–35 % de variabilidad entre lotes) así como fallas en la desconexión fisiológica portainjerto-nodrizza hasta en 15 % de los casos (De Villiers & Ernst, 2015).

Como respuesta a estos desafíos, la técnica ‘Allesbeste’, desarrollada en Sudáfrica a finales de los 90 (Ernst, 1999), revolucionó el sector al introducir contenedores de 55 mL para enraizar múltiples brotes etiolados por nodrizza y por ciclo, lo que permitió reducir el tiempo de producción en 50 %. Este método no solo mejoró la calidad sanitaria de las plantas al crear una zona de aislamiento entre raíces clonales y seminales que facilitó la inspección de calidad y redujo las pérdidas pos-transplante en 40 %, sino que también permitió la exportación global gracias al tamaño reducido (30–40 cm) y peso ligero (200–300 g por planta) de los clones (De Villiers & Ernst, 2007). No obstante, su implementación requiere inversiones en cámaras de etiolación con control climático (± 25 °C, 70 % HR) y manejo preciso de la fertilización (Ernst, 1999), lo que ha limitado su adopción en viveros pequeños con recursos técnicos insuficientes.

Ambas técnicas significaron avances importantes en la propagación clonal de aguacate, aunque ‘Allesbeste’, con su enfoque modular y adaptabilidad a mercados globalizados, posicionó a Sudáfrica como líder en exportación de material vegetal certificado (Ernst et al., 2013). Pese a su éxito comercial, esta técnica aún requiere el desarrollo de protocolos accesibles que logren un balance entre eficiencia, costo operativo y estandarización, adaptable a diferentes portainjertos comerciales (Hiti-Bandaralage et al., 2017).

A pesar de los avances en técnicas como ‘Brokaw’ y ‘Allesbeste’, persisten desafíos críticos en la propagación clonal del aguacate. Los métodos tradicionales, como el enraizamiento de estacas, muestran baja eficiencia, lo que limita su escalabilidad (Frolich & Platt, 1972; Hiti-Bandaralage et al., 2017). Además, la ausencia de protocolos estandarizados adaptados a portainjertos

comerciales genera inconsistencia en la calidad de las raíces y restringe la adopción de portainjertos clonales en los sistemas de producción (De Villiers & Ernst, 2015; Pliego-Alfaro et al., 2020).

Estas condiciones resaltan la necesidad de investigar estrategias integrales que optimicen la rizogénesis en portainjertos comerciales de aguacate. La estrategia requiere del manejo agronómico de las plantas madre donadoras de vareta, y la evaluación sistemática de formulaciones auxínicas (tipos, concentraciones y proporciones) que favorezcan el enraizamiento para desarrollar protocolos estandarizados y reproducibles que contribuyan en la eficiencia de la propagación vegetativa de este cultivo.

2.1.3 Enfoque de la revisión

Esta revisión abordó las limitaciones en la propagación clonal de portainjertos de aguacate y otras especies leñosas mediante un enfoque que integra aspectos fisiológicos, bioquímicos y agronómicos. Primero, se analizaron las bases fisiológicas del enraizamiento adventicio, como la acumulación de carbohidratos (sacarosa, almidón), la síntesis endógena de auxinas y la expresión de genes rizogénicos. En segundo lugar, se exploran los mecanismos y aplicaciones de las auxinas como reguladores de crecimiento clave del enraizamiento adventicio. Finalmente, se abordan los efectos de compuestos bioestimulantes en el crecimiento de las plantas y la existencia de posibles sinergias entre auxinas y bioestimulantes que pueden contribuir en mejoras al proceso de propagación vegetativa de aguacate.

Como objetivo transversal, se busca reducir la brecha entre la investigación y su aplicación en el ámbito comercial de producción de plantas, al priorizar soluciones que maximicen la eficiencia en el enraizamiento mediante la optimización del crecimiento de las plantas madre donadoras de vareta, así como de las formulaciones y concentraciones de auxinas que favorezcan la calidad del sistema radical. Este enfoque multidimensional contribuirá en el desarrollo de mejores protocolos de multiplicación que permitan posicionar a los portainjertos

clonales como la base de huertos homogéneos y resilientes ante estreses bióticos y abióticos.

2.2 Bases fisiológicas y moleculares de la propagación clonal

El enraizamiento adventicio en plantas leñosas como el aguacate es un proceso multifactorial, influenciado por la edad de la planta madre, reguladores hormonales, perfiles genéticos y condiciones ambientales. Este proceso es crucial para la propagación vegetativa eficiente, especialmente en especies de difícil enraizamiento. Algunos de los mecanismos más importantes en el enraizamiento adventicio de especies leñosas como el aguacate se abordan a continuación.

2.2.1 Edad de la planta madre

El proceso de enraizamiento en plantas leñosas está significativamente influenciado por la edad de las plantas madre, mientras que las plantas juveniles suelen exhibir un mayor éxito de enraizamiento esta capacidad se ve limitada en plantas adultas (Xu, 2024). Este declive se atribuye a cambios epigenéticos, anatómicos y hormonales, como la reducción en la síntesis de auxinas (indol-3-acético: AIA) y el aumento de ácido abscísico (ABA) (Li et al., 2024a).

En plantas juveniles, las auxinas inducen una expresión específica de estos genes en el parénquima vascular, lo que desencadena la formación de primordios de raíces (Sánchez et al., 2007; Qiao et al., 2022). Estudios recientes han identificado que la expresión de genes asociados a la organización del meristemo radical, como *SCARECROW-LIKE1 (SCL1)* y *SHORT-ROOT (SHR)*, varía significativamente entre material juvenil y adulto de especies leñosas recalcitrantes. Las plantas adultas muestran una activación difusa de *SCL1/SHR* sin localización tisular definida, lo que reduce su capacidad de enraizamiento (Stevens et al., 2018).

Este fenómeno se vincula a la regulación dual de los factores de transcripción de la familia *AUXIN RESPONSE FACTORS (ARF)*: mientras *ARF17* (blanco de

miR160) actúa como represor al inhibir la señalización auxínica en tejidos no vasculares (Liu et al., 2019), *ARF6* y *ARF8* (regulados por miR167) promueven la síntesis de proteínas como *PIN1*, clave en el transporte polar de auxinas (Li, 2021). La interacción dinámica entre estos *ARF* y sus microARN reguladores (miR160 y miR167) establece un equilibrio crítico, donde ligeros cambios en sus proporciones alteran drásticamente la rizogénesis (Abarca, 2021).

Mediante técnicas de “rejuvenecimiento” como el microinjerto y el injerto en serie es posible lograr la restauración temporal de rasgos juveniles en árboles adultos y por lo tanto incrementar el enraizamiento; sin embargo, estos cambios pueden ser muy efímeros, ya que los rasgos adultos pueden resurgir con el tiempo si el material injertado no se mantiene continuamente en su estado rejuvenecido (Husen & Pal, 2006; Vidoy-Mercado et al., 2021).

2.2.2 Mecanismos genéticos y moleculares

Una red de reguladores transcripcionales controla la activación o represión de genes en respuesta a señales hormonales, que modulan el desarrollo de nuevos meristemas de raíz (Abarca, 2021). La identificación de microRNAs (miARN) y agentes remodeladores de cromatina es esencial para comprender esta red reguladora del enraizamiento adventicio (Li et al., 2019).

2.2.2.1 Factores de respuesta a auxinas (*ARF*)

Distintos estudios han identificado factores de transcripción que regulan el enraizamiento adventicio. Los factores de respuesta a auxinas (*ARF*) desempeñan un papel central y diverso en el enraizamiento adventicio de plantas leñosas al integrar señales hormonales, epigenéticas y ambientales para coordinar la formación de raíces. Estos factores de transcripción se unen a elementos de respuesta a auxinas (AuxREs) en promotores génicos, que activan o reprimen la expresión de genes rizogénicos como *LBD16* y *WOX11*, esenciales para la iniciación de primordios radicales (Li, 2021).

Los *ARF* además de modular la biosíntesis y transporte de auxinas también participan en respuestas a factores bióticos y abióticos. En especies como *Malus domestica*, la desmetilación de ADN en promotores de *ARF6* bajo estrés hídrico incrementa su expresión en 60 %, y en consecuencia mejora la eficiencia del enraizamiento al modular la biosíntesis de auxinas y la polarización de transportadores *PIN1* (Tahir et al., 2022; Wang et al., 2023). La plasticidad fenotípica de este proceso depende de interacciones reciprocas de retroalimentación entre *ARF*, microARNs (*miR160*, *miR167*) y modificaciones epigenéticas, que ajustan de manera continua la respuesta según el estado fisiológico de la planta (Zhu et al., 2022).

En álamo (*Populus* spp.), la sobreexpresión de *ARF1* incrementó la densidad de raíces adventicias al promover el incremento en los niveles de ácido indol-3-acético (AIA) y la activación significativa de las vías de señalización del AIA, el ácido jasmónico (JA) y el ácido salicílico (SA) (Wang et al., 2020). Además, en *Eucalyptus grandis*, los *ARF* responden a estímulos ambientales de salinidad y sequía y coordinan redes de la interacción hormonal de JA y citocininas, lo que sugiere que también tienen un papel adaptativo clave al estrés abiótico (Yu et al., 2014). Estas interacciones, aunque conservadas evolutivamente, presentan variabilidad específica, por ejemplo, en duraznero (*Prunus persica*), *pPARF4* activa rutas metabólicas exclusivas para el desarrollo de raíces laterales, mientras que en alerce japonés (*Larix kaempferi*), *LKarf7/19* regulan directamente a *BABY BOOM 1* (*LkBBM1*), un gen miembro de la familia *APETALA2/THYLENE RESPONSE FACTOR* (*AP2/ERF*) crítico para la morfogénesis radical (Liu et al., 2023; Tao et al., 2023).

2.2.2.2 Genes *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* (SPL)

La familia de genes *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE* (*SPL*) también desempeñan un papel multifacético en el enraizamiento adventicio de especies leñosas (He et al., 2022). La señalización de estos factores de transcripción es regulada principalmente por *miR156*, que cumple una función clave en la transición de la fase juvenil a la adulta y en el mantenimiento de la

competencia rizogénica durante esta misma fase (Li et al., 2021). En *Malus xiaojinensis*, por ejemplo, la alta expresión de miR156 suprime genes *SPL* como *MxSpl26*, lo que facilita la formación de raíces adventicias inducidas por el estímulo de las auxinas, incluso en ausencia de moduladores clásicos como *PIN* y *ARF* (Xu et al., 2017).

Además, los *SPL* interactúan no solo con auxinas, sino también con otras vías hormonales. En *Eucalyptus grandis*, genes como *EGspl9* y *EGspl23* regulan respuestas al estrés abiótico mediante la modulación JA y etileno, que influyen indirectamente en la capacidad de enraizamiento (An et al., 2023). Estudios en álamo (*Populus trichocarpa*) revelaron que los *SPL* forman parte de redes poligénicas que coordinan el enraizamiento, con una función destacada en la integración de señales externas e internas (Nagle et al., 2022). La diversidad funcional de la familia génica *SPL* trasciende su relación en el enraizamiento adventicio, al modular procesos ontogénicos clave como la floración, el desarrollo foliar (Fan et al., 2023) y la regeneración de brotes adventicios (Li et al., 2022).

2.2.2.3 Genes SCARECROW (SCR)

Los genes *SCARECROW (SCR)*, son reguladores del enraizamiento adventicio de especies leñosas, ya que coordinan la diferenciación celular y el establecimiento de patrones tisulares durante las etapas iniciales del desarrollo radical (Sánchez et al., 2007). Estos genes actúan en respuesta a señales hormonales, principalmente auxinas, que inducen su expresión para activar procesos como la formación del centro meristemático, esencial para la organización celular de los primordios de raíz, además de regular la formación de la endodermis y mantener la estructura radical (Sbabou et al., 2010). En álamo (*Populus* spp.), la interacción entre *pESCR* y *pEShr1* demostró su función interactiva en la formación de raíces adventicias, al facilitar la división celular y la diferenciación de tejidos vasculares (Xuan et al., 2014).

La regulación hormonal de los *SCR* es fundamental, en *Pinus radiata* y *Castanea sativa*, la aplicación exógena de auxinas induce un incremento del 200–300 % en

la expresión de estos genes, incluso antes de que inicie la división celular, lo que sugiere su participación temprana en la determinación del destino celular (Sánchez et al., 2007). Además, estudios de asociación genómica (GWAS) en *Populus trichocarpa* identificaron a los SCR como nodos centrales en redes que integran señalización hormonal (auxina-citocinina) y control del ciclo celular, lo que destaca su papel en la plasticidad fenotípica durante la propagación vegetativa (Nagle et al., 2022).

2.2.2.4 Genes *WUSCHEL*-related homeobox (*WOX*)

Los genes *WUSCHEL*-related homeobox (*WOX*) coordinan la iniciación de los primordios radicales, la regulación del crecimiento y la ramificación de raíces, son factores de transcripción conservados evolutivamente y regulan etapas críticas en la formación de raíces adventicias, especialmente *WOX5*, *WOX11* y *WOX13* (Li et al., 2017). En *Eucalyptus* spp., genes como *EuPwoX1*, *EupWox5* y *EuPWox13* se expresan durante etapas tardías del enraizamiento, inducen la formación de primordios y mejoran el enraizamiento en 30–40 %, además modulan el alargamiento y la ramificación de raíces laterales (Chen et al., 2024).

En álamo (*Populus* spp.), *PtoWox5a* se localiza específicamente en ápices radicales, donde interactúa con proteínas ciclinas tipo D (*CYCD*) para regular la división celular y el mantener el nicho de células madre, lo que resalta su función dual en iniciación y control morfogénico (Li et al., 2017). Paralelamente, *PeWox11a/b* promueven la formación de raíces adventicias y aumentan la densidad radical mediante la activación de genes como *PIN1* y *ARF* (Xu et al., 2015). Además, estos genes integran señales ambientales y hormonales: en *Populus tomentosa*, *PtoWUSA* regula el transporte polar de auxinas, al alterar la expresión de *PIN3* que permite la generación de gradientes locales de AIA necesarios para la organogénesis radical (Li et al., 2020).

2.3 Regulación hormonal

2.3.1 Auxinas

Las auxinas influyen de manera determinante en la expresión génica y la iniciación radical (Pop et al., 2011; Varas et al., 2015). En especies de difícil enraizamiento, la aplicación exógena de auxinas es indispensable para estimular el enraizamiento adventicio (Munir et al., 2021; Adem et al., 2024). Este proceso implica una secuencia coordinada de fases celulares, en primer lugar ocurre la desdiferenciación, donde células parenquimáticas pierden sus características específicas y recuperan su totipotencia mediante la activación de genes como *WUSCHEL* y *SHR* (Díaz-Sala, 2020), posteriormente en la fase de inducción ocurre la formación de iniciales radicales reguladas por *ARF6/8* y *LBD16*, que modulan la biosíntesis local de auxinas (Zhang et al., 2023); en la fase de iniciación ocurren múltiples divisiones periclinales que generan meristemos radicales internos, organizados por la expresión de *PLETHORA* y *SCR* (Ayala et al., 2022). En la fase final del enraizamiento, los meristemos radicales dan lugar a tejidos especializados como epidermis y xilema que completan la arquitectura de la raíz. Este proceso culmina con la emergencia radical, mediada por la acción coordinada de expansinas e hidrolasas de pared celular (Ai et al., 2023).

La distribución y transporte de auxinas durante la formación de raíces adventicias están regulados de manera precisa por mecanismos espaciotemporales (Shu et al., 2018). Proteínas de eflujo de auxinas, como *PIN1* y *PIN3*, dirigen su flujo hacia células blanco y establecen gradientes locales que inducen la iniciación de primordios radicales (Song et al., 2024). Esta dinámica se complementa con la señalización mediada por receptores *TIR1/AFB* y *ABP1r*, que activan cascadas de ubiquitinación para degradar represores *AUX/IAA*, de esta manera se liberan los factores de transcripción ARF (*ARF7*, *ARF19*) que activan genes rizogénicos como *LBD16*, *WOX11* (Zhang et al., 2023).

No obstante, el balance hormonal es crítico, concentraciones excesivas de auxina pueden estimular la biosíntesis de etileno, el cual inhibe el alargamiento

celular (Bai et al., 2020). Este efecto bifásico (promotor-inhibidor) resalta la necesidad de una regulación precisa, donde pulsos controlados de auxina maximizan la formación de raíces, mientras exposiciones prolongadas la reducen (Bai et al., 2020).

2.3.2 Citocininas

Las citocininas, asociadas a la inhibición de la formación de raíces adventicias, antagonizan el efecto de las auxinas al reducir la sensibilidad a estas últimas y promueven el alargamiento celular prematuro, condición que limita la iniciación radical (da Costa et al., 2013; Ricci et al., 2023). Sin embargo, su efecto es concentración-dependiente y el equilibrio preciso auxina/citocinina incrementa las tasas de enraizamiento, esto indica que existen sinergias entre estos reguladores (Tian et al., 2023).

La citocinina oxidasa/deshidrogenasa (CKX) es una enzima reguladora de la degradación metabólica de las citocininas, algunos inhibidores específicos como N,N'-bis(2,3-metilendioxfenil)urea al bloquearla permiten el incremento de los niveles endógenos de citocininas que paradójicamente, mejoran el enraizamiento al potenciar la señalización de auxinas mediante su interacción con la proteína ABP1 (Auxin Binding Protein 1) (Ricci et al., 2023). Este fenómeno sugiere que, en concentraciones moduladas, las citocininas optimizan la interacción hormonal, facilitan la polarización de transportadores *PIN1* y la acumulación local de auxinas en los sitios de iniciación radical (Šimášková et al., 2015).

2.3.3 Giberelinas

Las giberelinas (GA) tienen un doble papel en la formación de raíces adventicias, actúan como promotoras e inhibidoras según la concentración y etapa de enraizamiento (Du et al., 2024). A bajas concentraciones, las GAs mejoran el enraizamiento al promover el alargamiento y diferenciación celular. Sin embargo, los niveles altos de GA pueden inhibir la formación de raíces al antagonizar los efectos de la auxina (Xiong et al., 2024). Se ha demostrado que las GAs inhiben

el enraizamiento adventicio al afectar el transporte polar de las auxinas (Mauriat et al., 2014); además promueven la diferenciación de cambium y xilema, lo que desvía recursos necesarios para la formación de raíces (Pizarro & Díaz-Sala, 2020). Los cambios dinámicos en los niveles de GA durante la formación de raíces adventicias sugieren que las GAs juegan un papel importante en la transición de la etapa de iniciación hacia la de alargamiento (Du et al., 2024).

2.3.4 Etileno

El etileno es una hormona gaseosa que ejerce un papel multifacético en el enraizamiento adventicio, modula procesos que van desde la interacción hormonal hasta la adaptación ambiental. Su acción promotora o inhibidora depende de factores como la concentración, la especie vegetal, la etapa de desarrollo y las condiciones ambientales, lo que resalta su complejidad regulatoria (Rasmussen et al., 2017; Castro-Camba et al., 2024). El etileno, mediante su interacción con las auxinas, promueve la formación de raíces adventicias a bajas concentraciones; sin embargo, a concentraciones elevadas, inhibe el alargamiento de la raíz principal (Bai et al., 2020). Sin embargo, en algunas especies presenta efectos diferenciales dependientes de la madurez del tejido vegetal al suprimir la formación de raíces en brotes maduros mediante la reducción en la expresión de *PIN3* y la alteración del flujo de auxinas, mientras que en tejidos juveniles su efecto es marginal, lo que sugiere una pérdida de homeostasis hormonal con la madurez (Castro-Camba et al., 2024).

2.3.5 Ácido abscísico

El ácido abscísico (ABA) desempeña distintas funciones en el enraizamiento de especies leñosas. En álamo (*Populus* spp.) la sobreexpresión de miR159a aumenta la formación de raíces en un 40 % al reprimir *pemyB33*, un factor de transcripción pro-ABA, que reduce la sensibilidad a esta hormona. Por el contrario, la inhibición de miR159a disminuye el enraizamiento en un 60 %, lo que evidencia un equilibrio crítico entre ABA y esta vía microARN-gen blanco (Zhao et al., 2024). Estudios transcriptómicos han revelado que el ABA tiene un

efecto sinérgico con auxinas y etileno en etapas tempranas del enraizamiento, al modular genes clave como *ARF* y *ERF* (*Ethylene Response Factor*), así como reguladores de estrés como *NCED3* (Guan et al., 2015).

La interacción entre ABA y auxinas varía según la especie. En abedul (*Betula* spp.), concentraciones bajas de ABA promueven el alargamiento radical y el incremento del número de raíces laterales al estabilizar transportadores de auxinas como *PIN3*, sin afectar el crecimiento de brotes (Vaičiukynė et al., 2018). Sin embargo, en álamo, niveles elevados de ABA suprimen el enraizamiento al reducir la disponibilidad de auxinas y bloquear la expresión de *LBD16* (*LATERAL ORGAN BOUNDARY DOMAIN 16*), un gen esencial para la iniciación radical (Pop et al., 2011). Esta dualidad subraya la importancia del contexto específico de cada especie. Por otra parte, los factores ambientales y estacionales ejercen una notable influencia en la regulación del ácido abscísico (ABA) durante el enraizamiento. Blake & Atkinson (1986) demostraron esta relación en un estudio con brotes de álamo procedentes de tocones, donde observaron que las bajas concentraciones de ABA durante la primavera se asociaron con un enraizamiento del 70 %, mientras que los niveles elevados característicos del invierno redujeron este porcentaje a 20 %.

2.4 Etiolación

Factores ambientales como la luz afectan significativamente el enraizamiento adventicio. La etiolación, puede promover la formación de raíces al alterar los equilibrios hormonales y los patrones de expresión génica (Munir et al., 2021). La etiolación es una técnica que consiste en promover el crecimiento de las plantas en oscuridad para inducir el alargamiento celular y reducir la síntesis de clorofila (Armarego-Marriott et al., 2020), esta técnica desempeña un papel crítico en la propagación clonal del aguacate (Gleeson et al., 2016) al mejorar significativamente la formación de raíces adventicias, esenciales para el desarrollo exitoso de los portainjertos clonales. Los mecanismos que promueven el enraizamiento en tejidos etiolados de aguacate incluyen regulación hormonal, modificaciones celulares y ajustes metabólicos, que son respaldados por

estudios recientes en variedades como 'Hass', 'Dusa' y 'VC 208' (Alberti et al., 2018; Duman et al., 2020)

2.5 Mecanismos fisiológicos y moleculares

La etiolación influye en la homeostasis de las auxinas, al modificar el equilibrio entre ácido indol-3-acético (AIA) libre y sus conjugados como el ácido indol-3-acetil-aspartico (IAAsp). Durante las primeras etapas del enraizamiento, se ha observado un aumento de AIA y una disminución progresiva de IAAsp, que facilita la iniciación de raíces adventicias (García-Gómez et al., 1994). Además, la etiolación modula el equilibrio entre auxinas y etileno, hormonas clave en la rizogénesis adventicia. En portainjertos de aguacate, períodos cortos de desetiolación optimizan la síntesis y transporte de auxinas (AIA), mientras regulan la señalización de etileno que favorece la iniciación radical (Duman et al., 2020) y potencian la expresión espacial de miR160, un microARN que suprime genes inhibidores del enraizamiento (*ARF10*) con lo que se establece un gradiente génico que no se presenta en plantas no etioladas (Gleeson et al., 2016). Estos cambios se acompañan de modificaciones estructurales que reducen la lignificación y suberización de los tallos (Biasi, 1996) y permiten aumentar la flexibilidad tisular mediante alteraciones en xiloglucanos y pectinas, para facilitar la división celular durante la formación de las raíces (Duman et al., 2020).

2.6 Ajustes metabólicos y energéticos

La privación de luz durante la etiolación incrementa los niveles de azúcares solubles (glucosa, sacarosa), lo que implica una mayor disponibilidad de energía y sustratos para la síntesis de biomoléculas. En teca (*Tectona grandis*), este aumento se ha correlacionado con tasas de enraizamiento del 70 % (Husen & Pal, 2001). Además, la etiolación modula la actividad de enzimas como peroxidasas y polifenol oxidasas, cruciales en el metabolismo de auxinas y la remodelación de la pared celular (Lu et al., 2017). Estos ajustes aseguran que

los tejidos etiolados mantengan un “estado juvenil”, propicio para la organogénesis radical (Husen, 2011).

2.7 Aplicaciones prácticas en la propagación de aguacate

La etiolación se ha establecido como una técnica fundamental para mejorar la propagación de portainjertos de aguacate (Gleeson et al., 2016). Este método ha demostrado incrementar significativamente la eficiencia del enraizamiento adventicio, como se observó en la multiplicación del portainjerto ‘Dusa’, que alcanzó 82 % de enraizamiento al combinar la aplicación de AIB a 2500 ppm con un sustrato compuesto por perlita y vermiculita en proporción 1:1 (v/v) (Li et al., 2024b). Además, la etiolación afecta el contenido de clorofila y el desarrollo vegetativo de las plantas clonadas, lo que resalta la importancia de optimizar su duración para maximizar sus beneficios (Esgrina & Tan, 2024).

La efectividad de la etiolación depende críticamente de su duración, de tratamientos complementarios y del genotipo. En portainjertos de difícil enraizamiento como ‘VC801’, un período breve de desetiolación (1-2 semanas) optimizó el enraizamiento de estacas al ajustar el balance hormonal (auxina/etileno) y las propiedades celulares, para lograr un 20 % de éxito, superior al observado en estacas con etiolación continua; sin embargo, esta respuesta es inferior a la observada en otros portainjertos como ‘VC804’ (32 %) y ‘VC66’ (58 %) (Duman et al., 2020). Por otro lado, en variedades como ‘Colín V-33’ y ‘Fuerte’, la combinación de etiolación, anillado y aplicación de AIB (10,000 ppm) + ANA (300 ppm) alcanzó valores de enraizamiento superiores al 90 %, frente a solo 22–27% con etiolación sola (Barrientos-Priego et al., 1986).

Aunque la variabilidad genética persiste como un desafío en la propagación de portainjertos de aguacate y algunos genotipos responden eficientemente (‘Dusa’ y ‘Duke 7’), otros presentan un comportamiento recalcitrante con 0 % de enraizamiento incluso bajo etiolación, lo que resalta la necesidad del desarrollo de protocolos especializados para cada genotipo (Gleeson et al., 2016).

2.8 Auxinas: mecanismos y aplicaciones

2.8.1 Transporte

El transporte de auxinas es un proceso fundamental para el desarrollo vegetal, regula funciones como el crecimiento, los tropismos y la diferenciación celular (Robert & Friml, 2009). Las auxinas endógenas, como el ácido indol-3-acético (AIA) y el ácido indol-3-butírico (AIB), dependen de un sistema especializado de proteínas transportadoras para su distribución polar (Lui et al., 2012). Entre estas proteínas destacan las PIN-FORMED (PIN), que se localizan asimétricamente en la membrana plasmática y dirigen el flujo de auxinas mediante fosforilación (Janacek et al., 2024; Zhou & Luo, 2018). Los transportadores AUX1/LAX facilitan la entrada de auxinas en células específicas, crucial para la carga en tejidos vasculares y su descarga en raíces (Marchant et al., 2002), mientras que los transportadores ABCB regulan la salida y trabajan en conjunto con las proteínas PIN para mantener gradientes tisulares (Hammes et al., 2021). El AIA exhibe un transporte polar dominante en hipocótilos y raíces, mientras que el AIB muestra una menor movilidad que es dependiente de su conversión enzimática a AIA (Rashotte et al., 2003).

Las auxinas sintéticas, como el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y el ácido naftalenacético (ANA), siguen vías de transporte similares, pero con diferencias clave. Aunque utilizan los mismos transportadores (PIN, AUX1/LAX), la interacción con estas proteínas es menos específica, lo que afecta su patrón de transporte y efectos fisiológicos (Lin & Sauter, 2019).

Mientras las auxinas endógenas regulan procesos naturales como la arquitectura radical, las sintéticas se emplean para inducir respuestas controladas, como la formación de raíces adventicias. Este proceso está mediado por mecanismos específicos para cada tipo de auxina. En estacas de té (*Camellia sinensis*), el ANA reduce las concentraciones endógenas de AIA y citocininas, mientras activa genes rizogénicos clave (ARF, GH3). Sin embargo, en dosis excesivas el ANA pueden inhibir el crecimiento radical, lo que resalta la importancia de una

concentración precisa (Wang et al., 2022). Por el contrario, el AIB en la misma especie eleva los niveles de AIA y citocininas, lo que sugiere vías regulatorias distintas durante la formación de raíces (Zhou et al., 2025).

El pH desempeña un papel crítico en el transporte de auxinas (Lomax, 1985). En el apoplasto ácido (pH ~5.5), las auxinas como AIA, AIB y ANA se encuentran en su forma no ionizada (lipofílica), lo que permite su difusión pasiva a través de membranas (Clark & Goldsmith, 1987). Al ingresar al citoplasma neutro (pH ~7.2), se ionizan y para moverse requieren de simportadores de protones (Gutknecht & Walter, 1980). Las formas ionizadas son exportadas por proteínas como PIN y ABCB, dependientes de gradientes electroquímicos (Clark & Goldsmith, 1987). Las diferencias en las velocidades de transporte de las auxinas (AIA: 7.5 mm/h; ANA: 6.7 mm/h; AIB: 3.2 mm/h) reflejan su estabilidad y afinidad por los transportadores (Epstein & Ludwig-Müller, 1993).

En plantas leñosas, el ANA es una herramienta valiosa para su propagación. Además de modular los niveles hormonales, también activa redes génicas implicadas en la señalización del ácido jasmónico y el desarrollo radical (Du et al., 2024). Estudios transcriptómicos en té identificaron genes Hub como CSLD2 y SAUR21, esenciales para la formación de raíces adventicias bajo tratamiento con ANA. No obstante, su eficacia depende del equilibrio entre concentración, pH del medio y especificidad tisular (Wang et al., 2024).

2.8.2 Mecanismos moleculares y regulación hormonal

El enraizamiento adventicio en especies leñosas es un proceso coordinado por mecanismos moleculares, regulación hormonal y actividad enzimática, donde las auxinas (IAA, IBA y NAA) actúan como eje central (Pacurar et al., 2014). A nivel molecular, el AIA activa directamente genes como PIN1 (transportador de eflujo de auxinas) y ARF8 (factor de respuesta a auxinas), esenciales para establecer gradientes de auxinas y desencadenar la división celular que conduce a la formación de los primordios de raíz (Zhu et al., 2023). El AIB, precursor del AIA, se convierte en auxina activa mediante β -oxidación en peroxisomas, este proceso

libera AIA de forma sostenida que induce la expresión de genes PIN, cruciales para el transporte auxínico, así como genes WOX11 y WOX5, vinculados a la totipotencia celular (Song et al., 2024; Fattorini et al., 2017). Por su parte, el ANA, al ser un análogo sintético, activa receptores como TIR1/AFB sin necesidad de conversión, confiriéndole una capacidad de regulación masiva de genes implicados en biosíntesis de metabolitos secundarios y transducción hormonal (Munir et al., 2021).

La regulación hormonal se basa en el equilibrio dinámico entre auxinas y otros reguladores de crecimiento. El AIB incrementa los niveles endógenos de AIA y ácido giberélico (AG_3) mientras reduce el ácido abscísico (ABA), para favorecer una relación AIA/ABA óptima para el enraizamiento (Shao et al., 2017; Khan et al., 2024). En contraste, el ANA suprime la síntesis de AIA endógeno y citocininas para alterar el balance hormonal hacia un estado pro-enraizante (Wang et al., 2022). Estas interacciones modulan la expresión de genes Aux/IAA, que actúan como represores de la señalización auxínica hasta su degradación, y permiten la activación de genes ARF (Feng et al., 2012).

La actividad enzimática complementa estos procesos. El AIB induce enzimas antioxidantes como peroxidasa (POD) y polifenol oxidasa (PPO), que reducen especies reactivas de oxígeno (ROS) durante la lignificación celular, como se ha señalado en *Magnolia biondii* (Khan et al., 2024). Por su parte el ANA, en concentraciones bajas, estimula AIA-oxidasa (IAAOx) y POD, pero en exceso las inhibe y afecta la calidad de las raíces (Faghihi et al., 2013). Además, todas las auxinas modulan enzimas proteasas que degradan inhibidores hormonales (Aux/IAA), y optimizan el ambiente celular para la formación de los primordios de raíz (Li et al., 2016; Yang et al., 2016; Vain et al., 2019).

2.8.3 Respuestas ambientales, estabilidad y aplicaciones

La eficacia de las auxinas en el enraizamiento adventicio de especies leñosas está fuertemente relacionada con su estabilidad química y su sensibilidad a factores ambientales. En particular, el AIA presenta una alta susceptibilidad a la

fotodegradación por exposición a la luz y a la inestabilidad en medios con pH alcalino, condiciones que favorecen su degradación enzimática por acción de AIA-oxidasas, lo que limita eficacia cuando se aplica de forma exógena en protocolos de propagación (Epstein & Ludwig-Müller, 1993). Sin embargo, en algunas especies como *Cedrela fissilis*, los niveles endógenos de AIA son suficientes para activar mecanismos moleculares que logran un enraizamiento exitoso (Ribeiro et al., 2021). El AIB, es una auxina más estable y resistente a la degradación, se adapta mejor a entornos variables, su conversión gradual a AIA en peroxisomas permite una liberación sostenida, ideal para esquejes en condiciones de etiolación o sustratos ácidos, como en *Betula pendula* (Wynne & McDonald, 2002). Esta estabilidad ha favorecido el uso estándar de esta auxina en la propagación de frutales (Song et al., 2024). Por otro lado, el ANA, es extremadamente estable y no depende de conversión enzimática, es eficaz en ambientes adversos (salinidad, sequía) y especies recalcitrantes como *Robinia pseudoacacia* y *Eucalyptus grandis*, donde induce una expresión génica masiva y activa vías de estrés (Munir et al., 2021; Abu-Abied et al., 2012). No obstante, su potencia exige una dosificación precisa, ya que concentraciones elevadas inhiben enzimas antioxidantes (POD, PPO) y causan fitotoxicidad, como se ha documentado en manzano (Faghihi et al., 2013).

2.8.4 Las auxinas en la propagación clonal de aguacate

En la propagación clonal de aguacate se han empleado auxinas en concentraciones variables. El ácido indol-3-butírico (AIB), destaca por ser la más utilizada, y se ha aplicado desde 500 hasta 10,000 ppm, en una variedad de técnicas de aplicación que van desde formulaciones líquidas (Rogel-Castellanos et al., 2000; Mindêllo-Neto et al., 2006; Li et al., 2024b), pastas de lanolina (Young, 1961), astillas de madera impregnadas (Barrientos et al., 1986) y polvos o geles comerciales (Cutting & Van Vuuren., 1988; Prabhu et al., 2017). El extenso uso del AIB se caracteriza por la aplicación en su forma ácida y su sal potásica (KAIB) (Gustafson & Kadman, 1969; Duman et al., 2020).

Adicionalmente, se ha analizado el efecto de otras auxinas como el ácido naftalenacético (ANA) y el indol-3-acético (AIA) (Gustafson & Kadman, 1969; Salazar-García et al., 2004). Sin embargo, la eficacia de estos compuestos ha mostrado una notable variabilidad, condicionada por factores como la concentración utilizada, las técnicas de propagación aplicadas y las características genéticas específicas de cada genotipo.

La eficacia del AIB varía drásticamente según la concentración empleada y el genotipo objetivo. Por ejemplo, en portainjertos de raza mexicana como 'Gvar-Am 13', aplicaciones de 500 ppm de AIB en su forma de sal potásica (KIBA) alcanzaron 70 % de enraizamiento, mientras que en genotipos antillanos como 'Fuchs 20', la misma concentración solo logró 5 % de éxito (Gustafson & Kadman, 1969). Este contraste destaca la necesidad de ajustar las concentraciones según las características fisiológicas y genéticas de cada genotipo ya que la relación entre la concentración de AIB y el éxito de enraizamiento no sigue un patrón lineal, sino que depende críticamente del genotipo. Por ejemplo, en 'Duke 7', con una concentración de 2,500 ppm de AIB se alcanzó 55 % de enraizamiento (Li et al., 2024b), mientras que en 'Fuerte', una concentración cinco veces menor (500 ppm) permitió lograr 47.5 % de efectividad (Mindêllo-Neto et al., 2006). Esto indicó que, aunque la concentración aplicada a 'Duke 7' fue significativamente mayor, la mejora en el porcentaje de éxito fue marginal (+7.5 %), por lo tanto, factores adicionales a la concentración de auxinas como el raza del genotipo, y condición fisiológica de la planta madre tendrían un papel determinante en el enraizamiento.

Por su parte, el uso de ANA ha mostrado resultados variables, generalmente inferiores al AIB, tanto en aplicaciones únicas como combinadas. En selecciones de portainjertos de raza mexicana una mezcla de AIB (2,000 ppm) + ANA (1,000 ppm) logró un enraizamiento promedio de 66 %, con respuestas que variaron entre 10 y 100 % según el genotipo (Salazar-García et al., 2004). No obstante, en otras investigaciones el ANA a 500 ppm aplicado a 'Gvar-Am 13' (raza mexicana), mostró 35 % de éxito frente al 70 % alcanzado con KIBA (Gustafson

& Kadman, 1969). Este contraste se acentúa en genotipos antillanos como 'Fuchs 20', donde el ANA mostró una efectividad aún menor (15–40 %) bajo condiciones similares (Gustafson & Kadman, 1969). Estos resultados sugieren que el ANA puede ser complementario al AIB en ciertos contextos, pero su uso en solitario se ha explorado poco, posiblemente debido a su limitado desempeño en genotipos de difícil enraizamiento como 'Hass' (Khawas & Upadhyay, 2022).

En lo referente al ácido indol-3-acético (AIA) ha demostrado ser la auxina menos eficaz para la propagación del aguacate. En 'Hass', aplicaciones de 2,000 ppm de AIA en pasta de lanolina no indujeron enraizamiento alguno (Young, 1961). Mientras que resultados limitados se observaron en 'Fuerte', donde el acodo aéreo con AIA logró un 30 % de éxito, aunque este resultado fue inconsistente en réplicas experimentales (Young, 1961). Esta variabilidad se acentúa al comparar razas. En 'Gvar-Am 13' (raza mexicana), el AIA mostró 30 % de enraizamiento promedio en concentraciones de 10–500 ppm, mientras que en 'Fuchs 20' (raza antillana) su efectividad fue mínima (10 %). La ineficacia del AIA se atribuye a su rápida degradación por enzimas como la AIA-oxidasa, cuya actividad se ve exacerbada por altos niveles de manganeso (Mn) en los tejidos foliares, particularmente cuando su concentración supera 60 ppm (Reuveni & Raviv, 1981). Estos resultados posicionan al AIA como una opción secundaria, que podría ser útil solo en combinaciones específicas o genotipos de alta facilidad de enraizamiento.

La alta dificultad para propagar aguacate impulsó, desde la década de 1970, una transición desde la dependencia exclusiva de auxinas hacia la integración de técnicas complementarias para mejorar el enraizamiento. Entre estas, la etiolación se ha posicionado como un factor determinante para incrementar la eficiencia de las auxinas (Frolich & Platt, 1972). Por ejemplo, en 'Dusa', brotes etiolados tratados con 2,500 ppm de AIB alcanzaron 82 % de enraizamiento, frente a menos del 10 % en tejidos no etiolados (Li et al., 2024b). Un contraste aún más marcado se observó en 'Fuerte' y 'Colín V-33', mientras la aplicación individual de anillado o AIB + ANA (10,000 ppm + 300 ppm) no generó

enraizamiento alguno (0 %), la combinación de estos factores, junto con la etiolación, logró efectividad superior al 90 % (Barrientos et al., 1986). Este salto drástico destaca que la eficacia en el enraizamiento de aguacate no radica en componentes aislados, sino en su interacción sinérgica, donde la etiolación potenciaría la absorción de auxinas, el anillado acumula carbohidratos, y las auxinas estimulan la diferenciación celular (Reuveni & Raviv, 1981). Además, también pone en evidencia que la respuesta final depende intrínsecamente del genotipo (Gustafson & Kadman, 1969; Salazar-García et al., 2004).

2.9 Bioestimulantes como potenciadores de la propagación

2.9.1 Tipos y mecanismos

Los bioestimulantes son un grupo diverso de sustancias y microorganismos que modifican los procesos fisiológicos en las plantas para mejorar el crecimiento, desarrollo y respuestas al estrés de las plantas sin proporcionar directamente nutrientes como los fertilizantes tradicionales (Dubey & Sharma, 2023).

2.9.1.1 Inoculantes microbianos

Los inoculantes microbianos, compuestos por bacterias y hongos beneficiosos, desempeñan un papel clave en la mejora de la absorción de nutrientes y el crecimiento vegetal mediante el fomento de comunidades microbianas en la rizosfera (Nehul et al., 2024). Entre estos, *Trichoderma harzianum* destaca por sus múltiples efectos positivos en las plantas (Gupta, 2020). Este hongo no solo incrementa la ramificación y el área superficial de las raíces para mejorar la absorción de agua y nutrientes, sino que también solubiliza minerales del suelo y libera reguladores de crecimiento, como compuestos similares al ácido indol-3-acético (AIA) y compuestos orgánicos volátiles que estimulan el desarrollo radical (Gupta, 2020; Shahnaz et al., 2022; Contreras-Cornejo et al., 2024). Estas características lo convierten en un recurso valioso, especialmente en condiciones de deficiencia nutrimental (Contreras-Cornejo et al., 2024).

Además de sus beneficios en la nutrición vegetal, *Trichoderma harzianum* es ampliamente reconocido por su capacidad para activar mecanismos de defensa como la resistencia sistémica adquirida (RSA), mediante la modulación de vías hormonales clave como el ácido salicílico, el ácido jasmónico y el etileno (Khan et al., 2023). Además, estimula la producción de proteínas relacionadas con la patogénesis (PRP) y enzimas como la quitinasa, cuya acción permite degradar la quitina de las paredes celulares de hongos fitopatógenos, mecanismo mediante el cual se inhibe su desarrollo (Xiao et al., 2023). Estas quitinasas, junto con otros metabolitos antifúngicos como peptaiboles y gliotoxina, confieren a *Trichoderma* un efecto biocontrolador frente a patógenos de los géneros *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Rhizoctonia* y *Pythium* (Zeilinger et al., 2016; Almaghasla et al., 2023).

En el cultivo de aguacate, diversos estudios han demostrado que *Trichoderma* mejora significativamente la sanidad y el vigor vegetal. En condiciones controladas y de campo, ha mostrado eficacia en la supresión de *Phytophthora cinnamomi*, agente causal de la tristeza del aguacate, mediante competencia por espacio y nutrientes, micoparasitismo e inducción de respuestas de defensa de la planta (Gastañadui et al., 2021; López-López et al., 2022; Ayyandurai et al., 2024). Además, ha mostrado potencial para mejorar el crecimiento radical, la tolerancia al estrés abiótico y el rendimiento del cultivo (Natsiopoulos et al., 2024; Ayyandurai et al., 2024).

En condiciones de estrés abiótico, como sequía o salinidad, *T. harzianum* ha demostrado ser eficaz al regular vías metabólicas asociadas al aumento de la síntesis de compuestos antioxidantes (Mona et al., 2017; Singh et al., 2024). Estudios recientes confirman su papel en la mejora de la tolerancia a la sequía, que permitió mayores rendimientos con menor demanda hídrica (Csótó et al., 2024). Sin embargo, pese a sus ventajas documentadas, los mecanismos moleculares exactos aún no se comprenden en su totalidad. Asimismo, su eficacia varía según las condiciones ambientales y las especies vegetales, lo que

sugiere la necesidad de desarrollar aplicaciones específicas para optimizar sus beneficios (Shahnaz et al., 2022).

Otro tipo de hongos bioestimulantes con importantes efectos en el crecimiento vegetal son las micorrizas, en particular los hongos micorrícicos arbusculares se destacan por establecer asociaciones simbióticas con las raíces, estos hongos expanden la superficie de absorción radical, lo que se traduce en una mayor captación de nutrientes esenciales como fósforo, nitrógeno y potasio (Igiehon & Babalola, 2017; Akpodé et al., 2022). En cultivos básicos como maíz, se ha documentado que la aplicación de consorcios micorrícicos incrementó en 45.87 % en rendimiento en comparación de las plantas no inoculadas (Akpode et al., 2022). Además, los hongos micorrícicos arbusculares incrementan la tolerancia de las plantas a condiciones de estrés abiótico, como sequía, salinidad y metales pesados e incluso actúan como agentes bioprotectores frente a patógenos del suelo (Sun & Shahrajabian, 2023).

2.9.1.2 Ácidos húmicos y fúlvicos

Los ácidos húmicos y fúlvicos, derivados de la descomposición de la materia orgánica, desempeñan un papel fundamental en la mejora de la estructura del suelo, la disponibilidad de nutrientes y el desarrollo radical, además de contribuir en la tolerancia de las plantas al estrés (Akdağ et al., 2024). Estas sustancias al optimizar la fertilidad del suelo facilitan el crecimiento de las raíces (Atero-Calvo et al., 2024; Martins et al., 2024). Estudios recientes demuestran que su aplicación aumenta significativamente la concentración de nutrientes esenciales, como potasio y fósforo, que se traduce en mejor sanidad e incrementos en la productividad de los cultivos (Martins et al., 2024; Pillajo et al., 2024).

Además de sus efectos sobre el suelo, los ácidos húmicos y fúlvicos modulan vías hormonales clave en las plantas, particularmente aquellas relacionadas con auxinas y citocininas, las cuales regulan procesos críticos de crecimiento y desarrollo (Rathor et al., 2024). Esta modulación promueve un mayor crecimiento de raíces y brotes, incluso en condiciones adversas (Atero-Calvo et al., 2024).

Mediante la activación de sistemas antioxidantes, estos compuestos también mejoran la tolerancia de las plantas a estrés abiótico provocado por factores como sequía, salinidad y exposición a metales pesados (Veobides-Amador et al., 2019; Hernández-Campos et al., 2023; Atero-Calvo et al., 2024). A nivel metabólico, inducen cambios significativos, como el aumento en la síntesis de aminoácidos y la optimización de las vías de producción de energía, los cuales sustentan tanto el crecimiento vegetal como la respuesta al estrés (Othibeng et al., 2021). Asimismo, influyen en procesos fisiológicos clave, que incluyen la actividad enzimática, el metabolismo proteico, la fotosíntesis y la respiración, por lo tanto, pueden contribuir al vigor y rendimiento general de los cultivos (El-Tahlawy & Ali, 2022).

2.9.1.3 Extractos de algas marinas

Los extractos de algas marinas se derivan de diversas especies de macroalgas como *Ascophyllum*, *Fucus* y *Laminaria* (EL Boukhari et al., 2020). Estos pueden ejercer una influencia sobresaliente en el metabolismo vegetal, al modificar ciertas vías metabólicas (Ali et al., 2021). Investigaciones recientes revelan que promueven la acumulación de metabolitos clave en el ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA) y en el metabolismo del nitrógeno, procesos esenciales para la producción de energía y el crecimiento vegetal (Tran et al., 2023).

En la acción de estos extractos en el crecimiento vegetal destacan mejoras en la disponibilidad y absorción de nutrientes mediante el estímulo del desarrollo radical. Este efecto se debe en parte a la presencia de hormonas como auxinas y citocininas, que favorecen el alargamiento y ramificación de las raíces (Fleurence, 2022). Además, se ha documentado que estos extractos enriquecen la microbiota de la rizosfera, por lo que mejoran significativamente la fertilidad del suelo. Esta doble acción sobre la planta y el suelo destaca su valor como bioestimulantes integrales (Tejasree et al., 2024).

Los extractos de algas marinas contienen compuestos bioactivos de alto valor fisiológico, destacan antioxidantes y osmoprotectores que cumplen una función

destacada en la mitigación del estrés oxidativo y el mantenimiento de la homeostasis celular bajo condiciones de estrés (Tejasree et al., 2024). Entre estos, los polisacáridos han demostrado capacidad para inducir respuestas defensivas que incrementan la tolerancia vegetal a factores de estrés biótico o abiótico (Ali et al., 2021). Adicionalmente, estos extractos exhiben propiedades como inductores de resistencia sistémica adquirida (SAR), con la capacidad de activar mecanismos endógenos de defensa de las plantas frente a patógenos, mediante este estímulo es posible reducir la desentendencia de pesticidas químicos en la producción agrícola (Tejasree et al., 2024).

Los efectos promotores del crecimiento de estos extractos son evidentes en todas las fases del desarrollo vegetal, desde la germinación hasta la postcosecha. Su riqueza en nutrientes esenciales y reguladores del crecimiento explica su impacto positivo en parámetros agronómicos clave como el porcentaje de germinación, el desarrollo radical, rendimiento y calidad de frutos (Shayen et al., 2023; Gautam et al., 2024). Estudios a nivel molecular han demostrado que los extractos de algas marinas modifican significativamente los patrones de expresión génica y los perfiles metabólicos de las plantas, lo que explica su capacidad para mejorar simultáneamente la productividad y la resistencia al estrés (Sujeeth et al., 2022).

A pesar de estos avances, persisten importantes interrogantes sobre los mecanismos moleculares precisos que regulan los efectos bioestimulantes de estos extractos. La variabilidad observada en diferentes estudios podría atribuirse a factores como la diversidad en los métodos de extracción, las especies de algas utilizadas y las variedades vegetales tratadas (EL Boukharriet al., 2020; Vaghela et al., 2023).

2.9.1.4 Hidrolizados de proteínas y aminoácidos

Los hidrolizados de proteínas son mezclas de aminoácidos libres, oligopéptidos y polipéptidos, resultantes de la hidrólisis parcial de proteínas de fuentes animales o vegetales (Malécange et al., 2023). Estos compuestos optimizan la

absorción y uso eficiente de nutrientes mediante la estimulación del metabolismo del carbono y nitrógeno (Colla et al., 2017). Su aplicación incrementa la actividad fotosintética a través de la regulación de vías metabólicas y procesos redox, que se traducen en mayor producción energética y crecimiento vegetal (Sun et al., 2024). Estudios recientes demuestran que aminoácidos como glutamina y asparagina promueven la expansión foliar incluso en presencia de nitrato, indicativo de la existencia de efectos sinérgicos con fertilizantes convencionales (Lardos et al., 2024).

Estos compuestos mejoran la resistencia a estreses abióticos (salinidad, sequía, metales pesados) mediante la activación de mecanismos protectores como sistemas antioxidantes y ajuste osmótico (Malécange et al., 2023). Aminoácidos como prolina y metionina han demostrado una eficacia destacada para mitigar efectos de la salinidad (Abdelkader et al., 2023). Además, presentan actividad similar a hormonas como auxinas y giberelinas, al modular vías biosintéticas cruciales que promueven el crecimiento de raíces y brotes con lo cual mejoran la productividad de los cultivos. Asimismo, se ha observado un enriquecimiento de en rutas relacionadas con la respuesta celular al estrés oxidativo y a especies reactivas de oxígeno (Colla et al., 2017; Barnabas et al., 2020).

Los hidrolizados de proteínas inducen una reprogramación metabólica que afecta a metabolitos secundarios, lípidos y fitohormonas, que mejoran la resiliencia vegetal (Zhang et al., 2023). Paralelamente, modifican favorablemente el microbioma de la rizosfera, ya que actúan como sustrato para microbios beneficiosos que crean relaciones simbióticas mediante las cuales las plantas mejoran la absorción de nutrientes y agua (Colla et al., 2017; Costa et al., 2024). Sin embargo, su eficacia varía en función de factores como fuente proteica, método de producción y especie vegetal, por lo que las estrategias para su aplicación deben ser específicas (Costa et al., 2024). Aunque sus beneficios están ampliamente documentados, persisten interrogantes sobre sus mecanismos moleculares precisos (Malécange et al., 2023; Pasković et al., 2024).

2.9.2 Efectos de los bioestimulantes en plantas madre de especies leñosas

El manejo adecuado de plantas madre es fundamental para garantizar el éxito en la propagación vegetativa de especies leñosas. Estudios demuestran que la fertilización tiene efectos diferenciados que mejoran significativamente la acumulación de biomasa y la capacidad de enraizamiento (Kaur et al., 2024), además el manejo de las plantas madre puede optimizar parámetros radicales como longitud, área y volumen, especialmente durante periodos específicos del crecimiento de las plantas (Martínez-Alonso et al., 2012)

Los bioestimulantes han emergido como herramientas valiosas para mejorar la propagación vegetativa. Estos compuestos han demostrado ser particularmente efectivos para potenciar el enraizamiento adventicio, una limitante crítica frecuente en especies leñosas. El ácido indol-3-butírico (IBA) en sinergia con extractos de algas marinas han mostrado resultados promisorios en portainjertos de vid (Brighenti et al., 2023) y en especies como *Abies gracilis*, donde redujeron el tiempo de enraizamiento (Trofimuk et al., 2019) a partir de la modulación de hormonas endógenas clave para el desarrollo radical (Kaur et al., 2024).

Además de promover el enraizamiento, los bioestimulantes juegan un papel notable en la mitigación del estrés abiótico. En condiciones adversas como sequía o temperaturas extremas (>40 °C), estos compuestos mejoran parámetros fisiológicos como la conductancia estomática y el contenido relativo de agua en las hojas, tal como se ha documentado en olivo (Graziani et al., 2022). Sin embargo, su efecto antioxidante puede extenderse a la etapa de enraizamiento. Sustancias como los ácidos húmicos han demostrado capacidad para promover el enraizamiento mediante cambios enzimáticos antioxidantes y los niveles hormonales endógenos (Elmongy et al., 2018). A pesar de ello, es importante considerar que la efectividad de estos compuestos muestra variabilidad en relación con múltiples factores, que incluyen composición, especie vegetal objetivo y condiciones ambientales y no siempre logran efectos destacados en la propagación vegetativa de especies leñosas (Popenoe et al., 2017).

2.10 Limitaciones

La propagación clonal de portainjertos de aguacate enfrenta desafíos significativos que condicionan su adopción a gran escala. En primer lugar, la falta de protocolos estandarizados adaptados a portainjertos comerciales genera inconsistencias en la eficiencia del enraizamiento y dificulta la reproducibilidad para multiplicarlos de forma masiva. Este problema se acentúa debido a la variabilidad genética intrínseca de ciertos genotipos, como los pertenecientes a las razas antillana y guatemalteca, que muestran respuestas heterogéneas a la etiolación y aplicación de auxinas. Además, métodos tradicionales, como el enraizamiento de estacas, presentan baja eficiencia (menos del 30 % en promedio), lo que limita su uso a nivel comercial.

Por otro lado, los altos costos de producción en los métodos comerciales asociados a infraestructuras especializadas (cámaras de etiolación, sistemas de control climático) y manejo preciso de reguladores de crecimiento representan una barrera económica, especialmente para viveros pequeños con recursos técnicos limitados. Técnicas innovadoras como 'Allesbeste', aunque eficaces, requieren inversiones sustanciales en tecnología y capacitación, lo que restringe su implementación en regiones con menor capacidad financiera. A esto se suma la dependencia de condiciones ambientales controladas (humedad relativa del 70–80 %, temperaturas entre 16–32 °C), que incrementan los costos operativos y reducen la flexibilidad en entornos variables.

Finalmente, la recalcitrancia al enraizamiento de tejidos maduros y la pérdida progresiva de rasgos juveniles en plantas madre adultas condicionan la disponibilidad de material vegetal óptimo para la propagación. Aunque técnicas que inducen el rejuvenecimiento temporal como el microinjerto y la re-injertación sucesiva podrían mitigar parcialmente este problema, su efecto efímero y la necesidad de manejo continuo dificultan su integración en sistemas productivos a gran escala.

2.11 Conclusiones

En el contexto de la producción actual de aguacate, la propagación clonal de portainjertos se presenta como una estrategia clave para garantizar huertos homogéneos, productivos y tolerantes a estreses bióticos y abióticos. Los avances en técnicas como 'Brokaw' y 'Allesbeste' han revolucionado el sector al mejorar la eficiencia de enraizamiento (hasta 82 % en genotipos como 'Dusa'), reducir tiempos de producción y facilitar la exportación de material vegetal certificado. Sin embargo, su éxito depende críticamente de la sinergia entre factores como la etiolación, la aplicación de auxinas (AIB predominantemente) y el manejo agronómico de plantas madre.

A nivel fisiológico y molecular, se ha demostrado que el enraizamiento adventicio está regulado por una red compleja de hormonas (auxinas, citocininas, etileno), genes rizogénicos (*ARF*, *WOX*, *SCR*) y microARNs (miR160, miR167), cuya expresión varía según la edad del tejido y las condiciones ambientales. La etiolación, optimiza la homeostasis hormonal y metabólica, incrementa la disponibilidad de carbohidratos y reduce la lignificación, factores que en conjunto favorecen la organogénesis radical.

No obstante, subsisten diferencias entre la investigación y su aplicación industrial. Para nivelar estas diferencias, es prioritario desarrollar protocolos estandarizados de alta efectividad que integren formulaciones auxínicas adaptadas a cada genotipo y el manejo agronómico de las plantas madre donadoras de vareta a partir de alternativas novedosas como la aplicación de compuestos bioestimulantes (como *Trichoderma harzianum* o extractos de algas marinas) que potencien la rizogénesis y la calidad del enraizamiento.

Los portainjertos clonales representan el futuro de la producción moderna de aguacate, su adopción masiva demanda de investigación para el desarrollo de protocolos eficientes y asequibles adaptados a portainjertos específicos, que junto con la transferencia tecnológica a viveros productores permitan asegurar la sostenibilidad y competitividad de este cultivo.

2.12 Literatura citada

- Abarca, D. (2021). Identifying molecular checkpoints for adventitious root induction: are we ready to fill the gaps? *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 621032. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.621032>
- Abdelkader, M., Voronina, L., Baratova, L., Shelepova, O., Zargar, M., Puchkov, M., Loktionova, E., Amantayev, B., Kipshakbaeva, A., & Arinov, B. (2023). Biostimulants-based amino acids augment physio-biochemical responses and promote salinity tolerance of lettuce plants (*Lactuca sativa* L.). *Horticulturae*, 9(7), 807–807. <https://doi.org/10.3390/horticulturae9070807>
- Abu-Abied, M., Szwerdszarf, D., Mordehaev, I., Levy, A., Rogovoy, S. O., Belausov, E., Yaniv, Y., Uliel, S., Katzenellenbogen, M., Riov, J., Ophir, R., & Sadot, E. (2012). Microarray analysis revealed upregulation of nitrate reductase in juvenile cuttings of *Eucalyptus grandis*, which correlated with increased nitric oxide production and adventitious root formation. *Plant Journal*, 71(5), 787–799. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313x.2012.05032.x>
- Adem, M., Sharma, L., Shekhawat, G. S., Šafránek, M., & Jásik, J. (2024). Auxin signaling, transport, and regulation during adventitious root formation. *Current Plant Biology*, 40, Article 100385. <https://doi.org/10.1016/j.cpb.2024.100385>
- Ai, Y., Qian, X., Wang, X., Chen, Y., Zhang, T., Chao, Y., & Zhao, Y. (2023). Uncovering early transcriptional regulation during adventitious root formation in *Medicago sativa*. *BMC Plant Biology*, 23, Article 176. <https://doi.org/10.1186/s12870-023-04168-0>
- Akdağ, N., Sancak, C., & Kahramanoğulları, C. T. (2024). Biostimulants for sustainable agriculture in forage crops. *Soil Studies*, 13(2), 119–130. <https://doi.org/10.21657/soilst.1601789>

- Akpodé, C., Assogba, S. A., Ismaël, M., Aguégué, M. R., Agbodjato, N. A., Adoko, M. Y., Amogou, O., Adjanooun, A., & Baba-Moussa, L. (2023). Use of the biostimulant based on the mycorrhizae consortium of the *Glomeraceae* family in the field to improve the production and nutritional status of maize (*Zea mays* L.) plants in Central Benin. *Advances in Microbiology*, 13(06), 323–345. <https://doi.org/10.4236/aim.2023.136021>
- Alberti, M. F., Brogio, B. do A., Silva, S. R. da, Cantuarias-Avilés, T., & Fassio, C. (2018). Avances en la propagación del aguacate. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(6), Article e-782. <https://doi.org/10.1590/0100-29452018782>
- Ali, O., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2021). Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: implications towards sustainable crop production. *Plants*, 10(3), Article 531. <https://doi.org/10.3390/plants10030531>
- Almaghasla, M. I., El-Ganainy, S. M., & Ismail, A. M. (2023). Biological activity of four *Trichoderma* species confers protection against *Rhizoctonia solani*, the causal agent of cucumber damping-off and root rot diseases. *Sustainability*, 15(9), 7250–7250. <https://doi.org/10.3390/su15097250>
- An, L., Ma, J., Fan, C., Li, H., & Wu, A. (2024). Genome-wide characterization and analysis of the *SPL* gene family in *Eucalyptus grandis*. *International Journal of Genomics*, 2024(1), Article 708223. <https://doi.org/10.1155/2024/2708223>
- Armarego-Marriott, T., Sandoval-Ibañez, O., & Kowalewska, Ł. (2020). Beyond the darkness: recent lessons from etiolation and de-etiolation studies. *Journal of Experimental Botany*, 71(4), 1215–1225. <https://doi.org/10.1093/jxb/erz496>

- Atero-Calvo, S., Navarro-León, E., Rios, J. J., Blasco, B., & Ruiz, J. M. (2024). Humic substances-based products for plants growth and abiotic stress tolerance. In A. Husen (Ed.), *Biostimulants in plant protection and performance*: (pp. 89–106). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15884-1.00025-7>
- Ayala, P. G., Acevedo, R. M., Luna, C. V., Rivarola, M., Acuña, C., Poltri, S. M., González, A. M., & Sansberro, P. A. (2022). Transcriptome dynamics of rooting zone and leaves during *in vitro* adventitious root formation in *Eucalyptus nitens*. *Plants*, 11(23), 3301–3301. <https://doi.org/10.3390/plants11233301>
- Ayyandurai, M., Theradimani, M., Harish, S., Manonmani, K., Madhu, G. S., Yesu Raja, I., Balakumbahan, R., & Kavitha Pushpam, A. (2024). Bioprospecting of microbial agents and their metabolites as potential inhibitors of *Phytophthora cinnamomi*, the causal agent of avocado root rot. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 133, 102362. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2024.102362>
- Bai, T., Dong, Z., Zheng, X., Song, S., Jiao, J., Wang, M., & Song, C. (2020). Auxin and its interaction with ethylene control adventitious root formation and development in apple rootstock. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 574881. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.574881>
- Barnabas, E. L., Franchin, C., Trentin, A. R., Carletti, P., Trevisan, S., Kumar, A. G., Rakwal, R., Quaggiotti, S., Arrigoni, G., & Masi, A. (2020). Quantitative proteomics of maize roots treated with a protein hydrolysate: a comparative study with transcriptomics highlights the molecular mechanisms responsive to biostimulants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(28), 7541–7553. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c01593>
- Barrientos-Priego, A., Borys, M. W., & Barrientos-Pérez, F. (1986). Rooting of avocado cuttings (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte and Colin V-33. *California Avocado Society Yearbook*, 70, 157–164.

- Biasi, L. A. (1996). Emprego do estiolamento na propagação de plantas. *Ciência Rural*, 26(2), 309–314. <https://doi.org/10.1590/s0103-84781996000200025>
- Blake, T. J., & Atkinson, S. M. (1986). The physiological role of abscisic acid in the rooting of poplar and aspen stump sprouts. *Physiologia Plantarum*, 67(4), 638–643. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1986.tb05070.x>
- Brighenti, A. F., de Freitas, F. R., Malohlava, I. T. C., Votre, T. C. G., Voltolini, J. A., da Silva, A. L., Feldberg, N. P., & Würz, D. A. (2023). Biostimulants and indolebutyric acid improve rooting of wood cuttings from different grapevine rootstocks. *Ciência E Técnica Vitivinícola*, 38(1), 1–9. <https://doi.org/10.1051/ctv/ctv202338011>
- Castro-Camba, R., Neves, M., Correia, S., Canhoto, J., Vielba, J., & Sánchez, C. (2024). Ethylene action-inhibition improves adventitious root induction in adult chestnut tissues. *Plants*, 13(5), Article 738. <https://doi.org/10.3390/plants13050738>
- Chen, M., Luo, J., Lin, Y., Huang, A., & Liu, G. (2024). Identification and expression profile analysis of WOX family genes in the formation of *Eucalyptus* adventitious root. *Forests*, 15(3), 442–442. <https://doi.org/10.3390/f15030442>
- Clark, K. A., & Goldsmith, M. H. M. (1987). Effect of surface and membrane potentials on IAA uptake and binding by zucchini membrane vesicles. In D. Klämbt (Ed.), *Plant Hormone Receptors* (pp. 99–112). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-72779-5_10
- Cohen, H., Bar-Noy, Y., Irihimovitch, V., & Rubinovich, L. (2022). Effects of seedling and clonal West Indian rootstocks irrigated with recycled water on ‘Hass’ avocado yield, fruit weight and alternate bearing. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, 51(1), 1–13. <https://doi.org/10.1080/01140671.2022.2098779>

- Colla, G., Hoagland, L., Ruzzi, M., Cardarelli, M., Bonini, P., Canaguier, R., & Rouphael, Y. (2017). Biostimulant action of protein hydrolysates: unraveling their effects on plant physiology and microbiome. *Frontiers in Plant Science*, 8, Article 2202. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02202>
- Contreras-Cornejo, H. A., Schmoll, M., Esquivel-Ayala, B. A., González-Esquivel, C. E., Rocha-Ramírez, V., & Larsen, J. (2024). Mechanisms for plant growth promotion activated by *Trichoderma* in natural and managed terrestrial ecosystem. *Microbiological Research*, 281, Article 127621. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2024.127621>
- Costa, O. Y. A., Chang, J., Li, J., van Lith, W., & Kuramae, E. E. (2024). Unraveling the impact of protein hydrolysates on rhizosphere microbial communities: Source matters. *Applied Soil Ecology*, 196, 105307–105307. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2024.105307>
- Csótó, A., Tóth, G., Riczu, P., Zabiák, A., Tarjányi, V., Fekete, E., Karaffa, L., & Sándor, E. (2024). Foliar spraying with endophytic *Trichoderma* biostimulant increases drought resilience of maize and sunflower. *Agriculture*, 14(12), Article 2360. <https://doi.org/10.3390/agriculture14122360>
- Cutting, J. G. M., & Van Vuuren, S. P. (1988). Rooting leafy non-etiolated avocado cuttings from gibberellin-injected trees. *Scientia Horticulturae*, 37(1-2), 171–176. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(88\)90160-4](https://doi.org/10.1016/0304-4238(88)90160-4)
- da Costa, C. T., de Almeida, M. R., Ruedell, C. M., Schwambach, J., Maraschin, F. S., & Fett-Neto, A. G. (2013). When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 133. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00133>
- De Villers, A. I., & Ernst, A. (2015). Avocado rootstock research: principles and practices. In *Proceedings of the VIII world avocado congress* (pp. 40–45). ProHass.

- De Villiers, A., & Ernst, A. (2007). Practical value of the Allesbeste micro cloning technique. In *Proceedings VI world avocado congress*, (pp. 12–16). Pontificia Universidad Católica de Valparaíso y Comité de Paltas de Chile.
- Díaz-Sala, C. (2020). A perspective on adventitious root formation in tree species. *Plants*, 9(12), Article 1789. <https://doi.org/10.3390/plants9121789>
- Du, Q., Song, K., Wang, L., Du, L., Du, H., Li, B., Li, H., Yang, L., Wang, Y., & Liu, P. (2024). Integrated transcriptomics and metabolomics analysis promotes the understanding of adventitious root formation in *Eucommia ulmoides* Oliver. *Plants*, 13(1), 136–136. <https://doi.org/10.3390/plants13010136>
- Dubey, S. C., & Sharma, K. (2023). Biostimulant: an innovative approach for sustainable crop production. *Current Science*, 125(4), Article 377. <https://doi.org/10.18520/cs/v125/i4/377-382>
- Duman, Z., Hadas-Brandwein, G., Eliyahu, A., Belausov, E., Abu-Abied, M., Yeselson, Y., Faigenboim, A., Lichter, A., Irihimovitch, V., & Sadot, E. (2020). Short de-etiolation increases the rooting of VC801 avocado rootstock. *Plants*, 9(11), Article 1481. <https://doi.org/10.3390/plants9111481>
- EL Boukhari, M. E. M., Barakate, M., Bouhia, Y., & Lyamlouli, K. (2020). Trends in seaweed extract based biostimulants: manufacturing process and beneficial effect on soil-plant systems. *Plants*, 9(3), Article 359. <https://doi.org/10.3390/plants9030359>
- El-Tahlawy, Y. A., & Ali, O. (2022). Role of humic substances on growth and yield of crop plant. In M. Hasanuzzaman, B. Hawrylak-Nowak, T. Islam, & M. Fujita (Eds.), *Biostimulants for crop production and sustainable agriculture* (pp. 159–178). CABI. <https://doi.org/10.1079/9781789248098.0011>
- Elmongy, M. S., Zhou, H., Cao, Y., Liu, B., & Xia, Y. (2018). The effect of humic acid on endogenous hormone levels and antioxidant enzyme activity during *in vitro* rooting of evergreen azalea. *Scientia Horticulturae*, 227, 234–243. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.027>

- Epstein, E., & Ludwig-Muller, J. (1993). Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiologia Plantarum*, 88(2), 382–389. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb05513.x>
- Ernst, A. (1999). Micro cloning: a multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 217–220.
- Ernst, A. A., Whiley, A. W., & Bender, G. S. (2013). Propagation. In B. A. Schaffer, B. N. Wolstenholme, & A. W. Whiley (Eds.), *The avocado: botany, production and uses* (pp. 234–267). CAB International Press.
- Esgrina, F. Jr. O., & Tan, R. J. (2024). Response of different avocado microclonal rootstock varieties to etiolation time. *Nativa*, 12(2), 274–284. <https://doi.org/10.31413/nat.v12i2.17314>
- Faghihi, K., Pyrayvatlo, P., & Imani, A. (2013). Effects of indole butyric acid (IBA), indole acetic acid (IAA) and naphthalene acetic acid (NAA) on woody cuttings rooting of apple M9, MM106 and MM111 rootstocks. *Journal of Basic and Applied Scientific Research*, 3, 570–576.
- Fan, E., Liu, C., Wang, Z., Wang, S., Ma, W., Lu, N., Liu, Y., Fu, P., Wang, R., Lv, S., Qu, G., & Wang, J. (2023). Genome-wide identification and expression analysis of the SQUAMOSA promoter-binding protein-like (SPL) transcription factor family in *Catalpa bungei*. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), Article 97. <https://doi.org/10.3390/ijms25010097>
- Fattorini, L., Veloccia, A., Della Rovere, F., D'Angeli, S., Falasca, G., & Altamura, M. M. (2017). Indole-3-butyric acid promotes adventitious rooting in *Arabidopsis thaliana* thin cell layers by conversion into indole-3-acetic acid and stimulation of anthranilate synthase activity. *BMC Plant Biology*, 17(1), Article 121. <https://doi.org/10.1186/s12870-017-1071-x>

- Feng, J., Qi, L., Sun, X., Lin, Y., Dong, J., & Zhang, S. (2012). Isolation and characterization of an Aux/IAA gene (LalAA2) from Larix. *African Journal of Biotechnology*, 11(47), 10640–10649. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1009>
- Fleurence, J. (2022). Biostimulant potential of seaweed extracts derived from *Laminaria* and *Ascophyllum nodosum*. In N. Ramawat & V. Bhardwaj (Eds.), *Biostimulants: exploring sources and applications. Plant life and environment dynamics*. (pp. 31–49). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-16-7080-0_2
- Frolich, E. F., & Platt, R. G. (1972). Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 55, 97–109.
- García, M. A. F., Broglio, M. L., Brossi, S. M., Teixeira, dos S. N., Cantuarias, A. T., & Rodrigues, da S. S. (2022). Horticultural performance of ‘Hass’ avocado grafted onto seedling and clonal rootstocks under tropical wet-dry climate conditions. *Scientia Horticulturae*, 302, Article 111155. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111155>
- García-Gómez, M. L., Sánchez-Romero, C., Barceló-Munoz, A., Heredia, A., & Pliego-Alfaro, F. (1994). Levels of endogenous indole-3-acetic acid and indole-3-acetyl-aspartic acid during adventitious rooting in avocado microcuttings. *Journal of Experimental Botany*, 45(6), 865–870. <https://doi.org/10.1093/jxb/45.6.865>
- Gastañadui, P., Moreno, R., Quiroz-Delgado, P. E., & Apaza-Tapia, W. E. (2021). Control of avocado root rot caused by *Phytophthora cinnamomi* with different *Trichoderma* strains at Chavimochic Irrigation Project. *Peruvian Journal of Agronomy*, 5(3), 78–86. <https://doi.org/10.21704/pja.v5i3.1846>
- Gautam, A., Chauhan, A., Singh, A., Mundepi, S., Pant, M., & Husen, A. (2024). Use of seaweed extract-based biostimulants in plant growth, biochemical constituents, and productions. In A. Husen (Ed.), *Biostimulants in plant protection and performance* (pp. 129–148). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15884-1.00022-1>

- Gleeson, M., Mitter, N., & Carroll, B. (2016). Etiolation-mediated regulation of adventitious rooting in avocado. *Acta Horticulturae*, 1110, 35–40. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2016.1110.6>
- Graziani, G., Cirillo, A., Giannini, P., Conti, S., El-Nakhel, C., Roupshael, Y., Ritieni, A., & Di Vaio, C. (2022). Biostimulants improve plant growth and bioactive compounds of young olive trees under abiotic stress conditions. *Agriculture*, 12(2), Article 227. <https://doi.org/10.3390/agriculture12020227>
- Guan, L., Murphy, A. S., Peer, W. A., Gan, L., Li, Y., & Cheng, Z.-M. (2015). Physiological and molecular regulation of adventitious root formation. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 34(5), 506–521. <https://doi.org/10.1080/07352689.2015.1090831>
- Gupta, N. (2020). *Trichoderma* as biostimulant: factors responsible for plant growth promotion. In C. Manoharachary, H. B. Singh, & A. Varma (Eds.), *Trichoderma: agricultural applications and beyond*. (pp. 287–309). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54758-5_13
- Gustafson, C. D., & Kadman, A. (1969). Effect of some plant hormones on the rooting capacity of avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 53, 97–100.
- Gutknecht, J., & Walter, A. (1980). Transport of auxin (indoleacetic acid) through lipid bilayer membranes. *The Journal of Membrane Biology*, 56(1), 65–72. <https://doi.org/10.1007/bf01869353>
- Hammes, U. Z., Murphy, A. S., & Schwechheimer, C. (2021). Auxin transporters—a biochemical view. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 14(2), Article a039875. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039875>
- He, B., Gao, S., Lu, H., Yan, J., Li, C., Ma, M., Wang, X., Chen, X., Zhan, Y., & Zeng, F. (2022). Genome-wide analysis and molecular dissection of the *SPL* gene family in *Fraxinus mandshurica*. *BMC Plant Biology*, 22(1), 451. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03838-9>

- Hernández-Campos, R., Robles, C., Muñiz-Becerá, S., Pérez-Álvarez, S., & Loera-Corral, O. (2023). Humic extract as a biostimulant in crops subjected to abiotic stress. *Agrociencia*. <https://doi.org/10.47163/agrociencia.v57i5.2942>
- Hiti-Bandaralage, J. C. A., Hayward, A., & Mitter, N. (2017). Micropropagation of Avocado (*Persea americana* Mill.). *American Journal of Plant Sciences*, 8(11), 2898–2921. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811197>
- Hofshi, R. (1996). Experiments with cloning avocado rootstocks. *California Avocado Society Yearbook*, 80, 103–108.
- Husen, A. (2011). Rejuvenation and adventitious rooting in coppice-shoot cuttings of *Tectona grandis* as affected by stock-plant etiolation. *American Journal of Plant Sciences*, 2(03), 370–374. <https://doi.org/10.4236/ajps.2011.23042>
- Husen, A., & Pal, M. (2001). Interactive effect of auxin and etiolation on adventitious root formation in cuttings of *Tectona grandis* Linn. F. *Indian Forester*, 127(5), 526–532. <https://doi.org/10.36808/if/2001/v127i5/2854>
- Husen, A., & Pal, M. (2006). Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. *New Forests*, 33(3), 309–323. <https://doi.org/10.1007/s11056-006-9030-7>
- Iggehon, N. O., & Babalola, O. O. (2017). Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(12), 4871–4881. <https://doi.org/10.1007/s00253-017-8344-z>
- Janacek, D. P., Kolb, M., Schulz, L., Mergner, J., Kuster, B., Glanc, M., Friml, J., Tusscher, K. ten, Schwechheimer, C., & Hammes, U. Z. (2024). Transport properties of canonical PIN-FORMED proteins and the role of the loop domain in auxin transport. *BioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*. <https://doi.org/10.1101/2024.02.15.580428>

- Kadman, A., & Ben Ya'acov, A. (1965). A review of experiments on some factors influencing the rooting of avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 49, 67–72.
- Kaur, A., Devgan, M., Sharma, R., Kumar, A., Choudhary, A., Singh, R. P., Reddy, D. M., Venkatapuram, A., Mehta, S., & Husen, A. (2024). Role of biostimulant in adventitious rooting via stimulation of phytohormones. In A. Husen (Ed.), *Biostimulants in plant protection and performance* (pp. 237–254). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15884-1.00013-0>
- Khan, A., Najeeb, S., Chen, J., Wang, R., Zhang, J., Hou, J., & Liu, T. (2023). Insights into the molecular mechanism of *Trichoderma* stimulating plant growth and immunity against phytopathogens. *Physiologia Plantarum*, 175(6), Article e14133. <https://doi.org/10.1111/ppl.14133>
- Khan, M. A., Wang, Y., Muhammad, B., Uddin, S., Saeed, A., Khan, D., Ali, M., Saeed, S., & Kui, J. Z. (2024). Morpho-physiological and phytohormonal changes during the induction of adventitious root development stimulated by exogenous IBA application in *Magnolia biondii* Pamp. *Brazilian Journal of Biology*, 84, Article e255664. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.255664>
- Khawas, E., & Upadhyay, S. (2022). Effect of plant growth regulators on rooting of avocado (*Persea americana* Mill.) cuttings in Sikkim. *Bhartiya Krishi Anusandhan Patrika*, 37(2), 157–162. <https://doi.org/10.18805/bkap413>
- Lardos, M., Marmagne, A., Bonadé Bottino, N., Caris, Q., Béal, B., Chardon, F., & Masclaux-Daubresse, C. (2024). Discovery of the biostimulant effect of asparagine and glutamine on plant growth in *Arabidopsis thaliana*. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1281495. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1281495>
- Li, H., Luo, Y., Ma, B., Hu, J., Lv, Z., Wei, W., Hao, H., Yuan, J., & He, N. (2021). Hierarchical action of mulberry miR156 in the vegetative phase transition. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5550. <https://doi.org/10.3390/ijms22115550>

- Li, H., Sun, H., Dong, H., Wang, S., Fan, X., Li, Y., Cheng, L., Zhang, Z., Wang, Y., Zhang, X., Xu, X., Han, Z., & Li, W. (2022). Genome editing of apple *SQUAMOSA PROMOTER BINDING PROTEIN-LIKE 6* enhances adventitious shoot regeneration. *Plant Physiology*, 191(2), 840–843. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiac570>
- Li, J., Jia, H., Sun, P., Zhang, J., Xia, Y., Hu, J., Wang, L., & Lu, M. (2020). The *WUSCHELa* (*PtoWUSa*) is involved in developmental plasticity of adventitious root in poplar. *Genes*, 11(2), 176–176. <https://doi.org/10.3390/genes11020176>
- Li, J., Liu, X., Wu, K., Wu, S., Zhai, J., Fang, L., & Zeng, S. (2024a). A comparative transcriptome analysis revealing the mechanism underlying the effect of maternal plant age on adventitious rooting of *Euryodendron excelsum* cuttings. *Horticulturae*, 10(12), Article 1306. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10121306>
- Li, J., Zhang, J., Jia, H., Liu, B., Sun, P., Hu, J., Wang, L., & Lu, M. (2017). The *WUSCHEL-related homeobox 5a* (*PtoWOX5a*) is involved in adventitious root development in poplar. *Tree Physiology*, 38(1), 139–153. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx118>
- Li, K., Liu, Z., Xing, L., Wei, Y., Mao, J., Meng, Y., Bao, L., Han, M., Zhao, C., & Zhang, D. (2019). miRNAs associated with auxin signaling, stress response, and cellular activities mediate adventitious root formation in apple rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, 139, 66–81. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.03.006>
- Li, S.-W. (2021). Molecular bases for the regulation of adventitious root generation in plants. *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 614072. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.614072>
- Li, S.-W., Shi, R.-F., Leng, Y., & Zhou, Y. (2016). Transcriptomic analysis reveals the gene expression profile that specifically responds to IBA during adventitious rooting in mung bean seedlings. *BMC Genomics*, 17(1), 1–23. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-2372-4>

- Li, W., Ma, X., Wang, S., Huang, W., & Jiang, M. (2024b). The leafy-stem-buried etiolation contributed to the high efficiency of rootstock vegetative propagation in avocado (*Persea americana*). *Horticulturae*, 10(7), Article 770. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10070770>
- Lin, C., & Sauter, M. (2019). Polar auxin transport determines adventitious root emergence and growth in rice. *Frontiers in Plant Science*, 10, 444. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00444>
- Liu, J., Gao, L., Zhang, R., Gao, A., Oginga, Z. K., Zheng, B., & Han, Y. (2023). ARF4 acting upstream of LBD16 promotes adventitious root formation in peach. *Horticultural Plant Journal*, 11(1), 141–161. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2023.07.004>
- Liu, S., Yang, C., Wu, L., Cai, H., Li, H., & Xu, M. (2019). The *peu-miR160a-PeARF17.1/PeARF17.2* module participates in the adventitious root development of poplar. *Plant Biotechnology Journal*, 18, 457–469. <https://doi.org/10.1111/pbi.13211>
- Liu, X., Barkawi, L., Gardner, G., & Cohen, J. D. (2012). Transport of indole-3-butyric acid and indole-3-acetic acid in *Arabidopsis* hypocotyls using stable isotope labeling. *Plant Physiology*, 158(4), 1988–2000. <https://doi.org/10.1104/pp.111.191288>
- Lomax, T. L. (1985). Active auxin uptake by specific plasma membrane carriers. In M. Bopp (Ed.), *Plant growth substances 1985* (pp. 209–213). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-71018-6_25
- López-López, M. E., Del-Toro-Sánchez, C. L., Gutiérrez-Lomelí, M., Ochoa-Ascencio, S., Aguilar-López, J. A., Robles-García, M. A., Plascencia-Jatomea, M., Bernal-Mercado, A. T., Martínez-Cruz, O., Ávila-Novoa, M. G., González-Gómez, J. P., & Guerrero-Medina, P. J. (2022). Isolation and characterization of *Trichoderma* spp. for antagonistic activity against avocado (*Persea americana* Mill) fruit pathogens. *Horticulturae*, 8(8), 714. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8080714>

- Lu, N., Dai, L., Luo, Z., Wang, S., Wen, Y., Duan, H., Hou, R., Sun, Y., & Li, Y. (2017). Characterization of the transcriptome and gene expression of tetraploid black locust cuttings in response to etiolation. *Genes*, 8(12), Article 345. <https://doi.org/10.3390/genes8120345>
- Malécange, M., Sergheraert, R., Teulat, B., Mounier, E., Lothier, J., & Sakr, S. (2023). Biostimulant properties of protein hydrolysates: recent advances and future challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), Article 9714. <https://doi.org/10.3390/ijms24119714>
- Marchant, A., Bhalerao, R., Casimiro, I., Eklöf, J., Casero, P. J., Bennett, M., & Sandberg, G. (2002). AUX1 promotes lateral root formation by facilitating indole-3-acetic acid distribution between sink and source tissues in the *Arabidopsis* seedling. *The Plant Cell*, 14(3), 589–597. <https://doi.org/10.1105/tpc.010354>
- Martínez-Alonso, C., Kidelman, A., Feito, I., Velasco, T., Alía, R., João, G. M., & Majada, J. (2012). Optimization of seasonality and mother plant nutrition for vegetative propagation of *Pinus pinaster* Ait. *New Forests*, 43, 651–663. <https://doi.org/10.1007/s11056-012-9333-9>
- Martins, E. M., Pillajo, J. Q., & Jones, M. L. (2024). Humic and fulvic acids promote growth and flowering in petunias at low and optimal fertility. *HortScience*, 59(2), 235–244. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI17554-23>
- Mauriat, M., Petterle, A., Bellini, C., & Moritz, T. (2014). Gibberellins inhibit adventitious rooting in hybrid aspen and *Arabidopsis* by affecting auxin transport. *The Plant Journal*, 78(3), 372–384. <https://doi.org/10.1111/tpj.12478>
- Mindêllo-Neto, U. R., Hirano, E., Telles, C. A., & Biasi, L. A. (2006). Propagação de abacateiro cv. Fuerte por estacas herbáceas. *Scientia Agraria*, 7(1), 101–101. <https://doi.org/10.5380/rsa.v7i1.7279>

- Mona, S. A., Hashem, A., Abd_Allah, E. F., Alqarawi, A. A., Soliman, D. W. K., Wirth, S., & Egamberdieva, D. (2017). Increased resistance of drought by *Trichoderma harzianum* fungal treatment correlates with increased secondary metabolites and proline content. *Journal of Integrative Agriculture*, 16(8), 1751–1757. [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(17\)61695-2](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(17)61695-2)
- Munir, M. Z., Din, S. U., Imran, M., Zhang, Z., Pervaiz, T., Han, C., Nisa, Z. U., Bakhsh, A., Muhammad Atif Muneer, Sun, Y., & Li, Y. (2021). Transcriptomic and anatomic profiling reveal etiolation promotes adventitious rooting by exogenous application of 1-naphthalene acetic acid in *Robinia pseudoacacia* L. *Forests*, 12(6), 789–789. <https://doi.org/10.3390/f12060789>
- Nagle, M. F., Yuan, J., Kaur, D., Ma, C., Peremyslova, E., Jiang, Y., Willig, C. J., Goralogia, G. S., Niño, A., McEldowney, M., Goddard, A., Magnuson, A., Muchero, W., Fuxin, L., & Strauss, S. H. (2022). GWAS identifies candidate genes controlling adventitious rooting in *Populus trichocarpa*. *BioRxiv (Cold Spring Harbor Laboratory)*, 10(8), Article uhad125. <https://doi.org/10.1101/2022.06.14.496209>
- Natsiopoulou, D., Topalidou, E., Mantzoukas, S., & Eliopoulou, P. A. (2024). Endophytic *Trichoderma*: Potential and prospects for plant health management. *Pathogens*, 13(7), 548–548. <https://doi.org/10.3390/pathogens13070548>
- Nehul, J. N., Samreen, S., Dutta, A., Manjunath, P., Belagalla, N., Kundan, V.B., G., Khokale, S. K., & Pandey, S. K. (2024). Biostimulants and their role in enhancing plant resistance to pests and pathogens. *Uttar Pradesh Journal of Zoology*, 45(24), 213–225. <https://doi.org/10.56557/upjoz/2024/v45i244726>

- Othibeng, K., Nephali, L., Ramabulana, A.-T., Steenkamp, P., Petras, D., Kang, K. B., Opperman, H., Huyser, J., & Tugizimana, F. (2021). A metabolic choreography of maize plants treated with a humic substance-based biostimulant under normal and starved conditions. *Metabolites*, *11*(6), Article 403. <https://doi.org/10.3390/metabo11060403>
- Pacurar, D. I., Perrone, I., & Bellini, C. (2014). Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting. *Physiologia Plantarum*, *151*(1), 83–96. <https://doi.org/10.1111/ppl.12171>
- Pasković, I., Popović, L., Pongrac, P., Polić, P. M., Kos, T., Jovanov, P., & Franić, M. (2024). Protein hydrolysates—production, effects on plant metabolism, and use in agriculture. *Horticulturae*, *10*(10), 1041–1041. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10101041>
- Pillajo, J. Q., Chapin, L. J., Martins, E. M., & Jones, M. L. (2024). A biostimulant containing humic and fulvic acids promotes growth and health of tomato ‘Bush Beefsteak’ plants. *Horticulturae*, *10*(7), 671–671. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10070671>
- Pizarro, A., & Díaz-Sala, C. (2020). Effect of polar auxin transport and gibberellins on xylem formation in pine cuttings under adventitious rooting conditions. *Israel Journal of Plant Sciences*, *67*(1-2), 27–39. <https://doi.org/10.1163/22238980-20191120>
- Pliego-Alfaro, F., Palomo-Ríos, E., Mercado, J. A., Pliego, C., Barceló-Muñoz, A., López-Gómez, R., Hormaza, J. I., & Litz, R. E. (2020). *Persea americana* avocado. In R. E. Litz, F. Pliego-Alfaro, & J. Ignacio Hormaza (Eds.), *Biotechnology of fruit and nut crops* (pp. 258–281). CAB International Press.
- Pop, T. I., Pamfil, D., & Bellini, C. (2011). Auxin control in the formation of adventitious roots. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, *39*(1), Article 307. <https://doi.org/10.15835/nbha3916101>

- Popenoe, J., Wilber, L., & Jianjun, C. (2017). Biostimulants have minimal effects on growth of some woody nursery plants. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 130, 240–244.
- Prabhu, S. A., Ndlovu, B., Engelbrecht, J., & van den Berg, N. (2017). Generation of composite *Persea americana* (Mill.) (avocado) plants: A proof-of-concept-study. *PLoS ONE*, 12(10), Article e0185896. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185896>
- Qiao, L., Zhang, T., Yang, H., Yang, S., & Wang, J. (2022). Overexpression of a *SHORT-ROOT* transcriptional factor enhances the auxin mediated formation of adventitious roots and lateral roots in poplar trees. *Plant Science*, 323, Article 111408. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2022.111408>
- Rashotte, A. M., Poupart, J., Waddell, C. S., & Muday, G. K. (2003). Transport of the two natural auxins, indole-3-butyric acid and indole-3-acetic acid, in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 133(2), 761–772. <https://doi.org/10.1104/pp.103.022582>
- Rasmussen, A., Hu, Y., Depaepe, T., Vandenbussche, F., Boyer, F.-D., Van, D., & Geelen, D. (2017). Ethylene controls adventitious root initiation sites in *Arabidopsis* hypocotyls independently of strigolactones. *Journal of Plant Growth Regulation*, 36(4), 897–911. <https://doi.org/10.1007/s00344-017-9692-8>
- Rathor, P., Upadhyay, P., Ullah, A., Gorim, L. Y., & Thilakarathna, M. S. (2024). Humic acid improves wheat growth by modulating auxin and cytokinin biosynthesis pathways. *AoB Plants*, 16(2), Article plae018. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plae018>
- Reuveni, O., & Raviv, M. (1981). Importance of leaf retention to rooting of avocado cuttings. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 106(2), 127–130. <https://doi.org/10.21273/JASHS.106.2.127>

- Ribeiro, Y. R., Aragão, V. P. M., Sousa, K. R., Macedo, A. F., Segal, I., Silveira, V., & Santa-Catarina, C. (2021). Involvement of differentially accumulated proteins and endogenous auxin in adventitious root formation in micropropagated shoot cuttings of *Cedrela fissilis* Vellozo (Meliaceae). *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 148(1), 119–135. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02171-7>
- Ricci, A., Polverini, E., Bruno, S., Dramis, L., Ceresini, D., Scarano, A., & Diaz-Sala, C. (2023). New insights into the enhancement of adventitious root formation using N,N'-Bis(2,3-methylenedioxyphenyl)urea. *Plants*, 12(20), Article 3610. <https://doi.org/10.3390/plants12203610>
- Robert, H. S., & Friml, J. (2009). Auxin and other signals on the move in plants. *Nature Chemical Biology*, 5(5), 325–332. <https://doi.org/10.1038/nchembio.170>
- Rogel-Castellanos, I., Muñoz-Pérez, R. B., & Cruz-Castillo, J. G. (2000). Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indolbutírico, y obstrucción de savia. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6(1), 101–104. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.1999.07.049>
- Salazar-García, S., Velasco-Cárdenas, J. de J., Medina-Torres, R., & Gómez-Aguilar, J. R. (2004). Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 27(2), 183–190. <https://doi.org/10.35196/rfm.2004.2.183>
- Sánchez, C., Vielba, J. M., Ferro, E., Covelo, G., Solé, A., Abarca, D., de Mier, B. S., & Díaz-Sala, C. (2007). Two SCARECROW-LIKE genes are induced in response to exogenous auxin in rooting-competent cuttings of distantly related forest species. *Tree Physiology*, 27(10), 1459–1470. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.10.1459>

- Sbabou, L., Bucciarelli, B., Miller, S., Liu, J., Berhada, F., Filali-Maltouf, A., Allan, D., & Vance, C. (2010). Molecular analysis of *SCARECROW* genes expressed in white lupin cluster roots. *Journal of Experimental Botany*, 61(5), 1351–1363. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp400>
- Shahnaz, E., Anwar, A., & Banday, S. (2022). *Trichoderma* spp. as bio-stimulant: molecular insights. In S. H. Bahadur & A. Vaishnav (Eds.), *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 337–350). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-323-85577-8.00020-2>
- Shao, F., Wang, S., Huang, W., & Liu, Z. (2017). Effects of IBA on the rooting of branch cuttings of Chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) and changes to nutrients and endogenous hormones. *Journal of Forestry Research*, 29(6), 1557–1567. <https://doi.org/10.1007/s11676-017-0557-6>
- Shayen, M. P., Noli, Z. A., & Maideliza, T. (2023). An overview: seaweed extract as biostimulant. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 39(2), Article 304. <https://doi.org/10.52155/ijpsat.v39.2.5491>
- Shu, W., Zhou, H., Jiang, C., Zhao, S., Wang, L., Li, Q., Yang, Z., Groover, A., & Lu, M.-Z. (2018). The auxin receptor TIR1 homolog (PagFBL 1) regulates adventitious rooting through interactions with Aux/IAA28 in *Populus*. *Plant Biotechnology Journal*, 17(2), 338–349. <https://doi.org/10.1111/pbi.12980>
- Šimášková, M., O'Brien, J. A., Khan, M., Van Noorden, G., Ötvös, K., Vieten, A., De Clercq, I., Van Haperen, J. M. A., Cuesta, C., Hoyerová, K., Vanneste, S., Marhavý, P., Wabnik, K., Van Breusegem, F., Nowack, M., Murphy, A., Friml, J., Weijers, D., Beeckman, T., & Benková, E. (2015). Cytokinin response factors regulate *PIN-FORMED* auxin transporters. *Nature Communications*, 6(1), Article 8717. <https://doi.org/10.1038/ncomms9717>
- Singh, A. K., Singh, R., & Dixit, P. S. (2024). Abiotic stress alleviation and contribution to resilient crop growth: A trichoderma perspective. *Environment Conservation Journal*, 25(3), 931–936. <https://doi.org/10.36953/ecj.27062809>

- Song, X., Huang, R., Liu, H., Zhang, J., Chang, Y., & Pei, D. (2024). Transcriptome profiling of indole-3-butyric acid-induced adventitious root formation in softwood cuttings of walnut. *Horticultural Plant Journal*, 10(6), 1336–1348. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2023.04.013>
- Stevens, M. E., Woeste, K. E., & Pijut, P. M. (2018). Localized gene expression changes during adventitious root formation in black walnut (*Juglans nigra* L.). *Tree Physiology*, 38(6), 877–894. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpx175>
- Sujeeth, N., Petrov, V., Guinan, K. J., Rasul, F., O’Sullivan, J. T., & Gechev, T. (2022). Current insights into the molecular mode of action of seaweed-based biostimulants and the sustainability of seaweeds as raw material resources. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(14), 7654–7654. <https://doi.org/10.3390/ijms23147654>
- Sun, W., & Shahrajabian, M. H. (2023). The application of arbuscular mycorrhizal fungi as microbial biostimulant, sustainable approaches in modern agriculture. *Plants*, 12(17), 3101–3101. <https://doi.org/10.3390/plants12173101>
- Sun, W., Shahrajabian, M. H., Kuang, Y., & Wang, N. (2024). Amino acids biostimulants and protein hydrolysates in agricultural sciences. *Plants*, 13(2), Article 210. <https://doi.org/10.3390/plants13020210>
- Tahir, M. M., Mao, J., Li, S., Li, K., Liu, Y., Shao, Y., Zhang, D., & Zhang, X. (2022). Insights into factors controlling adventitious root formation in apples. *Horticulturae*, 8(4), 276–276. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040276>
- Tao, G.-Y., Xie, Y.-H., Li, W.-F., Li, K.-P., Sun, C., Wang, H.-M., & Sun, X.-M. (2023). LkARF7 and LkARF19 overexpression promote adventitious root formation in a heterologous poplar model by positively regulating *LkBBM1*. *Communications Biology*, 6(1), Article 372. <https://doi.org/10.1038/s42003-023-04731-3>

- Tejasree, A., Mirza, A., & Joka, V. S. (2024). Deciphering nature's secret of seaweed extract as a biostimulant on horticultural crops: a review. *Journal of Experimental Agriculture International*, 46(6), 417–427. <https://doi.org/10.9734/jeai/2024/v46i62494>
- Tian, Y., Yang, W., Wan, S., & Fang, S. (2023). Insights into the hormone-regulating mechanism of adventitious root formation in softwood cuttings of *Cyclocarya paliurus* and optimization of the hormone-based formula for promoting rooting. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(2), Article 1343. <https://doi.org/10.3390/ijms25021343>
- Tran, T., Callahan, D. L., Islam, M. T., Wang, Y., Arioli, T., & Cahill, D. (2023). Comparative metabolomic profiling of *Arabidopsis thaliana* roots and leaves reveals complex response mechanisms induced by a seaweed extract. *Frontiers in Plant Science*, 14, Article 1114172. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1114172>
- Trofimuk, L. P., Kirillov, P. S., & Egorov, A. A. (2019). Application of biostimulants for vegetative propagation of endangered *Abies gracilis*. *Journal of Forestry Research*, 31(4), 1195–1199. <https://doi.org/10.1007/s11676-019-00903-2>
- Vaghela, P., Trivedi, K., Anand, K. G. V., Brahmabhatt, H., Nayak, J., Khandhediya, K., Prasad, K., Moradiya, K., Kubavat, D., Konwar, L. J., Veeragurunathan, V., Grace, P. G., & Ghosh, A. (2023). Scientific basis for the use of minimally processed homogenates of *Kappaphycus alvarezii* (red) and *Sargassum wightii* (brown) seaweeds as crop biostimulants. *Algal Research*, 70, Article 102969. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.102969>
- Vaičiukynė, M., Žiauka, J., Žūkienė, R., Vertelkaitė, L., & Kuusienė, S. (2018). Absciscic acid promotes root system development in birch tissue culture: a comparison to aspen culture and conventional rooting-related growth regulators. *Physiologia Plantarum*, 165(1), 114–122. <https://doi.org/10.1111/ppl.12860>

- Vain, T., Raggi, S., Ferro, N., Kumar, B. D., Kieffer, M., Ma, Q., Doyle, S. M., Thelander, M., Pařízková, B., Novák, O., Ismail, A., Enquist, P.-A., Rigal, A., Łangowska, M., Ramans, H. S., Zhang, Y., Ljung, K., Callis, J., Almqvist, F., & Kepinski, S. (2019). Selective auxin agonists induce specific AUX/IAA protein degradation to modulate plant development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(13), 6463–6472. <https://doi.org/10.1073/pnas.1809037116>
- van den Berg, N., Swart, V., Backer, R., Fick, A., Wienk, R., Engelbrecht, J., & Prabhu, S. A. (2021). Advances in understanding defense mechanisms in *Persea americana* against *Phytophthora cinnamomi*. *Frontiers in Plant Science*, 12, Article 636339. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.636339>
- Varas, E., Covelo, P., Vidal, N., & Sánchez, C. (2015). Analysis of the hormonal manipulation during *in vitro* induction of adventitious roots in *Castanea sativa*. *Acta Horticulturae*, 1083, 219–226. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2015.1083.26>
- Veobides-Amador, H., Guridi-Izquierdo, F., & Vázquez-Padrón, V. (2019). Las sustancias húmicas como bioestimulantes de plantas bajo condiciones de estrés ambiental. *Cultivos Tropicales*, 39(4), 102–109. <https://doi.org/10.1234/ct.v39i4.1488>
- Vidoy-Mercado, I., Narváez, I., Palomo-Ríos, E., Litz, R. E., Barceló-Muñoz, A., & Pliego-Alfaro, F. (2021). Reinvigoration/rejuvenation induced through micrografting of tree species: signaling through graft union. *Plants*, 10(6), 1197–1197. <https://doi.org/10.3390/plants10061197>
- Wang, J., Jin, D., Deng, Z., Zheng, L., Guo, P., Ji, Y., Song, Z., Zeng, H. Y., Kinoshita, T., Liao, Z., Chen, H., Deng, X. W., & Wei, N. (2025). The apoplastic pH is a key determinant in the hypocotyl growth response to auxin dosage and light. *Nature Plants*, 11, 279–294. <https://doi.org/10.1038/s41477-025-01910-4>

- Wang, S., Wu, H., Zhang, Y., Sun, G., Qian, W., Qu, F., Zhang, X., & Hu, J. (2024). Transcriptome reveals the regulation of exogenous auxin inducing rooting of non-rooting callus of tea cuttings. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), Article 8080. <https://doi.org/10.3390/ijms25158080>
- Wang, Y., Pang, D., Ruan, L., Liang, J., Zhang, Q., Qian, Y., Zhang, Y., Bai, P., Wu, L., Cheng, H., Cui, Q.-M., Wang, L., & Wei, K. (2022). Integrated transcriptome and hormonal analysis of naphthalene acetic acid-induced adventitious root formation of tea cuttings (*Camellia sinensis*). *BMC Plant Biology*, 22(1), Article 319. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03701-x>
- Wang, Y.-F., Hou, X.-Y., Deng, J.-J., Yao, Z.-H., Lyu, M.-M., & Zhang, R.-S. (2020). *AUXIN RESPONSE FACTOR 1* acts as a positive regulator in the response of poplar to *Trichoderma asperellum* inoculation in overexpressing plants. *Plants*, 9(2), Article 272. <https://doi.org/10.3390/plants9020272>
- Wang, Z., Li, Z., Wu, D., Tian, Q., Su, S., Cheng, C., Nie, J., Yuan, Y., Wang, Y., & Xu, X. (2023). DNA methylation variation is crucial to restore adventitious rooting ability during *in vitro* shoot culture-induced rejuvenation in apple rootstock. *The Plant Journal*, 114(3), 554–569. <https://doi.org/10.1111/tpj.16153>
- Wynne, J., & McDonald, M. S. (2002). Adventitious root formation in woody plant tissue: The influence of light and indole-3-butyric acid (IBA) on adventitious root induction in *Betula Pendula*. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 38(2), 210–212. <https://doi.org/10.1079/ivpivp2001266>
- Xiao, Z., Zhao, Q., Li, W., Gao, L., & Liu, G. (2023). Strain improvement of *Trichoderma harzianum* for enhanced biocontrol capacity: Strategies and prospects. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1146210. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1146210>

- Xiong, Y., Chen, X., Liu, J., Li, Y., Bian, Z., Zhang, X., Zeng, S., da Silva, J. A. T., & Ma, G. (2024). Comparative transcriptomic and hormonal analyses reveal potential regulation networks of adventitious root formation in *Metasequoia glyptostroboides* Hu et Cheng. *BMC Genomics*, 25(1), Article 1098. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10989-6>
- Xu, M., Xie, W., & Huang, M. (2015). Two *WUSCHEL*-related *HOMEODOMAIN* genes, *PeWOX11a* and *PeWOX11b*, are involved in adventitious root formation of poplar. *Physiologia Plantarum*, 155(4), 446–456. <https://doi.org/10.1111/ppl.12349>
- Xu, X. (2024). Advances in studies on adventitious root formation determined by juvenility and auxin in plants. *Acta Horticulturae*, 1401, 83–86. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2024.1401.12>
- Xu, X., Li, X., Hu, X., Wu, T., Wang, Y., Xu, X., Zhang, X., & Han, Z. (2017). High miR156 expression is required for auxin-induced adventitious root formation via *MxSPL26* independent of *PIN*s and *ARF*s in *Malus xiaojinensis*. *Frontiers in Plant Science*, 8, Article 1059. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01059>
- Xuan, L., Xu, M., Chen, C., Yang, C., Xu, L., & Huang, M. (2014). Identification and characterization of three *PeSHRs* and one *PeSCR* involved in adventitious root development of *Populus*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 117(2), 253–264. <https://doi.org/10.1007/s11240-014-0437-0>
- Yang, B.-J., Han, X.-X., Yin, L.-L., Xing, M.-Q., Xu, Z.-H., & Xue, H.-W. (2016). *Arabidopsis* PROTEASOME REGULATOR1 is required for auxin-mediated suppression of proteasome activity and regulates auxin signalling. *Nature Communications*, 7(1), Article 11388. <https://doi.org/10.1038/ncomms11388>
- Young, L. B. (1961). Vegetative propagation in avocado by means of marcottage and the rooting of cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 45, 63–66.

- Yu, H., Soler, M., Mila, I., San Clemente, H., Savelli, B., Dunand, C., Paiva, J. A. P., Myburg, A. A., Bouzayen, M., Grima-Pettenati, J., & Cassan-Wang, H. (2014). Genome-wide characterization and expression profiling of the *AUXIN RESPONSE FACTOR (ARF)* gene family in *Eucalyptus grandis*. *PLoS ONE*, 9(9), Article e108906. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108906>
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74–90. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001>
- Zhang, L., Freschi, G., Roupahel, Y., De Pascale, S., & Lucini, L. (2023). The differential modulation of secondary metabolism induced by a protein hydrolysate and a seaweed extract in tomato plants under salinity. *Frontiers in Plant Science*, 13, Article 1072782. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.1072782>
- Zhang, T., Ge, Y., Cai, G., Pan, X., & Xu, L. (2023). WOX-ARF modules initiate different types of roots. *Cell Reports*, 42(8), Article 112966. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112966>
- Zhao, M., Lei, Y., Wu, L., Qi, H., Song, Z., & Xu, M. (2024). The miR159a-*PeMYB33* module regulates poplar adventitious rooting through the abscisic acid signal pathway. *The Plant Journal*, 118(3), 879–891. <https://doi.org/10.1111/tpj.16643>
- Zhou, J.-J., & Luo, J. (2018). The PIN-FORMED auxin efflux carriers in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(9), Article 2759. <https://doi.org/10.3390/ijms19092759>
- Zhou, Y., Wei, K., Hao, X., Wang, L., Li, N., Zhang, W., Tang, S., Li, D., & Zhang, W. (2025). Differential rooting efficacy of growth regulators in *Camellia sinensis* cuttings: a physiological and biochemical analysis. *Horticulturae*, 11(3), Article 289. <https://doi.org/10.3390/horticulturae11030289>

- Zhu, H., Li, H., Yu, J., Zhao, H., Zhang, K., & Ge, W. (2023). Regulatory mechanisms of *ArAux/IAA13* and *ArAux/IAA16* in the rooting process of *Acer rubrum*. *Genes*, 14(6), Article 1206. <https://doi.org/10.3390/genes14061206>
- Zhu, W., Zhang, M., Li, J., Zhao, H., Zhang, K., & Ge, W. (2022). Key regulatory pathways, microRNAs, and target genes participate in adventitious root formation of *Acer rubrum* L. *Scientific Reports*, 12, Article 12057. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-16255-7>

3. EFFECT OF AUXINS ON THE ROOTING OF THE AVOCADO ROOTSTOCK 'DUKE 7'

Effect of auxins on the rooting of the avocado rootstock 'Duke 7'

M. Martínez-Villagómez ¹, A. F. Barrientos-Priego ^{1(*)}, J. O. Mascorro-Gallardo ¹, G. Iturriaga ², M. de la C. Espíndola-Barquera ³

¹ Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 Carr. México-Texcoco, Texcoco, C.P. 56230, México

² División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/I.T. Roque, Km. 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Roque, Celaya, C.P. 38110, México

³ Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S. C., Ignacio Zaragoza, Col. Centro, Coatepec Harinas, C.P. 51700, México

(*) Corresponding author: abarrientosp@chapingo.mx

Key words: *Persea americana* Mill., clonal propagation, root quality index, callus formation.

Abstract: Clonal propagation of avocado rootstocks through etiolated shoot rooting represents a key strategy to enhance genetic uniformity, plant health, and productivity in commercial orchards. However, its success largely depends on the rooting phase, where auxins play a critical role. This study evaluated the effect of auxin-based rooting agents (types and concentrations) on root induction and quality in etiolated shoots of the 'Duke 7' rootstock. Five agents (IAA, NAA, IBA, K-IBA, and IBA + NAA combination) were tested at three concentrations (24.6, 34.4, and 44.2 mM) under a completely randomized factorial design (5 × 3) with three replicates per treatment. Morphological variables included rooting percentage, survival rate, root number/length/diameter, secondary root development, callus formation, and root quality index (RQI). Results revealed significant effects of agent type, concentration, and their interaction. NAA (34.4 mM) was the most effective for root number (55.3) and RQI (154.9 cm), albeit with high callus formation and reduced secondary roots. The IBA + NAA combination (34.4 mM) also showed high RQI (140.4 cm), with greater root length and less negative impact on root architecture. IBA alone achieved 100 % rooting with moderate root development, balancing efficacy and physiological tolerance. Overall, intermediate concentrations of NAA and IBA + NAA yielded optimal results. These findings can refine clonal propagation protocols for 'Duke 7', with direct applications in commercial nurseries producing high-performance rootstocks.

3.1 Introduction

Commercial avocado trees result from the combination of tissues from two distinct plants: a scion that forms the canopy and a rootstock that provides the root system (Gleeson et al., 2016). This propagation technique enables cultivars to achieve early productivity while preserving their phenotypic traits, even when grafted onto juvenile plants (Melnyk, 2017).

In Mexico, commercial avocado nursery production primarily relies on seed-propagated rootstocks derived from native trees exhibiting broad yet poorly characterized genetic diversity (Salazar-García et al., 2004a). This genetic variability leads to heterogeneous tree growth (Medina-Urrutia et al., 2017) and increased susceptibility to diseases, pests, and abiotic stressors such as drought, salinity, or nutrient imbalances (Salazar-García et al., 2004a). Furthermore, rootstock type has been documented to directly influence key agronomic parameters including yield, tree size and vigor, as well as fruit quality and postharvest life (Barrientos-Priego, 2017).

The most effective strategy to mitigate issues arising from genetic heterogeneity involves using clonal rootstocks (Salazar-García et al., 2004b; Cohen et al., 2023). Although avocado trees grafted onto clonal rootstocks are more expensive than those on seedling rootstocks (Cohen et al., 2023), certain Mexican production areas affected by *Phytophthora cinnamomi* Rands (Sánchez-González et al., 2019), clay soils (Salazar-García et al., 2015), alkaline pH, and soil salinity (Medina-Urrutia et al., 2017) would significantly benefit from their implementation.

While clonal rootstocks can standardize production, they present inherent technical limitations, particularly during the rooting phase (Ernst, 1999; Gleeson et al., 2016). Current commercial methodologies for clonal propagation of avocado species are primarily derived from the technique established by Frolich and Platt (1972). This approach, albeit with potential minor modifications, involves performing air layering on an etiolated shoot, separating it from the mother plant once a root system develops, and grafting the commercial cultivar during the rooting phase when stem diameter permits (Ernst, 1999).

The formation of adventitious roots in woody species such as avocado is regulated by the balance of growth regulators, with auxin application being one of the most effective strategies to promote rooting (Zhao et al., 2022). Synthetic auxins like indole-3-butyric acid (IBA) and 1-naphthaleneacetic acid (NAA)

serve as the primary regulators of adventitious root formation through complex interactions that modulate metabolic, transport, and signaling processes (Lakehal and Bellini, 2019).

Recent studies demonstrate that auxin type and concentration influence rooting quality through mechanisms such as molecular stability, transport, and metabolite conjugation (Damodaran and Strader, 2019; Gomes and Scortecci, 2021). However, current avocado propagation protocols remain based on classical work (Frolich and Platt, 1972), typically limited to IBA application at $7000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (Ernst, 1999), without considering the efficacy of other auxin types or concentrations. Furthermore, few recent studies have explored these aspects (Li et al., 2024) for standard rootstocks like 'Duke 7'.

In this context, the objective of this study was to evaluate the effect of different auxin types and concentrations on root induction and rooting quality in etiolated shoots of the 'Duke 7' rootstock. This work aims to establish an efficient vegetative propagation protocol to enhance production of clonal avocado rootstocks in Mexico, thereby improving genetic uniformity and resilience of commercial plantations.

3.2 Materials and Methods

3.2.1 Experimental site and plant material

This study adopted the propagation method proposed by Hofshi (1996) and Ernst (1999), adapted to the environmental conditions of a greenhouse located in Chapingo, Texcoco, State of Mexico (19.4904322, -98.8734917) at 2264 meters above sea level. The research was conducted during 2022 and 2023.

Nurse plants were produced using West Indian avocado seeds ($70 \pm 17.4 \text{ g}$) from Veracruz, a size determined optimal for etiolated shoot development during rooting (Castro et al., 2021). Seeds were sown on November 1, 2022, in 1000 cm^3 polyethylene bags filled with a 1:1:1 (v/v/v) substrate mixture of peat moss, volcanic rock, and perlite. Plants received light irrigation and preventive applications of fungicide (benomyl 1 g L^{-1}) and insecticide (imidacloprid 1 mL L^{-1}) until grafting.

On February 17, 2023, nurse plants were grafted with mature 'Duke 7' buds at 5 cm above substrate level, retaining only two buds per scion. Graft wounds were sealed with polyvinyl acetate resin to prevent desiccation. During graft union formation, buds were covered with transparent polyethylene bags (5 × 8 cm) which were removed when plants were transferred to the etiolation chamber.

3.2.2 Experimental establishment

Once etiolated shoots reached 25-30 cm in length (Ernst, 1999), treatments were applied. At the base of each shoot, air layering was performed using a cutting blade periodically disinfected with ethanol (70 %). A wound of approximately 2 cm in length was caused, to which 100 µL of rooting hormone was applied. Each treated shoot was then placed in a 150 cm³ transparent plastic container filled with coconut coir dust.

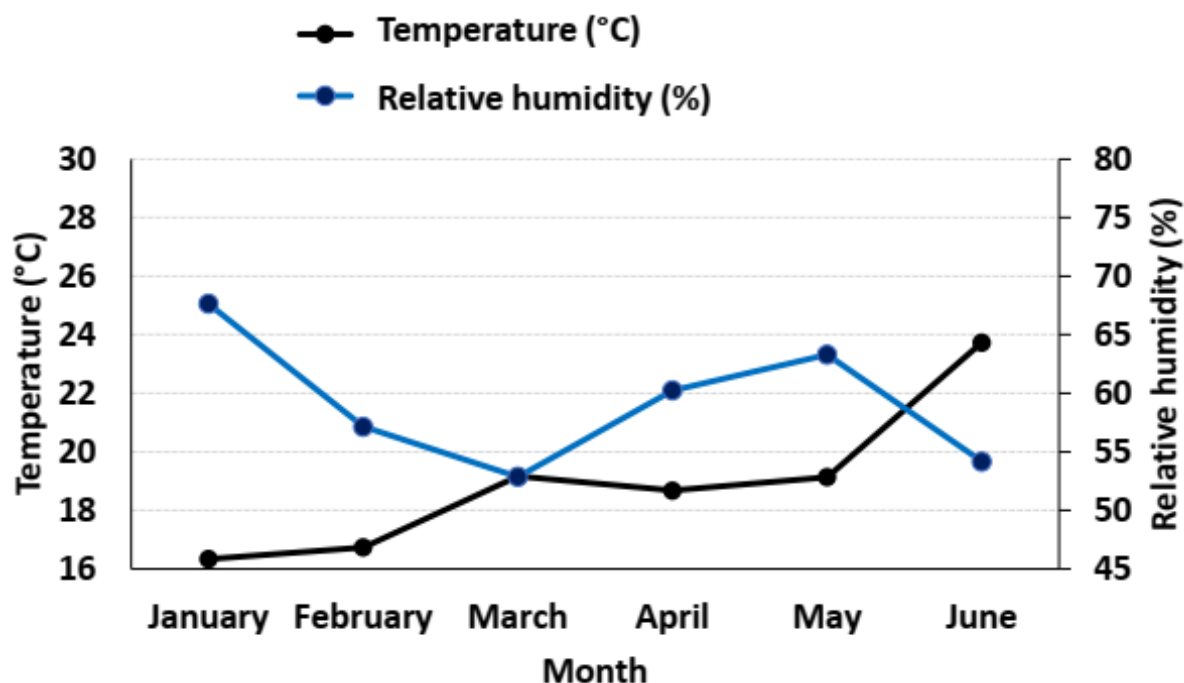


Fig. 1 - Average monthly ambient temperature and relative humidity variation during the experimental period.

The treated plants were maintained in a shaded area within the greenhouse and watered periodically to maintain adequate moisture levels in both the air-layering substrate and the nurse plant's growing medium. All rooting formulations were prepared fresh on the day of treatment application and were not

stored for subsequent use, ensuring consistent hormone activity and concentration for each experimental unit. During the study period, greenhouse conditions exhibited natural variability, with mean temperatures gradually increasing from 16.3 to 23.7 °C while relative humidity fluctuated between 54 % and 64 % (Fig. 1).

3.2.3 Experimental design

The study employed a completely randomized factorial design (5×3) with three replications per treatment. Each experimental unit consisted of three air-layered plants. The first factor represented auxin type with five levels, while the second factor comprised three concentrations: 24.6, 34.4, and 44.2 mM (Table 1). This design enabled systematic evaluation of 15 treatment combinations under standardized conditions.

Table 1- Experimental treatments: auxin types and concentrations evaluated in the rooting of 'Duke 7' avocado rootstock etiolated shoots.

Treatment	
Rooting agent (auxin type)	Concentrations (mM)
Indole-3-acetic acid (IAA, Sigma®)	24.6, 34.4, 44.2
1-naphthaleneacetic acid (NAA, Sigma®)	24.6, 34.4, 44.2
Indole-3-butyric acid (IBA, Sigma®)	24.6, 34.4, 44.2
Potassium salt of indole-3-butyric acid (K-IBA, Sigma®)	24.6, 34.4, 44.2
Combination of IBA + NAA (Dip'N Grow®)	24.6, 34.4, 44.2

For each treatment, 20 mL of solution was prepared using distinct protocols according to auxin type. The potassium salt of indole-3-butyric acid (K-IBA) and commercial IBA+NAA formulation (Dip'N Grow®) were prepared exclusively with distilled water. For other auxins (IAA, NAA, IBA), a two-step dissolution was employed: initial solubilization in 96 % ethanol (5 mL for 24.6 mM, 7 mL for 34.4 mM, or 9 mL for 44.2 mM) followed by volume completion with distilled water. This methodology ensured complete auxin solubility while maintaining precise target concentrations across all experimental treatments.

3.2.4 Evaluated variables

Eighty days after treatment application, the air-layered shoots were carefully separated from nurse plants and the substrate adhered to the roots was removed through water immersion with intermittent manual agitation. Quantitative assessments included: shoot survival (percentage of viable shoots), rooting success (proportion of shoots that emitted at least one root of 0.5 cm in length or more), root number (mean per rooted shoot), root dimensions (length and diameter of five primary roots measured with Mitutoyo® digital caliper, ±0.01 mm precision), secondary root development (percentage of shoots with secondary roots), callus formation (percentage of shoots showing callus at wound site), and the Root Quality Index (RQI) calculated as the product of mean root number and average length (cm). This comprehensive evaluation protocol enabled systematic comparison of treatment effects on both root initiation and development.

3.2.5 Statistical analysis

For statistical analysis, mean values per experimental unit were used. The data were processed using the GLM procedure in SAS® statistical software (SAS OnDemand for Academics, version 3.1.0; SAS, 2021). Variables expressed as proportions or percentages were subjected to arcsine square root transformation of the original decimal fraction values to meet assumptions of normality and homogeneity of variances. Following analysis of variance (ANOVA), when significant differences ($P < 0.05$) were detected for treatment effects or their interactions, means were compared using Tukey's test. Data values were back-transformed to their original units for presentation and interpretation.

The statistical model applied was as follows:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + C_j + AC_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

where: Y_{ij} is the value of the variable evaluated with the i -th rooting agent and the j -th concentration; μ is the overall mean; A_i is the fixed effect of the i -th rooting agent; C_j is the fixed effect of the j -th

concentration; AC_{ij} is the fixed effect of the interaction of the i -th rooting agent with the j -th concentration; and ε_{ij} is the experimental error.

3.3 Results and Discussion

The experimental results demonstrate the significant influence of auxin type and concentration on root development in etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'. Our findings reveal distinct morphological responses to different auxin treatments, with particular combinations showing optimal performance in root initiation and development. These outcomes are analyzed through three critical lenses: their physiological implications for adventitious root formation, practical applications for commercial clonal propagation systems, and comparative relevance to established literature in avocado propagation. The data presentation focuses on treatment efficacy across measured parameters including rooting percentage, root architecture features, and callus formation patterns, providing a comprehensive evaluation of auxin effects on this economically important rootstock cultivar.

3.3.1 Analysis of variance

Analysis of variance revealed significant differences ($P<0.05$) among treatments for most evaluated variables, confirming the influence of auxin type and concentration on adventitious root development in etiolated avocado shoots. Specifically, the rooting agent type showed highly significant effects on root quality index ($P<0.001$), root number ($P<0.001$), root length ($P<0.01$), and callus formation ($P<0.01$). Concentration significantly affected only root number ($P<0.01$), while the Rooting agent $\times$ Concentration interaction was significant for survival rate, rooting percentage, root length and diameter, and secondary root presence ($P<0.05$) (Tables 2 and 3).

Table 2- Mean squares obtained in the analysis of variance to evaluate the effect of five rooting agents and three concentrations on variables related to the rooting of etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'.

Variation source	DF	SSP	Rooting		PCP
			Percentage	Quality Index	
Rooting agent (A)	4	0.135 NS	0.133 NS	89156.6 ***	0.987 **
Concentration (C)	2	0.067 NS	0.046 NS	8474.8 NS	0.488 NS
A × C	8	0.269 *	0.135 *	12153.5 NS	0.183 NS
Experimental error	30	0.253	0.057	40686.9	0.230

DF: degrees of freedom; SSP: Shoot survival percentage; PCP: Percentage of callus presence; NS: Not significant ($P>0.05$); * Significant ($P<0.05$); **Significant ($P<0.01$); ***Highly significant ($P<0.001$); ×: Interaction between factors.

These findings demonstrate that both the composition of the rooting agent and its concentration distinctly influence various aspects of the rooting process, and that their interaction can substantially modify the morphological response of etiolated shoots.

Table 3- Mean squares obtained in the analysis of variance to evaluate the effect of five rooting agents and three concentrations on variables related to the rooting of etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'.

Variation source	DF	Roots			SRP
		Number	Length	Diameter	
Rooting agent (E)	4	2545.16 ***	1.154 **	0.106 NS	2.133 ***
Concentration (C)	2	675.16 **	0.018 NS	0.012 NS	0.020 NS
E × C	8	128.08 NS	0.460 *	0.283 *	0.431 *
Experimental error	30	133.93	0.120	0.123	0.144

DF: Degrees of freedom; SRP: Secondary roots presence; NS: Not significant ($P>0.05$); *Significant ($P<0.05$); **Significant ($P<0.01$); ***Highly significant ($P<0.001$); ×: Interaction between factors.

3.3.2 Effect of the rooting agent

The rooting agent type exerted a decisive influence on multiple root development parameters in etiolated 'Duke 7' shoots. Although all treatments achieved rooting rates exceeding 94 % (Table 4), significant variations were observed in three critical aspects: 1) post-treatment survival rates, 2) root system quality (including architecture and developmental patterns), and 3) callus formation intensity at wound sites. These differential responses highlight the importance of precise auxin selection in clonal propagation

protocols, where optimal root system architecture must be balanced with minimal callus interference for successful transplant establishment.

Among the evaluated rooting agents, 1-naphthaleneacetic acid (NAA) promoted the highest root number (55.3) and root quality index (154.9 cm) (Table 4), confirming its efficacy as a potent inducer of adventitious root formation. This response likely stems from NAA's enhanced stability in plant tissues, reduced susceptibility to enzymatic degradation, and prolonged persistence at the application site (da Costa et al., 2013; Raggi et al., 2020). However, this treatment also reduced shoot survival to 98.1 % (Table 4), suggesting phytotoxic effects potentially linked to ethanol solvent use, and the heightened sensitivity of etiolated tissues to elevated auxin concentrations (Amri, 2010; Grossmann, 2009; Ludwig-Müller, 2020). These findings underscore the need to balance rooting efficacy with tissue tolerance, particularly for etiolated shoots whose cell walls exhibit modified xyloglucan and pectin composition. Such alterations increase tissue flexibility but also enhance susceptibility to apoplastic pH imbalances when critical auxin thresholds are exceeded (Duman et al., 2020; Wang et al., 2025).

Table 4- Average values by type of rooting agent for the variables: percentage of shoot survival, percentage of rooting, rooting quality index, and percentage of callus presence in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'

Rooting agent	SP (%)	Rooting		PCP (%)
		Percentage	Quality Index (cm)	
IAA	100.0 a ²	94.2 a	40.1 c	68.86 ab
NAA	98.1 b	96.0 a	154.9 a	87.89 a
IBA	100.0 a	100.0 a	100.2 b	13.74 b
IBAK	100.0 a	94.2 a	34.0 c	68.86 ab
IBA + NAA	100.0 a	100.0 a	98.3 b	83.56 a
CV (%)	5.94	16.44	43.07	50.88
HLSD	1.57	10.20	50.36	37.09
Average	99.93	98.46	85.51	65.33

²Average values in the same column followed by different letters indicate statistical differences (Tukey, $P < 0.05$). IAA: indole-3-acetic acid; IBA: indole-3-butyric acid; NAA: 1-naphthalene acetic acid; IBAK: indole-3-butyric acid potassium salt; SP: Survival percentage; PCP: Percentage of callus presence; CV: Coefficient of variation; HLSD: Honest least significant difference.

In contrast, indole-3-acetic acid (IAA) and indole-3-butyric acid potassium salt (K-IBA) exhibited maximum survival rates (100 %) but produced limited root formation (14.9 and 14.4 roots, respectively; Table 5) and significantly lower root quality indices (Table 4). This reduced efficacy likely stems from IAA's inherent instability, being rapidly degraded by peroxidase enzymes and light exposure (Roussos, 2023; Yun et al., 2023). Furthermore, IAA readily forms biologically inactive conjugates with amino acids and sugars, substantially reducing its bioavailability and root-promoting activity (Pincelli-Souza et al., 2024).

Table 5- Mean values by rooting agent type for the variables number, length, and diameter of roots, and presence of secondary roots in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.

Rooting agent	Roots			SRP (%)
	Number	Length (cm)	Diameter (mm)	
IAA	14.92 c ²	2.29 b	1.49 a	80.7 a
NAA	55.29 a	2.83 ab	1.59 a	39.8 b
IBA	34.07 b	2.90 a	1.53 a	95.8 a
IBAK	14.40 c	2.27 b	1.6 a	58.7 a
IBA + NAA	32.11 b	3.03 a	1.77 a	58.7 a
CV (%)	38.37	16.77	22.06	44.17
HLSD	15.82	0.61	0.48	24.59
Average	30.16	2.67	1.59	57.33

²Average values in the same column followed by different letters indicate statistical differences (Tukey, $P < 0.05$). IAA: indole-3-acetic acid; IBA: indole-3-butyric acid; NAA: 1-naphthalene acetic acid; IBAK: indole-3-butyric acid potassium salt; SRP: Secondary roots presence; CV: Coefficient of variation; HLSD: Honest least significant difference.

While potassium indole-3-butyric acid potassium salt (K-IBA) offers greater stability than IAA and eliminates the need for organic solvents in solution preparation (Lesmes-Vesga et al., 2021), its efficacy as a rooting inducer appears constrained by distinct physiological transport limitations (Yang et al., 2022). In its ionic form, K-IBA demonstrates restricted apoplastic diffusion, significantly impeding passive transport to target cells near the application site in etiolated shoots. Effective mobilization instead requires active transport mechanisms (Roussos, 2023) mediated by specialized carrier proteins, including AUX1/LAX family influx transporters and PIN-FORMED (PIN) and ABCB efflux transporters, which collectively regulate auxin distribution across cellular membranes (Hammes et al., 2021). Crucially, K-IBA must undergo

conversion to its non-ionic (protonated) form to cross plasma membranes and subsequently trigger adventitious root formation (Pincelli-Souza et al., 2024), adding a metabolic conversion step that may delay or limit its biological activity compared to more mobile auxin forms.

In contrast, both IBA and the commercial IBA + NAA combination (Dip'N Grow®) demonstrated an optimal balance between shoot survival and root quality (Table 4), establishing them as viable candidates for clonal avocado propagation protocols. These rooting agents produced consistent, reliable responses particularly valuable for nurseries requiring both high rooting success and preservation of etiolated shoot viability. The observed performance suggests these formulations effectively navigate the critical compromise between root induction efficacy and minimal phytotoxicity, a decisive advantage for commercial scale production of 'Duke 7' rootstock.

The evaluation revealed significantly higher callus formation with NAA (87.9 %) and IBA+NAA (68.9 %) treatments compared to IBA alone (13.7 %) (Table 4), consistent with previous reports of synthetic auxins promoting unorganized tissue proliferation (Zhai and Xu, 2021). While callus formation may initially facilitate root primordia initiation, excessive development can negatively impact rooting success through three primary mechanisms: physical obstruction of emerging roots, disruption of normal root system architecture, and competition for essential metabolic resources that would otherwise support root growth (Chen et al., 2020).

The current study revealed that callus development was solely influenced by the type of rooting agent applied, with no consistent correlation observed between callus presence and root quantity. While NAA treatment produced both the highest callus formation (87.89 %) and root number (55.29), IBA which generated minimal callus (13.74 %) still induced intermediate root formation (34.04) (Tables 4 and 5).

Contrasting with findings in woody *Eucalyptus* species where adventitious roots originate from callus tissue (Fett-Neto et al., 2021; Zhang et al., 2022), our observations demonstrated direct root emergence

from stem tissue above the auxin application site, without visible callus involvement (Fig. 2). This response suggests etiolated 'Duke 7' shoots maintain an intrinsic capacity for direct rhizogenesis, a phenomenon previously documented in other avocado rootstocks like 'VC801' (Duman et al., 2020).

Morphological analysis revealed significant suppression of secondary root growth following NAA application (Fig. 2), likely due to auxin-induced temporal inhibition of lateral root development in primary root tissues. This phenomenon aligns with observations in *Arabidopsis thaliana* (Biswas et al., 2019), where supraoptimal auxin levels negatively affect lateral root formation through disruption of polar auxin transport in pericycle cells, cell cycle arrest in lateral root primordia, and downregulation of lateral root-promoting genes such as ARF7 and ARF19.

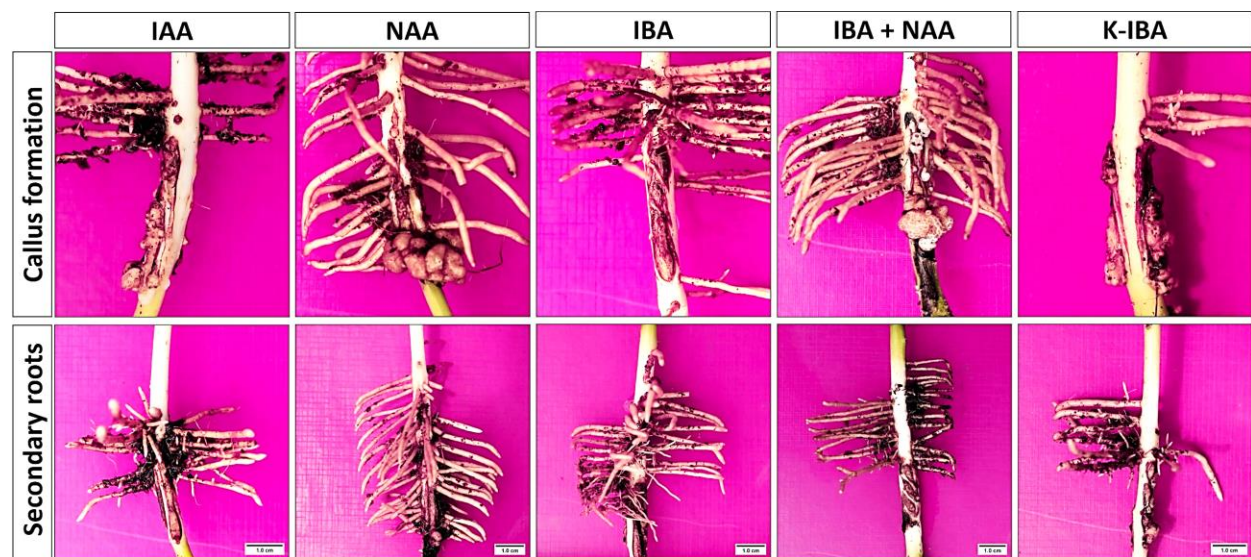


Fig. 2- Influence of five rooting agents on callus formation and secondary root development in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'. IAA: indole-3-acetic acid; IBA: indole-3-butyric acid; NAA: 1-naphthalene acetic acid; K-IBA: indole-3-butyric acid

While NAA effectively stimulates primary root formation in avocado rootstock 'Duke 7', our results indicate that higher concentrations may delay optimal root system development by inhibiting secondary branching. This architectural limitation presents key practical challenges: extended production timelines due to delayed shoot separation from nurse plants, and potential requirement for additional agronomic interventions (e.g., supplemental growth regulator treatments) to promote secondary root growth before

transplanting. These findings suggest that while NAA remains a potent rooting agent, commercial nurseries should carefully evaluate the trade-off between rapid root initiation and subsequent root system complexity when selecting auxin formulations for clonal propagation.

The findings of this study offer valuable guidance for optimizing clonal propagation of avocado rootstocks in commercial settings. For nurseries prioritizing root quantity, NAA emerges as the most effective option despite its tendency to reduce secondary root development. IBA presents a balanced alternative, producing intermediate root numbers (34.0) while maintaining excellent shoot survival rates (100 %), making it particularly suitable for operations where plant viability is paramount. The commercial IBA + NAA formulation (Dip'N Grow®) provides a practical ready-to-use solution that combines the benefits of both auxins while simplifying nursery workflows. Importantly, the results demonstrate that IAA and K-IBA are unsuitable for large-scale propagation due to their limited root induction capacity (14.9 and 14.4 roots respectively) and inherent biochemical instability. These evidence-based recommendations allow propagation specialists to select auxin treatments based on their specific production requirements, whether the priority is maximizing root biomass, ensuring transplant success, or streamlining operational efficiency.

These findings represent a significant advancement over traditional IBA-only protocols (Ernst, 1999), which typically employ high concentrations (34.4 mM). The demonstrated benefits of auxin diversification align with recent studies in other woody species like apple (*Malus* spp.) and mulberry (*Morus alba*), where combined auxin treatments have outperformed IBA in promoting adventitious root formation (Wang et al., 2024; Sourati et al., 2022).

The research confirms that auxin selection critically impacts not just rooting efficiency but also root system morphology, both determining factors for successful clonal propagation of avocado rootstocks. These

morphological qualities ultimately influence field establishment and long-term productivity of grafted trees.

3.3.3 *Effect of the concentration*

The study revealed significant auxin concentration effects on key root development, particularly root number. A clear dose-dependent response was observed, with progressive increases in root formation corresponding to higher auxin concentrations: from 24.6 roots per shoot at 24.6 mM to 37.6 roots at 44.2 mM (Table 7). This pattern aligns with classical auxin response curves reported in the literature (Nissen, 1985), where rooting typically improves with increasing auxin concentrations up to an optimal threshold, beyond which phytotoxic effects suppress root initiation (Nissen, 1985; Sahoo et al., 2021).

Historically, avocado clonal propagation has employed varying concentrations of auxins, particularly indole-3-butyric acid (IBA) as the most commonly used rooting agent. Reported applications range from 500 to 10,000 mg L⁻¹, equivalent to approximately 2.5-51.3 mM (Rogel-Castellanos et al., 2000; Mindêllo-Neto et al., 2006; Li et al., 2024). Significant cultivar-specific differences emerge from these protocols: in 'Duke 7', IBA application at 2,500 mg L⁻¹ achieved 56.6 % rooting success (Li et al., 2024), while 'Fuerte' required five-fold lower concentrations (500 mg L⁻¹) to reach 47.5 % efficacy (Mindêllo-Neto et al., 2006). Notably, the rootstock 'Dusa' demonstrated striking physiological-state dependence, with 82 % rooting in etiolated shoots versus less than 10 % in non-etiolated tissue at 2,500 mg·L⁻¹ (Li et al., 2024), highlighting the critical importance of the plant material's physiological condition in propagation success. These collective findings underscore the dual influence of genetic factors and tissue physiology in determining optimal auxin protocols for different avocado cultivars.

These historical precedents contrast sharply with the findings of the current study, where the tested concentration range (24.6 to 44.2 mM) achieved rooting success rates exceeding 95 % while maintaining shoot survival rates in most treatments (Table 3). Furthermore, the results demonstrate that precise

concentration adjustments can simultaneously maximize rooting efficiency and improve root system quality without inducing the severe adverse effects (particularly phytotoxicity) typically observed when exceeding optimal NAA dosages (Yan et al., 2014). This refined approach represents a significant improvement over traditional protocols, as it achieves near-universal rooting success while avoiding the compensatory trade-offs between root quantity and plant viability that characterize many existing methods. The study specifically identified 34.4 mM as the most balanced concentration for commercial applications, combining high rooting percentages (98.1 %) with excellent root architecture development and minimal callus formation (Tables 6 and 7).

Table 6- Mean values by rooting agent concentration for the variables: Survival percentage, rooting percentage, quality index, and callus presence percentage in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.

Concentration	SP (%)	Rooting		PCP (%)
		Percentage	Quality Index (cm)	
24.6 mM	100.00 a ²	98.91 a	71.74 a	75.00 a
34.4 mM	100.00 a	99.33 a	80.56 a	74.66 a
44.2 mM	99.30 a	96.55 a	104.24 a	58.42 a
CV (%)	5.94	16.44	43.07	50.88
HLSD	0.68	4.51	33.15	17.46
Average	99.93	98.46	85.51	65.33

²Average values in the same column followed by different letters indicate statistical differences (Tukey, $P < 0.05$). PS: Survival percentage; PCP: Percentage of callus presence; CV: Coefficient of variation; HLSD: Honest least significant difference.

The clonal propagation of 'Duke 7' rootstock has presented particular difficulties. Previous studies reported limited success, with only 26 % rooting after 180 days when using non-etiolated shoots treated with Dip'N Grow® at 3,000 mg L⁻¹ (approximately 15.2 mM equivalent) (Salazar-García et al., 2004b). Alternative approaches using IBA-saturated wood chips (10,000 mg L⁻¹) on etiolated shoots improved rooting to 60 % (Escobedo and Escobedo, 2011). In marked contrast, the current study demonstrates that optimized auxin selection and concentration in etiolated shoots can achieve 100 % rooting efficiency with

superior morphological quality, results that substantially surpass all previously reported values for this challenging rootstock. This breakthrough reflects both the importance of physiological preconditioning (etiolation) and precise auxin formulation in overcoming the historical propagation barriers for 'Duke 7'.

Table 7. Mean values by rooting hormone concentration for the variables number, length, and diameter of roots and presence of secondary roots in the rooting of etiolated shoots of the avocado rootstock 'Duke 7'.

Concentration	Roots			SRP (%)
	Number	Length (cm)	Diameter (mm)	
24.6 mM	24.62 b ^z	2.65 a	1.56 a	61.5 a
34.4 mM	28.24 ab	2.65 a	1.60 a	55.23 a
44.2 mM	37.62 a	2.71 a	1.62 a	55.23 a
CV (%)	38.37	16.77	22.06	44.17
HLSD	10.42	0.40	0.32	11.22
Average	30.16	2.67	1.59	57.33

^zAverage values in the same column followed by different letters indicate statistical differences (Tukey, $P < 0.05$). SRP: Secondary roots presence; CV: Coefficient of variation; HLSD: Honest least significant difference.

From a physiological perspective, the enhanced efficacy observed at higher auxin concentrations may stem from increased hormone availability at the application site, promoting activation of key genes involved in cellular differentiation (such as *WOX11/12*, *ARF*, and *LBD*) that are essential for adventitious root formation (Lakehal and Bellini, 2019; Li et al., 2022). However, this concentration-dependent effect was not uniform across all measured parameters. Callus formation, root length and diameter, and secondary root development showed no significant differences between concentrations (Tables 6 and 7), suggesting that structural root system quality may be modulated by additional factors beyond concentration alone, including auxin type, formulation characteristics, and local hormonal interactions (Druege et al., 2016; Lakehal and Bellini, 2019). These differential responses highlight the complex regulatory networks governing root organogenesis, where concentration primarily drives root initiation while other factors determine subsequent root architecture development.

3.3.4 Interactive effects of rooting agent type and concentration

The significant interaction between auxin type and concentration across multiple key rooting variables demonstrates that the morphogenic response of etiolated 'Duke 7' shoots depends not merely on the auxin type or applied dose in isolation, but rather on their specific combination (Tables 1 and 2). This interaction was particularly pronounced for critical parameters including: survival rate, rooting percentage, root length and diameter, and secondary root presence (Fig. 3).

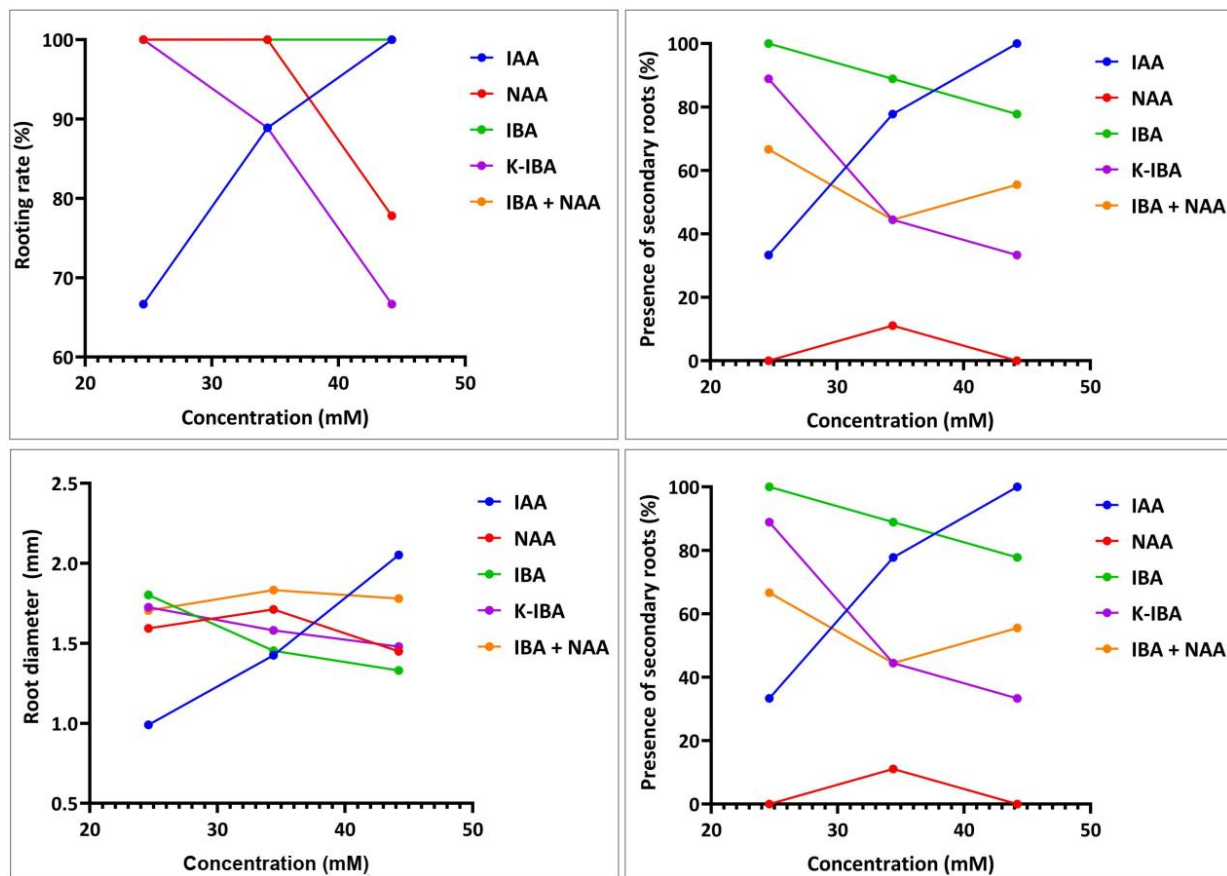


Fig. 3- Interaction of auxin type and concentration on rooting of etiolated shoots of avocado rootstock 'Duke 7'. IAA: indole-3-acetic acid, NAA: 1-naphthalene acetic acid, IBA: indole-3-butyric acid, K-IBA: indole-3-butyric acid potassium salt, IBA + NAA: indole-3-butyric acid + 1-naphthalene acetic acid (Dip'N Grow®).

The non-additive effects reveal complex phytohormonal regulation where certain auxin-concentration combinations synergistically enhance rhizogenesis while others exhibit antagonistic relationships, suggesting tissue-specific saturation thresholds for different auxin formulations. These findings

necessitate a dual-parameter optimization approach for clonal propagation protocols, as neither factor alone sufficiently predicts rooting performance.

In contrast to other treatments, increasing IAA concentrations showed a positive correlation with rooting percentage, improving from 66.6 % at 24.6 mM to 88.8 % at 34.4 mM, and reaching 100 % at 44.2 mM. For both IBA and the IBA + NAA combination (Dip'N Grow®) maintained consistent 100 % rooting across all three tested concentrations, indicating a broad efficacy window for these formulations. NAA exhibited optimal performance at 24.6 mM and 34.4 mM (100 % rooting), but efficacy declined to 77.7 % at 44.2 mM, likely reflecting phytotoxic effects at higher doses. Notably, K-IBA performed best at the lowest concentration (100 % at 24.6 mM), with progressively reduced rooting at higher levels (88.8 % at 34.4 mM and 66.6 % at 44.2 mM). These results clearly demonstrate the significant impact of the auxin type × concentration interaction on the rhizogenic response of etiolated avocado shoots (Fig. 3).

Previous studies have demonstrated that the transport and physiological activity of auxins can vary significantly depending on their structure and molecular form. For example, IBA undergoes conversion to both IAA and IBA conjugates during plant tissue transport, resulting in prolonged, multiphasic rooting promotion (Damodaran and Strader, 2019). In contrast, externally applied IAA tends to remain in its free form during transport, making it more susceptible to enzymatic inactivation and oxidative degradation (Hayashi et al., 2021). This difference may explain why IBA shows higher efficacy at lower concentrations, while IAA requires higher doses to induce comparable rooting responses.

NAA exhibits superior chemical stability compared to other auxins, allowing prolonged activity in plant tissues (da Costa et al., 2017). This stability stems from its synthetic molecular structure and likely involves specialized transporters that facilitate its movement and accumulation at target sites (Napier, 2021; Yang et al., 2006). Studies report that NAA resists rapid degradation or conjugation in plant tissues, enhancing its capacity to induce abundant root formation (Gomes and Scortecci, 2021; Nissen and Sutter, 1990) (Fig.

4). However, at 44.2 mM, NAA application resulted in the highest root numbers but reduced rooting percentage (77.8 %) and suppressed secondary root development (Fig. 4). These findings suggest that while certain formulations effectively promote primary root formation, they may also cause unintended effects like lateral root inhibition, potentially due to localized hormonal imbalance at the rooting site (Lakehal and Bellini, 2019; Bhalerao et al., 2002).

The interaction between auxin type and concentration significantly influenced primary root length. The greatest average length (31.19 mm) was achieved with the IBA + NAA combination (Dip'N Grow®) at 34.4 mM, suggesting a synergistic effect favoring root elongation. In contrast, the shortest roots formed with K-IBA at 34.4 mM (17.46 mm) and IAA at 24.6 mM (17.22 mm), indicating reduced efficacy in promoting cellular elongation under these specific conditions. For the remaining treatments, no statistically significant differences were observed, with an average length of 27.83 mm, suggesting a more uniform response across these combinations (Fig. 3).

Root diameter was similarly affected by concentration, particularly in the case of IAA. At 24.6 mM, IAA produced thinner roots (0.97 mm), while at 34.4 mM, it generated thicker roots (2.05 mm), demonstrating a dose-dependent response in radial root expansion. The other auxins, regardless of concentration, produced roots of intermediate diameter, averaging 1.60 mm with no statistical differences between treatments, indicating more stable growth patterns in terms of root thickness (Fig. 3).

The rooting agent type and concentration interaction exerted a clear effect on secondary root formation. NAA consistently restricted lateral root development across all three tested concentrations (Fig. 4), likely due to its potent hormonal activity and potential induction of apical dominance or excessive local accumulation in basal tissues (Aloni et al., 2006). Recent studies indicate that synthetic auxins like NAA exhibit enhanced stability and tissue persistence, creating strong but localized hormonal signaling that may suppress lateral root initiation through downregulation of LATERAL ORGAN BOUNDARIES DOMAIN

(LBD) transcription factors critical for adventitious rooting, and prolonged activation of AUX/IAA repressor proteins that inhibit auxin-dependent gene expression by blocking ARF transcription factors (Lakehal and Bellini, 2019; Jing and Strader, 2019). This dual regulation at the genetic level explains NAA's capacity to simultaneously promote primary root growth while inhibiting secondary root formation.

In contrast, IAA demonstrated a positive and progressive effect on secondary root formation as concentration increased, likely attributable to its lower stability. This auxin undergoes rapid metabolic conversion or conjugation, preventing excessive accumulation while enabling dynamic tissue transport, characteristics that facilitate lateral root differentiation (Casanova-Sáez et al., 2021; Zhang et al., 2023).

These findings underscore the importance of developing tailored propagation protocols that carefully consider both auxin type and optimal concentration for specific plant materials. For commercial nurseries where consistency and productivity are paramount, pre-mixed formulations such as IBA+NAA (Dip'N Grow®) may serve as practical solutions, though they require precise concentration adjustments to prevent phytotoxic effects in sensitive etiolated tissues. Critical implementation considerations include establishing appropriate concentration thresholds for different auxin combinations, accounting for tissue-specific sensitivity variations, and carefully balancing the trade-offs between root quantity and overall root system quality. The research demonstrates that successful clonal propagation depends on this multifaceted optimization approach rather than relying on standardized auxin applications.

The significant interaction between auxin type and concentration conclusively refutes the concept of a "universal dose" suitable for all rootstocks or growing conditions. This research instead provides empirical evidence supporting the development of customized propagation protocols through careful refinement of auxin formulations, adjustments based on the physiological state of plant material, and optimization of multiple interdependent parameters.



Fig. 4- Rooting of etiolated shoots of 'Duke 7' rootstock with the application of IAA (indole-3-acetic acid), NAA (1-naphthalene acetic acid), IBA (indole-3-butyric acid), K-IBA (indole-3-butyric acid potassium salt) and IBA + NAA (indole-3-butyric acid + 1-naphthalene acetic acid) at three concentrations. ANR: average number of roots; Scale bar: 1.0 cm.

These insights prove particularly valuable for enhancing clonal propagation of difficult-to-root rootstocks such as 'Duke 7', where well-balanced root system architecture critically determines subsequent field performance. The data-driven methodology established in this study could be effectively adapted to improve propagation protocols for other commercially significant avocado cultivars, potentially revolutionizing nursery production standards through science-based precision agriculture approaches.

3.4 Conclusions

The results demonstrated that auxin type and concentration significantly and differentially influenced adventitious root induction in etiolated shoots of 'Duke 7' avocado rootstock. These effects were evident in both rooting percentages and the morphological quality of the root system.

NAA promoted the highest root number and quality index, but also induced substantial callus formation and reduced secondary root development, suggesting potential phytotoxicity at elevated concentrations. In contrast, IAA showed a more balanced dose-dependent response and enhanced secondary root growth, while IBA and its commercial formulation with NAA (IBA + NAA) provided stable and reliable performance.

Auxin concentration modulated rooting efficiency, with dose-dependent physiological responses being most pronounced for IAA and K-IBA. The tested concentration range (24.6–44.2 mM) proved effective for rooting (>95 %) while maintaining shoot survival in most treatments.

A clear auxin type × concentration interaction was observed, emphasizing the need for genotype (and physiological state) specific optimization of both factors. The responses documented are not universal and must be considered when designing propagation protocols for avocado rootstocks.

The combination of etiolated shoots with properly selected and dosed auxins achieved 100 % rooting in certain treatments, surpassing results from traditional protocols. These findings represent significant progress toward standardizing and optimizing clonal propagation of 'Duke 7' for commercial production.

Practical Implications

This study provides experimental evidence for developing more efficient, reproducible, and economically viable protocols applicable in commercial nurseries. By improving the availability of clonal avocado rootstocks, these advances will enhance the sustainability and competitiveness of avocado production systems. The optimized protocols specifically address three industry needs: consistent rooting success, superior root system architecture, and scalable production methods. Future research should explore applications to other commercially important rootstock varieties while maintaining the precision agriculture approach demonstrated here.

3.5 References

- ALONI R., ALONI E., LANGHANS M., ULLRICH C.I. (2006) - *Role of cytokinin and auxin in shaping root architecture: regulating vascular differentiation, lateral root initiation, root apical dominance and root gravitropism*. - Ann. Bot., 97(5): 883–893.
- AMRI E. (2010) - *Viable options and factors in consideration for low cost vegetative propagation of tropical trees*. - Int. J. Bot., 6(2): 187–193.
- BARRIENTOS-PRIEGO A.F., 2017 - *Presente y futuro de los portainjertos y variedades de aguacate en el mundo y México*. - Proc. Fifth Lat. Am. Avocado Congr., 2-15.
- BHALERAO R.P., EKLÖF J., LJUNG K., MARCHANT A., BENNETT M., SANDBERG G. (2002) - *Shoot-derived auxin is essential for early lateral root emergence in Arabidopsis seedlings*. - Plant J., 29(3): 325–332.
- BISWAS M.S., FUKAKI H., MORI I.C., NAKAHARA K., MANO J. (2019) - *Reactive oxygen species and reactive carbonyl species constitute a feed-forward loop in auxin signaling for lateral root formation*. - Plant J., 100(3): 536–548.
- CASANOVA-SÁEZ R., MATEO-BONMATÍ E., LJUNG K. (2021) - *Auxin metabolism in plants*. - Cold Spring Harb. Perspect. Biol., 13(3): a039867.
- CASTRO M., FASSIO C., CRUZ R. (2021) - *Efecto del tamaño de la semilla nodriza en el enraizamiento de paltos clonales*. - Mem. VI Congr. Latinoam. Aguacate, 1–6.
- CHEN W., HE L., TIAN S., MASABNI J., XIONG H., ZOU F., YUAN D. (2020) - *Factors involved in the success of Castanea henryi stem cuttings in different cutting mediums and cutting selection periods*. - J. For. Res., 32(4): 1627–1639.
- DA COSTA C.T., DE ALMEIDA M.R., RUEDELL C.M., SCHWAMBACH J., MARASCHIN F.S., FETT-NETO A.G. (2013) - *When stress and development go hand in hand: main hormonal controls of adventitious rooting in cuttings*. - Front. Plant Sci., 4: 133.

- DA COSTA C.T., PEDEBOS C., VERLI H., FETT-NETO A.G. (2017) - *The role of Zn²⁺, dimerization and N-glycosylation in the interaction of Auxin-Binding Protein 1 (ABP1) with different auxins*. - *Glycobiology*, 27(12): 1109–1119.
- DAMODARAN S., STRADER L.C. (2019) - *Indole 3-butyric acid metabolism and transport in Arabidopsis thaliana*. - *Front. Plant Sci.*, 10: 851.
- DRUEGE U., FRANKEN P., HAJIREZAEI M.R. (2016) - *Plant hormone homeostasis, signaling, and function during adventitious root formation in cuttings*. - *Front. Plant Sci.*, 7: 381.
- DUMAN Z., HADAS-BRANDWEIN G., ELIAHU A., BELAUSOV E., ABU-ABIED M., YESELSON Y., FAIGENBOIM A., LICHTER A., IRIHIMOVITCH V., SADOT E. (2020) - *Short de-etiolation increases the rooting of VC801 avocado rootstock*. - *Plants*, 9(11): 1481.
- ERNST A.A., WHILEY A.W., BENDER G.S. (2013) - *Propagation*, pp. 234–267. - In: SCHAFER B.A., WOLSTENHOLME B.N., WHILEY A.W. (eds.) *The avocado: botany, production and uses*. - CABI Int. Press, Wallingford, UK.
- ESCOBEDO V., ESCOBEDO J.A. (2011) - *Adventitious root formation without rooting medium in etiolated shoots of 'Duke' avocado (Persea americana) growing on nurse plants*. - *Acta Hortic.*, 923: 227–232.
- FETT-NETO A.G., FETT J.P., GOULART L.W.V., PASQUALI G., TERMIGNONI R.R., FERREIRA A.G. (2001) - *Distinct effects of auxin and light on adventitious root development in Eucalyptus saligna and Eucalyptus globulus*. - *Tree Physiol.*, 21(7): 457–464.
- FROLICH E.F., PLATT R.G. (1972) - *Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings*. - *Calif. Avocado Soc. Yearb.*, 55: 97–109.
- GLEESON M., MITTER N., CARROLL B. (2016) - *Etiolation-mediated regulation of adventitious rooting in avocado*. - *Acta Hortic.*, 1110: 35–40.
- GOMES G.L.B., SCORTECCI K.C. (2021) - *Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms*. - *Plant Biol.*, 23(6): 894–904.
- GROSSMANN K. (2009) - *Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action*. - *Pest Manag. Sci.*, 66: 113–120.
- HAMMES U.Z., MURPHY A.S., SCHWECHHEIMER C. (2021) - *Auxin transporters—a biochemical view*. - *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 14(2): a039875.
- HAYASHI K., ARAI K., AOI Y., TANAKA Y., HIRA H., GUO R., HU Y., GE C., ZHAO Y., KASAHARA H., FUKUI K. (2021) - *The main oxidative inactivation pathway of the plant hormone auxin*. - *Nat. Commun.*, 12: 6752.
- HOFSHI R. (1996) - *Experiments with cloning avocado rootstocks*. - *Calif. Avocado Soc. Yearb.*, 80: 103–108.
- JING H., STRADER L.C. (2019) - *Interplay of auxin and cytokinin in lateral root development*. - *Int. J. Mol. Sci.*, 20(3): 486.
- KORASICK D.A., ENDERS T.A., STRADER L.C. (2013) - *Auxin biosynthesis and storage forms*. - *J. Exp. Bot.*, 64(9): 2541–2555.

- LAKEHAL A., BELLINI C. (2019) - *Control of adventitious root formation: insights into synergistic and antagonistic hormonal interactions*. - *Physiol. Plant.*, 165(1): 90–100.
- LESMESS-VESGA R.A., CHAPARRO J.X., SARKHOSH A., RITENOUR M.A., CANO L.M., ROSSI L. (2021) - *Effect of propagation systems and indole-3-butyric acid potassium salt (K-IBA) concentrations on the propagation of peach rootstocks by stem cuttings*. - *Plants*, 10(6): 1151.
- LI W., MA X., WANG S., HUANG W., JIANG M. (2024) - *The leafy-stem-buried etiolation contributed to the high efficiency of rootstock vegetative propagation in avocado (Persea americana)*. - *Horticulturae*, 10(7): 770.
- LUDWIG-MÜLLER J. (2020) - *Synthesis and hydrolysis of auxins and their conjugates with different side-chain lengths: are all products active auxins?* - *Period. Biol.*, 121–122(3–4): 81–96.
- MEDINA-URRUTIA V.M., BALTAZAR-LORENZO E., VIRGEN-CALLERO G., PIMIENTA-BARRIOS E. (2017) - *Factores bióticos y abióticos que afectan la adaptación y crecimiento en plantaciones jóvenes de aguacate en Sayula, Jalisco, México*. - *Mem. V Congr. Latinoam. Aguacate*, 281–291.
- MELNYK C.W. (2016) - *Plant grafting: insights into tissue regeneration*. - *Regen.*, 4(1): 3–14.
- MINDÊLLO-NETO U.R., HIRANO E., TELLES C.A., BIASI L.A. (2006) - *Propagação de abacateiro cv. Forte por estacas herbáceas*. - *Sci. Agrar.*, 7(1): 101.
- NAPIER R. (2021) - *The story of Auxin-Binding Protein 1 (ABP1)*. - *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, 13: a039909.
- NISSEN S., SUTTER E. (1990) - *Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture procedures*. - *HortSci.*, 25(7): 800–802.
- OCHOA-FUENTES Y.M., MARTÍNEZ-DE LA VEGA O., OLALDE-PORTUGAL V., CERNA-CHÁVEZ E., LANDEROS-FLORES J., HERNÁNDEZ-CASTILLO F.D., FLORES-OLIVAS A. (2007) - *Genetic variability of Phytophthora cinnamomi Rands in Michoacan, Mexico*. - *Rev. Mex. Fitopatol.*, 25(2): 161–166.
- PACURAR D.I., PERRONE I., BELLINI C. (2014) - *Auxin is a central player in the hormone cross-talks that control adventitious rooting*. - *Physiol. Plant.*, 151(1): 83–96.
- POP T.I., PAMFIL D., BELLINI C. (2011) - *Auxin control in the formation of adventitious roots*. - *Not. Bot. Horti Agrobot. Cluj-Napoca*, 39(1): 307–316.
- SALAZAR-GARCÍA S., ROCHA-ARROYO J.L., IBARRA-ESTRADA M.E., BÁRCENAS-ORTEGA A.E. (2015) - *Fenología de la raíz del aguacate 'Hass' en varios climas de Michoacán*. - *Proc. Eighth World Avocado Congr.*, 277–283.
- SALAZAR-GARCÍA S., VELASCO-CÁRDENAS J.J., MEDINA-TORRES R., GÓMEZ-AGUILAR J.R. (2004a) - *Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. I. Prendimiento y crecimiento de injertos*. - *Rev. Fitotec. Mex.*, 27(1): 23–30.
- SALAZAR-GARCÍA S., VELASCO-CÁRDENAS J.J., MEDINA-TORRES R., GÓMEZ-AGUILAR J.R. (2004b) - *Selecciones de aguacate con potencial de uso como portainjertos. II. Respuesta al enraizamiento mediante acodos*. - *Rev. Fitotec. Mex.*, 27(2): 183–190.
- SHIN J., SEO P.J. (2018) - *Varying auxin levels induce distinct pluripotent states in callus cells*. - *Front. Plant Sci.*, 9(871): 1653.

- TAHIR M.M., MAO J., LI S., LI K., LIU Y., SHAO Y., ZHANG D., ZHANG X. (2022) - *Insights into factors controlling adventitious root formation in apples*. - Horticulturae, 8(4): 276.
- YANG Y., HAMMES U.Z., TAYLOR C.G., SCHACHTMAN D.P., NIELSEN E. (2006) - *High-affinity auxin transport by the AUX1 influx carrier protein*. - Curr. Biol., 16(11): 1123–1127.
- WANG D., WANG G., SUN S., LU X., LIU Z., WANG L., TIAN W., LI Z., LI L., GAO Y., WANG K. (2024) – *Research progress on cuttings of Malus rootstock resources in China*. – Horticulturae, 10(3): 217.
- WANG J., JIN D., DENG Z., ZHENG L., GUO P., JI Y., SONG Z., ZENG H.Y., KINOSHITA T., LIAO Z., CHEN H., DENG X.W., WEI N. (2025) – *The apoplastic pH is a key determinant in the hypocotyl growth response to auxin dosage and light*. – Nat. Plants, 11: 279–294.
- YAN Y.-H., LI J.-L., ZHANG X.-Q., YANG W.-Y., WAN Y., MA Y.-M., ZHU Y.-Q., PENG Y., HUANG L.-K. (2014) – *Effect of naphthalene acetic acid on adventitious root development and associated physiological changes in stem cutting of Hemarthria compressa*. – PLoS ONE, 9(3): e90700.
- YUN F., LIU H., DENG Y., HOU X., LIAO W. (2023) – *The role of light-regulated auxin signaling in root development*. – Int. J. Mol. Sci., 24(6): 5253.
- ZHAI R., XU L. (2021) – *Pluripotency acquisition in the middle cell layer of callus is required for organ regeneration*. – Nat. Plants, 7(11): 1453–1460.
- ZHAO Y., CHEN Y., JIANG C., LU M.-Z., ZHANG J. (2022) – *Exogenous hormones supplementation improve adventitious root formation in woody plants*. – Front. Bioeng. Biotechnol., 10: 1009531.
- ZHANG Y., BERMAN A., SHANI E. (2023) – *Plant hormone transport and localization: signaling molecules on the move*. – Annu. Rev. Plant Biol., 74(1): 453–479.
- ZHANG Y., LI J., LI C., CHEN S., TANG Q., XIAO Y., ZHONG L., CHEN Y., CHEN B. (2022) – *Gene expression programs during callus development in tissue culture of two Eucalyptus species*. – BMC Plant Biol., 22(1): 1–18.

4. OPTIMIZACIÓN DE LA PROPAGACIÓN CLONAL DE AGUACATE MEDIANTE LA APLICACIÓN DE BIOESTIMULANTES A LA PLANTA MADRE

OPTIMIZACIÓN DE LA PROPAGACIÓN CLONAL DE AGUACATE MEDIANTE LA APLICACIÓN DE BIOESTIMULANTES A LA PLANTA MADRE

M. Martínez-Villagómez¹, A. F. Barrientos-Priego^{1*}, J. O. Mascorro-Gallardo¹, G. Iturriaga², M. de la C. Espíndola-Barquera³

¹Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Km 38.5 Carr. México-Texcoco, Texcoco, México. C.P. 56230.

²División de Estudios de Posgrado e Investigación, Tecnológico Nacional de México/I.T. Roque, Km. 8 Carretera Celaya-Juventino Rosas, Roque, Celaya, México. C.P. 38110.

³Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S. C., Ignacio Zaragoza, Col. Centro, Coatepec Harinas, estado de México, México. C.P. 51700.

*Corresponding author: abarrientosp@chapingo.mx

Resumen

La propagación clonal de portainjertos de aguacate es fundamental para garantizar la uniformidad y tolerancia del cultivo a factores adversos, aunque enfrenta desafíos importantes durante la etapa de enraizamiento. En este estudio se evaluó el efecto de tres bioestimulantes (L-aminoácidos, extractos de algas marinas y *Trichoderma harzianum*) sobre el vigor y productividad de plantas madre donadoras de vareta, así como en el enraizamiento de los portainjertos 'Duke 7', 'Zutano', 'Day' y 'Velvick'. El objetivo fue determinar si estos tratamientos pueden mejorar el rendimiento, la calidad del material vegetal y su respuesta en la fase de enraizamiento. Los resultados mostraron que la aplicación de L-aminoácidos promovió incrementos significativos en el número de varetas por planta, el número de yemas por vareta y número total de injertos obtenidos por planta donadora, en comparación con el testigo. En cuanto al enraizamiento, la respuesta fue dependiente del genotipo: 'Duke 7' y 'Zutano' alcanzaron porcentajes elevados (100 % y 95.8 %, respectivamente), mientras que 'Day' (72.9 %) y especialmente 'Velvick' (31.2 %) presentaron limitaciones importantes en la formación de raíces. Los tres bioestimulantes incrementaron tanto el número como la calidad de raíces en 'Duke 7'; en 'Zutano', el tratamiento con L-aminoácidos fue el más efectivo; sin embargo, en 'Day' y 'Velvick' los tratamientos no mostraron efectos positivos relevantes. En conjunto, esta investigación demostró que la aplicación de L-aminoácidos y *T. harzianum* mejora significativamente el rendimiento y calidad de las plantas madre donadoras de vareta, lo que representa una contribución relevante al manejo agronómico de los portainjertos evaluados.

Palabras clave: propagación clonal, enraizamiento, L-aminoácidos, *Trichoderma harzianum*, extractos de algas marinas

OPTIMIZATION OF AVOCADO CLONAL PROPAGATION BY APPLICATION OF BIOSTIMULANTS TO THE MOTHER PLANT

Abstract

The clonal propagation of avocado rootstocks is imperative to ensure genetic uniformity and tolerance to adverse environmental conditions. However, this process poses significant challenges during the rooting phase. The present study evaluated the effects of three biostimulants (L-amino acids, seaweed extracts, and *Trichoderma harzianum*) on the vigor and productivity of mother plants used as scion wood donors, as well as on the rooting performance of four rootstock genotypes: 'Duke 7', 'Zutano', 'Day', and 'Velvick'. The objective of this study was to ascertain the potential of these treatments to enhance plant yield, scion quality, and rooting capacity. The results demonstrated that L-amino acids significantly augmented the number of scions per plant, buds per scion, and total graftable shoots per donor plant in comparison to the control. The responses to rooting exhibited a clear genotype-dependent pattern. In this regard, 'Duke 7' and 'Zutano' demonstrated high rates of rooting (100 % and 95.8 %, respectively), while 'Day' (72.9 %) and, most notably, 'Velvick' (31.2 %) exhibited significant limitations in this process. The application of all three biostimulants resulted in enhanced root proliferation and quality in the 'Duke 7' cultivar. However, the efficacy of L-amino acids was particularly pronounced in the 'Zutano' cultivar. In contrast, none of the treatments significantly enhanced rooting in 'Day' or 'Velvick'. This study demonstrates that the application of L-amino acids and *T. harzianum* can enhance the productivity and quality of scion-donor mother plants. This finding provides a foundation for the agronomic management of avocado rootstocks.

Keywords: clonal propagation, rooting, L-amino acids, *Trichoderma harzianum*, seaweed extract

4.1 Introducción

La propagación de portainjertos clonales de aguacate (*Persea americana* Mill.) es crucial para asegurar la uniformidad de las plantas (Mickelbart et al., 2007; Ben-Ya'acov & Zilberstaine, 1999a) y desempeña un papel fundamental en la solución de diversos desafíos en la producción de este cultivo. Estos desafíos incluyen la ocurrencia de *Phytophthora cinnamomi* Rands (Menge et al., 2012; Wolstenholme, 2003), la presencia de sales (Acosta-Rangel et al., 2019) y otros factores de estrés del suelo, como la alcalinidad y la falta de aireación (Ben-Ya'acov et al., 1992a). Además, la propagación clonal permite mejoras en la eficiencia de la absorción de

nutrientes (Lazare et al., 2019) y también contribuye a obtener mayores rendimientos y una mejor calidad de la fruta (Menzel & Le Lagadec, 2014).

La eficacia de la propagación clonal en portainjertos de aguacate presenta una variabilidad considerable, que depende de las metodologías y condiciones ambientales (Platt, 1976; Ernst, 1999; Tripathi & Karunakaran, 2019). Los portainjertos clonales de aguacate muestran una diferencia significativa en sus capacidades de enraizamiento (Hiti-Bandaralage et al., 2022), y varias investigaciones destacan la importancia de la etiolación (Gleeson et al., 2016) y el uso de auxinas para lograr el éxito en su multiplicación (Li et al., 2024; Rogel-Castellanos et al., 2000). El método de propagación vegetativa utilizado a nivel mundial para producir portainjertos clonales de aguacate se basa en las técnicas de etiolación y acodo (Darrouy et al., 2010). Este método presenta su propio conjunto de desafíos, y la etapa de enraizamiento es considerada la más crítica, lo que ha incentivado la búsqueda continua de estrategias para mejorarla (Estay et al., 2016).

Un enfoque poco explorado para mejorar el proceso de enraizamiento de los cultivares de aguacate usados como portainjertos es el manejo de las plantas donadoras de varetas, porque puede influir en la formación de raíces adventicias, debido a que la nutrición de las plantas donadoras determina la calidad del material vegetal que se utiliza en el proceso de clonación (Santos et al., 2011). Además, se ha señalado que los carbohidratos en el enraizamiento tienen un papel regulador importante (Corrêa et al., 2005) y su acumulación en las plantas donadoras también sería dependiente del manejo que reciban. Una alternativa para promover una mejor calidad de varetas en las plantas donadoras de diferentes cultivares de aguacate es la aplicación de bioestimulantes a las plantas madre lo que podría aumentar el vigor y la productividad del material vegetal, y a su vez conduciría a mayores porcentajes de éxito en la propagación clonal.

Estudios recientes han demostrado que ciertos bioestimulantes pueden mejorar el enraizamiento (Pacholczak & Nowakowska, 2020) al promover mayor vigor en las plantas madre y mejorar su equilibrio hormonal (Kim et al., 2019). El objetivo fue evaluar los efectos de tres bioestimulantes sobre el vigor y rendimiento de las

plantas madre donadoras de vareta de 'Duke 7', 'Zutano', 'Day' y 'Velvick', así como determinar la influencia de la bioestimulación en el proceso de propagación clonal.

4.2 Materiales y Métodos

4.2.1 Ubicación del experimento y material vegetal

El presente trabajo se llevó a cabo de 2021 a 2024 en un invernadero ubicado en Chapingo, Texcoco, Estado de México (19.4904322, -98.8734917), a 2264 m de altitud. Para producir las plantas madre (donadoras de vareta) se utilizó un lote de semillas de aguacate antillano procedente de Veracruz. Las semillas se sembraron el 10 de agosto de 2021 en bolsas de polietileno de 1000 cm³ de capacidad, llenadas con un sustrato conformado por una mezcla de arena de río y suelo agrícola 1:1 (v:v) desinfectada con un tratamiento térmico (vapor de agua a >90 °C) durante 60 minutos. Cuando los tallos alcanzaron un diámetro de aproximadamente 6 mm, se injertaron con vareta de los portainjertos 'Duke 7', 'Zutano', 'Day' y 'Velvick' el 26 de octubre de 2021. Durante el periodo de prendimiento los injertos se cubrieron con bolsas de plástico transparente para evitar la deshidratación del tejido vegetal. Desde el momento de la brotación de los injertos y hasta que alcanzaron una altura aproximada de 80 cm, las plantas donadoras recibieron riegos periódicos para mantener la humedad y la prevención de daños por plagas y enfermedades se realizó con aplicaciones de insecticida (lambdacialotrina 0.04 mL·L⁻¹) y fungicida (benomilo 1.0 g·L⁻¹).

4.2.2 Establecimiento y manejo de las plantas madre

Las plantas madre se establecieron el 19 de diciembre de 2022, en contenedores de policloruro de vinilo (Air-grower de 28 L), en un sustrato que consistió en una mezcla de roca volcánica, turba, perlita, corteza de pino compostada y suelo agrícola (2:1:1:1:1; v:v:v:v:v) con un pH de 7.0 y conductividad eléctrica (CE) de 0.5 dS m⁻¹. Las macetas se ubicaron a una distancia de 60 × 30 cm para mantener la humedad y disponibilidad de nutrimentos en el sustrato, las plantas se fertilizaron periódicamente, con solución nutritiva balanceada (Cuadro 1) con un pH de 6.0 y CE de 1.2 dS m⁻¹.

Cuadro 1. Solución nutritiva utilizada para el cultivo de plantas de aguacate durante el ciclo del experimento.

Macronutrientes (mg L ⁻¹)						Micronutrientes (mg L ⁻¹)					
NO ₃ ⁻	H ₂ PO ₄ ⁻	SO ₄ ²⁻	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Fe	Mn	Cu	Zn	B	Mo
80	16	56	136	90	24	3.1	0.5	0.03	0.05	0.5	0.05

La sanidad de las plantas se supervisó durante el experimento y se hicieron aplicaciones foliares de fungicida (oxicloruro de cobre 2.5 g·L⁻¹) alternadas con insecticida (imidacloprid 1.0 mL·L⁻¹) para prevenir el daño por plagas. Las plantas se dejaron crecer libremente durante siete meses antes de iniciar la aplicación de los tratamientos de bioestimulación. Durante la aplicación y evaluación del efecto de los tratamientos, la temperatura media dentro del invernadero fue de 18.7 °C y presentó su valor mínimo durante enero de 2024 (13.2 °C) y máximo durante mayo del mismo año (23.6 °C); mientras que la humedad relativa se mantuvo entre el 42.2 y 83.6 % durante esta investigación (Figura 1).

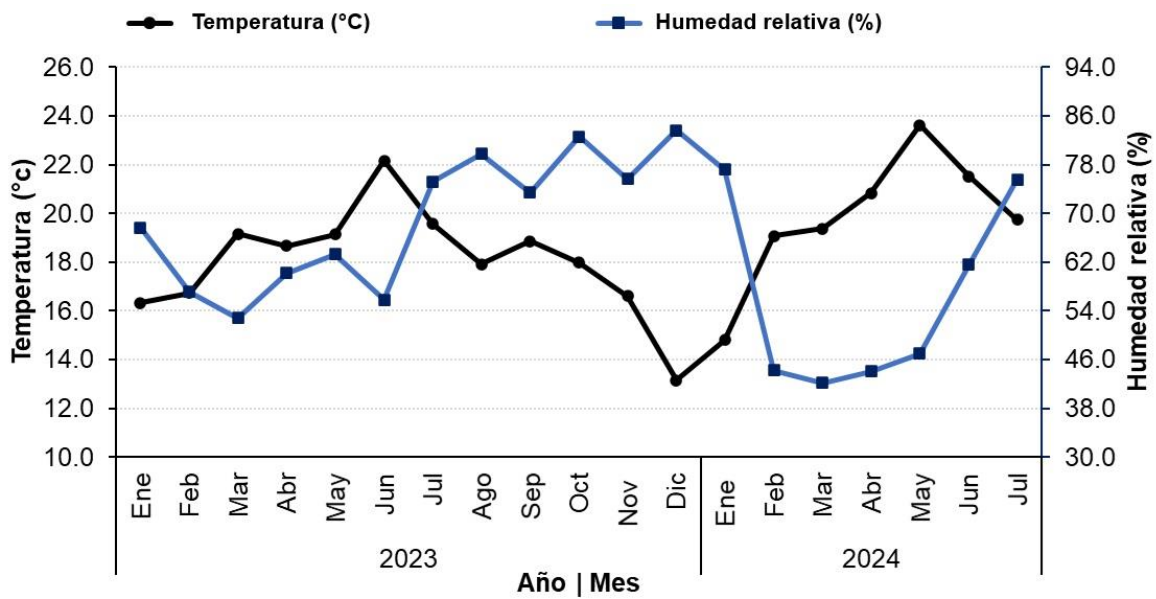


Figura 1. Fluctuación de la temperatura y humedad relativa dentro del invernadero durante la evaluación experimental.

4.2.3 Diseño experimental y aplicación de tratamientos

Se realizó un arreglo factorial 4×4 en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones. El factor bioestimulante consistió en cuatro niveles (B1: Testigo, B2: L-aminoácidos, B3: extractos de algas marinas (EAM) y B4: *Trichoderma harzianum* y el factor cultivar en cuatro niveles (C1: 'Duke 7', C2: 'Zutano', C3: 'Day' y C4: 'Velvick'). La unidad experimental fue de tres plantas donadoras de vareta.

Los tratamientos bioestimulantes (Cuadro 2) se aplicaron durante siete meses (junio a diciembre de 2023), semanalmente se suministró un volumen de 250 mL de las soluciones respectivas, en la base del tallo de las plantas correspondientes. Las dosis de aplicación fueron B1: $0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$; B2: $2.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$; B3: $3.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ y B4: $3.0 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$. Los valores de pH y CE ($\text{dS} \cdot \text{m}^{-1}$) se determinaron en cada aplicación y presentaron los valores promedio: B1: 5.8, $0.24 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$; B2: 6.3, $1.28 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$; B3: 7.0, $1.43 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$; B4: 5.8, $0.22 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}$. Previo a la preparación de las soluciones, el agua se acidificó a 5.8 con un regulador de pH ($0.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$).

Cuadro 2. Composición de los bioestimulantes evaluados.

Bioestimulante	Composición y concentración (%)
Testigo	Agua de riego acidificada (pH: 5.8)
L-aminoácidos	Glicina (15.13), alanina (6.91), ácido glutámico (6.61), prolina (6.20), lisina (5.02), ácido aspártico (2.44), leucina (2.10), valina (1.77), fenilalanina (1.27), isoleucina (0.62), metionina (0.52), arginina (0.36), tirosina (0.31), serina (0.29), treonina (0.20), cisteína (0.20), histidina (0.15).
Extractos de algas marinas	Extractos de: <i>Ascopylum nodosum</i> , <i>Sargassum</i> , <i>Laminaria</i> , <i>Macrosistis pirifera</i> <i>Egregia menzies</i> (82.54), potasio (5.30), ácido algínico (5.0), azufre (3.5), nitrógeno (3.0), calcio (0.4), magnesio (0.15), fósforo (0.10), hierro (0.0025), boro (0.0030), cobre (0.0002).
<i>Trichoderma harzianum</i>	1.0×10^{11} esporas viables de <i>T. harzianum</i> (0.45).

4.2.4 Evaluación de enraizamiento

En enero de 2024 (05 al 12) se colectaron varetas de las plantas donadoras y se injertaron en plántula nodrizas de aguacate antillano. De cada tratamiento de bioestimulación se injertaron 20 plantas, la unidad experimental estuvo conformada por cinco plantas y se evaluaron cuatro repeticiones. Para los injertos se emplearon secciones de vareta con dos yemas, que se cubrieron con bolsas de polietileno transparente de 5 × 8 cm. Las heridas de corte de los segmentos de vareta se cubrieron con la aplicación de pegamento blanco.

Desde el 01 de febrero de 2024, cuando las yemas de los injertos iniciaron la brotación, las plantas se colocaron en un cuarto de etiolación (con temperatura promedio de 25.8 °C y humedad relativa de 64.5 %) y se mantuvieron en condiciones de oscuridad hasta que los brotes etiolados alcanzaron una longitud de 25 a 30 cm, a partir del 21 de febrero de 2024. Desde este momento los brotes etiolados se lesionaron con una segueta de corte, en la base de cada uno, se provocó una herida de aproximadamente 2 cm de longitud y sobre el corte se aplicaron 50 µL de enraizador (Dip'N Grow: 5000 mg L⁻¹ de ácido indolbutírico + 2500 mg L⁻¹ de ácido naftalenacético). Cada brote se colocó dentro de un contenedor de plástico transparente con 150 cm³ de capacidad que fue rellenado con polvillo de coco húmedo. Las plantas acodadas se mantuvieron en un espacio con sombra y se regaron periódicamente. La evaluación del enraizamiento se realizó 85 días después de la aplicación del enraizador y se inició el 16 de mayo de 2024.

4.2.5 Variables evaluadas

Al concluir el periodo de aplicación de los bioestimulantes, se evaluaron las siguientes variables: número de varetas por planta, número de yemas por vareta, número de injertos por vareta, número de injertos por planta donadora, longitud de vareta (cm), diámetro de vareta (mm), número de entrenudos y longitud de entrenudos.

Durante el periodo de injerto y etiolación del proceso de propagación clonal de los cultivares se registraron las variables: longitud de las yemas brotadas en los injertos

(mm), tiempo de prendimiento del injerto (días), porcentaje de prendimiento y tiempo de etiolación (días). Finalmente, se analizó el enraizamiento de los brotes acodados mediante la evaluación del porcentaje de enraizamiento, número de raíces, longitud de raíces (cm), diámetro de raíces (mm) y el índice de calidad del enraizamiento (cm) que se calculó al multiplicar el número de raíces por su longitud promedio.

4.2.6 Análisis estadístico de los datos

En el análisis estadístico se utilizaron los valores promedio por unidad experimental con el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS® (SAS OnDemand for Academics) version 3.1.0 (SAS, 2021). Para la comparación de medias se utilizó la prueba de Tukey ($P < 0.05$). Las variables porcentaje de prendimiento de injerto y porcentaje de enraizamiento fueron transformadas con la función arcoseno de la raíz cuadrada del valor original (expresado en fracción decimal) y después del análisis de varianza los valores promedio fueron retransformados a sus unidades originales.

El modelo de análisis de varianza utilizado fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + C_i + B_j + CB_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

donde Y_{ij} es el valor de la variable evaluada con el i -ésimo cultivar y el j -ésimo bioestimulante; μ es la media general; C_i es el efecto fijo del i -ésimo cultivar; B_j es el efecto fijo del j -ésimo bioestimulante; CB_{ij} es el efecto fijo de la interacción del i -ésimo cultivar con el j -ésimo bioestimulante; y ε_{ij} es el error experimental.

4.3 Resultados y Discusión

Los análisis estadísticos demostraron que el portainjerto 'Duke 7' presentó el mayor número de varetas por planta donadora (25.86), seguido por 'Zutano' (19.02); mientras que 'Velvick' (12.83) mostró el menor valor (Cuadro 3). De manera similar, 'Duke 7' y 'Day' destacaron en cuanto al número de yemas por vareta, con valores de 15.20 y 16.35, respectivamente. En cuanto al número de injertos por planta

donadora, 'Duke 7' nuevamente obtuvo el mayor valor (77.81), significativamente superior a 'Velvick' (37.46).

Cuadro 3. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación sobre el número de varetas e injertos por planta donadora y el número de yemas e injertos por vareta en cuatro cultivares de aguacate empleados como portainjertos clonales.

	Varetas por planta donadora	Injertos por planta donadora	Yemas por vareta	Injertos por vareta
Cultivar (C)				
'Duke 7'	25.86 a ^z	77.81 a	15.20 a	2.95
'Zutano'	19.02 b	54.93 b	11.70 c	2.90
'Day'	14.11 c	41.44 c	16.35 a	2.85
'Velvick'	12.83 c	37.46 c	13.72 b	2.90
DMSH	3.14	9.16	1.17	0.29
Valor F	47.98 ***	53.60 ***	39.52 ***	0.27 ns
Bioestimulante (B)				
Testigo	15.72 c	37.27 c	12.45 b	2.37 c
L-aminoácidos	21.08 a	73.83 a	15.75 a	3.47 a
EAM	18.00 ab	52.06 b	13.60 b	2.90 b
<i>T. harzianum</i>	17.02 b	48.50 b	15.17 a	2.85 b
DMSH	3.13	9.15	1.17	0.29
Valor F	7.17 ***	37.87 ***	22.12 ***	33.34 ***
Interacción C × B				
Valor F	0.86 ns	2.79 **	2.75 **	0.84 ns
CV	28.49	28.20	20.05	24.06
Media	17.96	52.92	14.24	2.90

^zValores promedio en una misma columna seguidos por diferente letra indican diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

ns: No significativo; *, **, ***: significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta; EAM: Extractos de algas marinas; CV: Coeficiente de variación.

Respecto a los bioestimulantes, el tratamiento con L-aminoácidos incrementó significativamente el número de varetas por planta, el número de yemas de las varetas y consecuentemente, el número de injertos por planta donadora, hasta alcanzar 21.08 varetas por planta, 15.75 yemas por vareta y 73.83 injertos por cada

planta. Comparativamente, el testigo mostró los valores más bajos en todas las variables evaluadas, por lo tanto, estos resultados indicaron una mejora significativa atribuible a la aplicación de bioestimulantes ($P < 0.001$). La aplicación de extractos de algas marinas (EAM) y *Trichoderma harzianum*, aunque mejoró el crecimiento y rendimiento del material vegetal de las plantas donadoras de vareta, no indujo un beneficio mayor que la aplicación de L-aminoácidos (Cuadro 3).

Estos resultados destacaron los beneficios del uso de bioestimulantes para mejorar el crecimiento y la productividad de las plantas donadoras de vareta y demostraron que su aplicación podría ser una estrategia valiosa para optimizar las prácticas de manejo agronómico y la eficiencia del proceso de producción de portainjertos clonales de aguacate.

Diversas investigaciones han señalado el efecto de la aplicación de aminoácidos en el crecimiento de las plantas al promover la asimilación de nutrientes ayudan a incrementar el rendimiento (Sun et al., 2024). Estos beneficios se atribuyen a su impacto en el metabolismo como fuentes de nitrógeno y a la mejora de las respuestas fisiológicas de las plantas (Rahman et al., 2024). En la composición del bioestimulante a base de L-aminoácidos que se evaluó en esta investigación destaca la presencia de glicina (15.13 %), alanina (6.9 %), ácido glutámico (6.6 %), prolina (6.2 %) y lisina (5.0 %), que pueden participar en diferentes procesos fisiológicos de las plantas donadoras de vareta de aguacate.

La alanina, a su vez, juega un papel importante en la prevención del estrés oxidativo y el aumento de la tasa de respiración nocturna (Guek et al., 2023). Además, el ácido glutámico sirve como intermediario crucial en los procesos metabólicos del nitrógeno y es indispensable para la biosíntesis de clorofila, lo que influye directamente en la capacidad de la planta para realizar la fotosíntesis (Liao et al., 2022). La prolina, por su parte es importante en la osmorregulación y puede actuar como una molécula de señalización para modular las funciones mitocondriales, y desencadenar la expresión de genes para la recuperación de las plantas en condiciones de estrés (Szabados & Saviouré, 2010). En tanto que, la lisina influye en la adaptación de las plantas a condiciones de estrés osmótico y salinidad (Yang

et al., 2020). El efecto conjunto de estos aminoácidos y otros que se encuentran en menor concentración en el bioestimulante aplicado incidió directamente sobre el crecimiento de las plantas donadoras de vareta, al incrementar el rendimiento del material vegetal.

Este aumento en la productividad no fue exclusivo de las plantas tratadas con L-aminoácidos, ya que los tratamientos de bioestimulación a base de EAM y *T. harzianum* también mostraron mejoras significativas en comparación con aquellas plantas que solo recibieron un manejo convencional de fertirriego (Figura 2).

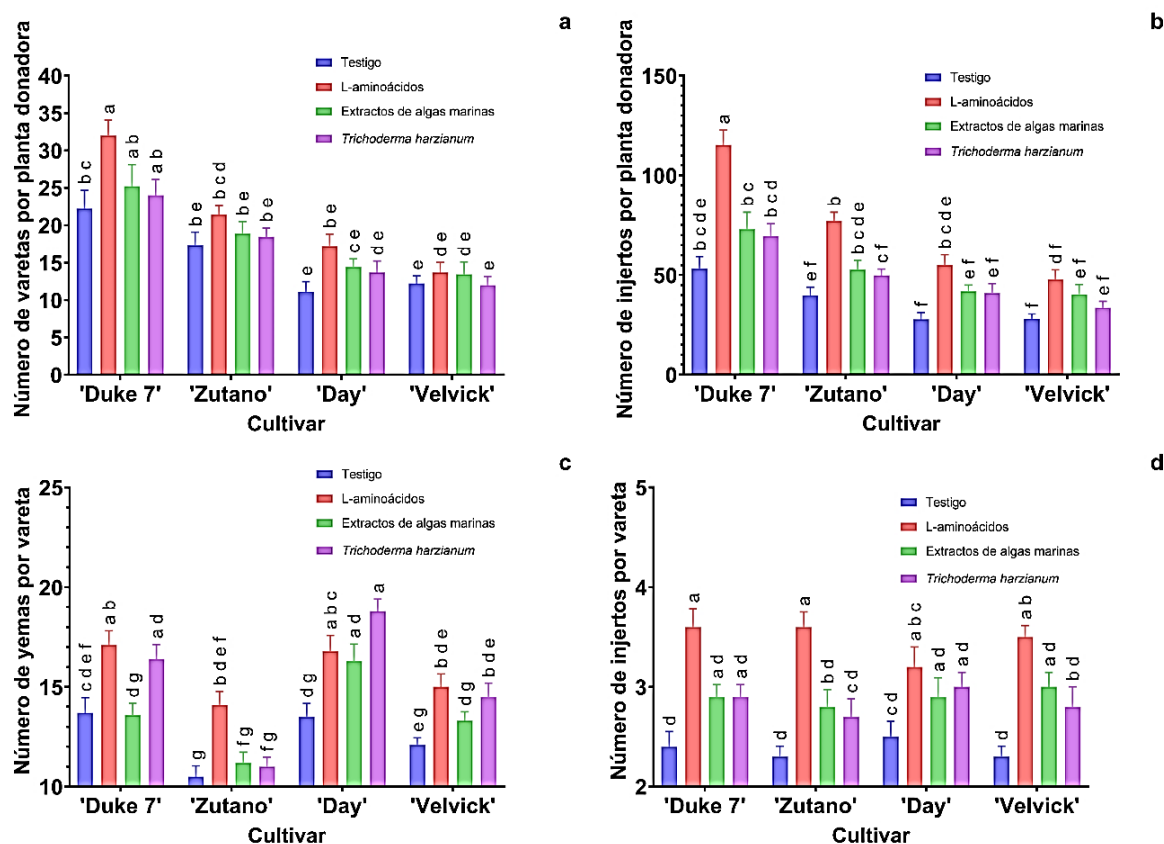


Figura 2. Efecto de tres tratamientos bioestimulantes sobre variables de crecimiento en plantas madre de cuatro cultivares empleados como portainjertos clonales de aguacate: a) número de varetas por planta donadora, b) número de yemas por vareta, c) número de injertos por vareta, d) número de injertos por planta donadora. Las barras de error indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

La propagación clonal de portainjertos es laboriosa y costosa (Ernst, 1999), donde el aumento del número de varetas que produce una planta y el número de yemas que posee cada vareta es crucial para mejorar la eficiencia general de este proceso de producción y reducir sus costos. En este contexto, la aplicación de L-aminoácidos aumentó la productividad de las plantas tratadas (Figura 2) al promover un mayor número de injertos por vareta producida y consecuentemente un mayor número de injertos por planta donadora (Figura 2b). En contraste con el testigo, las plantas madre de 'Duke 7', Zutano, 'Day' y 'Velvick' incrementaron su productividad en 116.0, 93.6, 98.4 y 70 %, respectivamente. Para dimensionar de una manera más clara el efecto positivo de estos tratamientos, es preciso señalar que, con plantas donadoras de vareta bioestimuladas durante siete meses con L-aminoácidos se logró un aumento en la productividad tal que, para producir 1000 injertos destinados a la clonación solo se requeriría de 14 plantas donadoras, y sin este tratamiento (testigo) se necesitarían al menos 27, que representan casi el doble de plantas. Este notable aumento en la productividad de las plantas donadoras no sólo optimizaría el uso de los recursos en los viveros, sino que contribuiría también en la rentabilidad de proceso de producción al reducir costos y maximizar el rendimiento por planta donadora.

4.3.1 Longitud, diámetro de vareta y entrenudos

La longitud de las varetas no mostró diferencias significativas entre cultivares ($P > 0.05$); mientras que el diámetro de estas fue mayor en el portainjerto 'Velvick' (6.83 mm). De los cuatro genotipos evaluados, 'Zutano' presentó los entrenudos más largos (20.73 mm) y el menor número de entrenudos (8.52). Entre los bioestimulantes, el tratamiento con L-aminoácidos resultó en un incremento significativo en la longitud (28.10 cm) y el diámetro de las varetas (6.91 mm), así como en el número de entrenudos (9.10), que destacó frente al testigo que mostró los menores valores ($P < 0.001$) (Cuadro 4).

Los tres tratamientos bioestimulantes afectaron el tamaño de las varetas; sin embargo, la respuesta de los portainjertos fue diferencial (Figura 3), lo que indicó que la efectividad de la bioestimulación puede variar en función del genotipo

utilizado. Por ejemplo, en el caso de 'Duke 7' la aplicación de L-aminoácidos produjo un aumento del 4.44 % en el diámetro de las varetas, mientras que los tratamientos con extractos de algas marinas y *T. harzianum* no mostraron diferencias estadísticas en comparación con el testigo. En contraste, los tres bioestimulantes promovieron el incremento entre 15.1 % y 21.5 % en el diámetro de las varetas de 'Zutano', 'Day' y 'Velvick' (Figura 3b).

Cuadro 4. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación en variables relacionadas con el vigor de vareta en plantas de cuatro cultivares de aguacate empleados como portainjertos clonales.

	Longitud de vareta (cm)	Diámetro de vareta (mm)	Entrenudos	Longitud de entrenudos (mm)
Cultivar (C)				
'Duke 7'	23.21	6.10 c ^z	11.80 a	16.14 b
'Zutano'	25.04	6.60 ab	8.52 b	20.73 a
'Day'	24.92	6.36 bc	11.55 a	15.09 b
'Velvick'	24.36	6.83 a	11.10 a	21.89 a
DMSH	1.91	0.32	0.98	1.84
Valor F	2.55 ns	12.40 ***	31.93 ***	44.21 ***
Bioestimulante (B)				
Testigo	21.03 c	6.02 c	12.10 a	17.57 b
L-aminoácidos	28.10 a	6.91 a	9.10 c	21.31 a
EAM	23.48 b	6.43 b	10.32 b	17.57 b
<i>T. harzianum</i>	24.91 b	6.53 b	11.47 a	17.30 b
DMSH	1.91	0.32	0.98	1.84
Valor F	31.80 ***	17.27 ***	24.41 ***	14.22 ***
Interacción C × B				
Valor F	2.60 **	2.66 **	2.53 **	6.40 ***
CV	19.20	12.21	22.28	24.41
Media	24.39	6.48	10.75	18.47

^zValores promedio en una misma columna seguidos por diferente letra indican diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

ns: No significativo; *, **, ***: significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta; EAM: Extractos de algas marinas; CV: Coeficiente de variación.

Las giberelinas y auxinas, son reguladores clave del crecimiento de los entrenudos (Tanimoto, 2005). Las giberelinas promueven el alargamiento celular en los entrenudos, por lo que altos niveles de estas hormonas resultan en entrenudos más

largos (Claeys et al., 2014). Las auxinas, aunque también pueden favorecer el alargamiento, interactúan con otras hormonas para controlar el crecimiento y desarrollo equilibrado de la planta (Swarup et al., 2002). La longitud de los entrenudos en los cultivares evaluados fue influenciada significativamente por la aplicación de L-aminoácidos, extractos de algas marinas y *T. harzianum*, lo que podría ser resultado de su incidencia en la abundancia de reguladores de crecimiento como giberelinas y auxinas. Sin embargo, existe evidencia de que estas respuestas pueden ser variables para cada genotipo (Figura 3d).

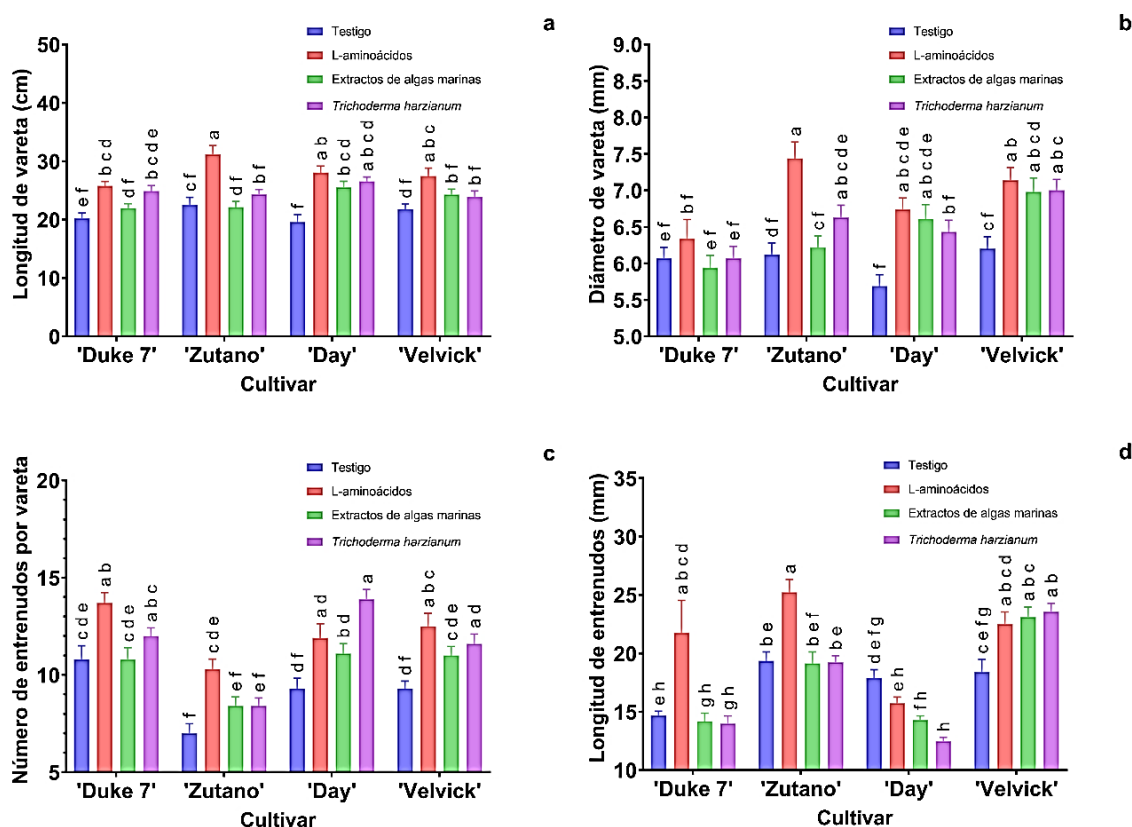


Figura 3. Efecto de tres tratamientos bioestimulantes sobre variables de crecimiento de las varetas de cuatro cultivares empleados como portainjertos clonales de aguacate: a) longitud de vareta, b) diámetro de vareta, c) número de entrenudos por vareta, c) longitud de entrenudos. Las barras de error indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los entrenudos de las plantas tratadas con bioestimulantes en 'Day' presentaron una reducción de su longitud entre 12.18 % y 30.29 % en comparación con el testigo

(Figura 3d). Esto fue consecuencia del desarrollo de un número mayor de yemas (Figura 2c) y podría ser indicativo de un cambio en la distribución de fotosintatos hacia la formación de yemas en lugar del alargamiento de entrenudos, dado que la disminución del crecimiento de los brotes se ha asociado con un aumento en la formación de meristemas (Robbie et al., 1993). En contraste, 'Velvick' logró una mayor disponibilidad de recursos para el crecimiento, que estimuló tanto la formación de yemas como el alargamiento de entrenudos (Figura 3d).

4.3.2 Prendimiento y etiolación

Con respecto a la longitud de las yemas de los injertos (previo a etiolación) se observaron diferencias entre los portainjertos ($P < 0.001$), donde 'Zutano' produjo las yemas más vigorosas (12.66 mm), además de que también logró el periodo de prendimiento más breve (31.62 días). En cuanto al porcentaje de prendimiento, no se observaron diferencias significativas entre los diferentes portainjertos ($P > 0.05$), con valores cercanos a 100 %, lo que indicó una alta compatibilidad de los portainjertos con las plantas nodrizas. Sin embargo, el tiempo de etiolación mostró variaciones relevantes, donde 'Velvick' presentó el tiempo de etiolación más prolongado (33.62 días); mientras que 'Zutano' completó este proceso en menos tiempo (19.72 días) (Cuadro 5). Estos resultados mostraron que, aunque el porcentaje de prendimiento fue alto en todos los genotipos, el tiempo de prendimiento y etiolación puede variar significativamente, y en consecuencia el tiempo total de duración del proceso de propagación sería diferente para cada portainjerto.

En lo que concierne al efecto de los bioestimulantes, los resultados mostraron un incremento en el vigor de las yemas con la aplicación de L-aminoácidos (11.92 mm), seguido de la aplicación de *T. harzianum* (11.03) y EAM (10.99 mm). El testigo y el tratamiento con *T. harzianum* mostraron los tiempos de prendimiento más largos, con 34.47 y 36.98 días, respectivamente, sin mostrar diferencias significativas entre ellos. Por otro lado, el tratamiento con extractos de algas marinas logró reducir el tiempo de prendimiento a 33.72 días (Cuadro 5).

Cuadro 5. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación en variables relacionadas la calidad y porcentaje de prendimiento y la duración de las etapas de prendimiento y etiolación de cuatro genotipos de aguacate empleados como portainjertos clonales.

	Longitud de yema (mm)	Tiempo de prendimiento (días)	Prendimiento (%)	Tiempo de etiolación (días)
Cultivar (C)				
'Duke 7'	10.14 b ^z	41.05 a	97.50	23.42 b
'Zutano'	12.66 a	31.62 c	100.00	19.72 c
'Day'	10.80 b	34.60 b	98.75	22.03 bc
'Velvick'	10.59 b	35.52 b	96.25	33.62 a
DMSH	0.76	2.51	5.08	2.56
Valor F	28.04 ***	32.91 ***	1.43 ns	74.92 ***
Bioestimulante (B)				
Testigo	10.21 c	37.47 a	100.00	24.40
L-aminoácidos	11.92 a	34.98 ab	98.75	23.81
EAM	10.99 b	33.72 b	98.75	25.54
<i>T. harzianum</i>	11.03 b	36.98 a	95.00	24.43
DMSH	0.76	2.51	5.08	2.56
Valor F	11.60 ***	6.18 ***	2.57 ns	0.68 ns
Interacción C × B				
Valor F	2.85 **	1.76 ns	1.62 ns	2.37 *
CV	16.72	17.04	8.19	24.75
Media	11.04	35.74	99.81	24.55

^zValores promedio en una misma columna seguidos por diferente letra indican diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

ns: No significativo; *, **, ***: significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente. DMS: Diferencia mínima significativa; EAM: Extractos de algas marinas; CV: Coeficiente de variación.

En conjunto, estos resultados sugieren que el cultivar presentó un efecto más marcado en el tiempo de prendimiento y etiolación que el uso de bioestimulantes (Figura 4). El prendimiento de los injertos requiere que la vareta y el portainjerto estén estrechamente relacionados taxonómicamente, para aumentar su compatibilidad y reducir el riesgo de falla (Rasool et al., 2020). Durante el periodo de evaluación de esta investigación no se identificaron problemas de compatibilidad de los genotipos y las plántulas nodrizas utilizados (raza antillana).

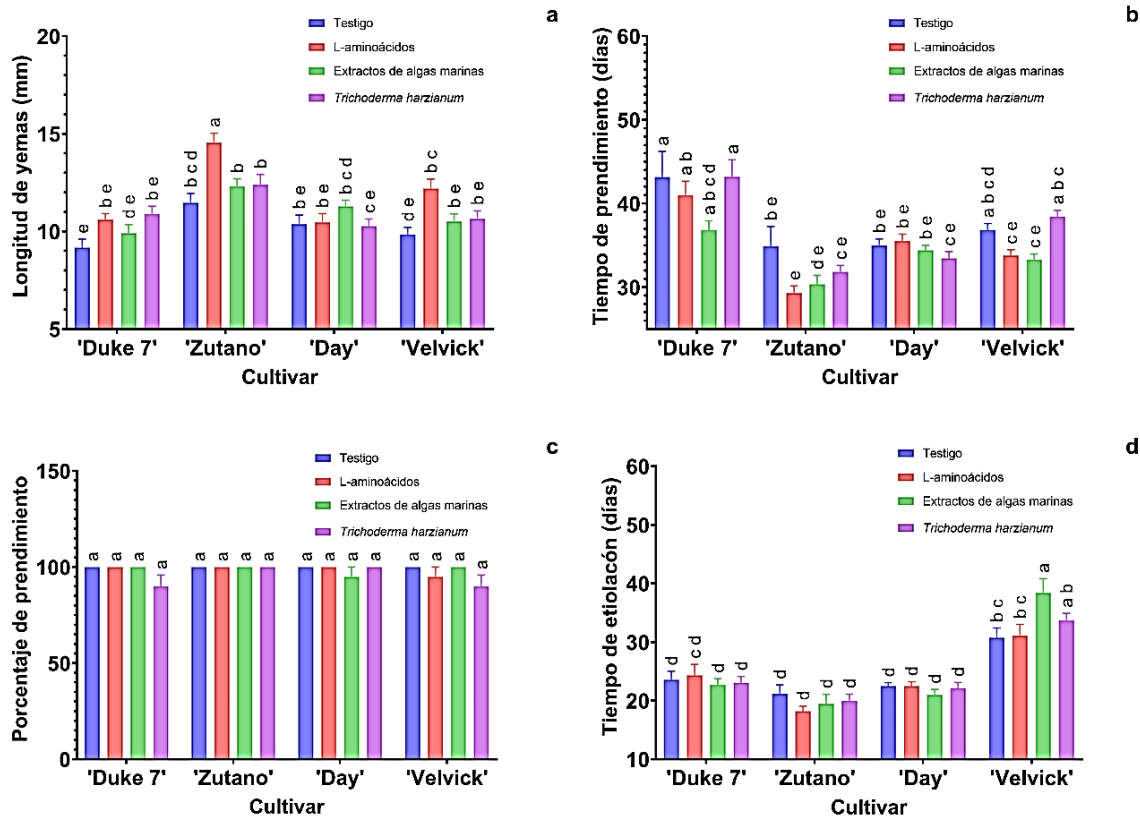


Figura 4. Efecto de tratamientos bioestimulantes en variables clave del injerto y etiolación en cuatro portainjertos clonales de aguacate: a) longitud de yemas de los injertos al momento de ingreso a etiolación, b) tiempo de prendimiento de los injertos, c) porcentaje de prendimiento, d) tiempo de etiolación. Las barras de error indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Se sabe que la etiolación es fundamental para lograr el enraizamiento adventicio en aguacate (Frolich & Platt., 1972) ya que puede modificar las condiciones fisiológicas y moleculares de las plantas al alterar las propiedades de la pared celular y los niveles hormonales a través de un equilibrio favorable auxina-etileno (Duman et al., 2020) y al facilitar un gradiente en la abundancia de microARN (miR160) (Gleeson et al., 2016) que, en conjunto favorecen la formación de raíces. En esta investigación se encontró evidencia de que la etiolación fue afectada directamente por el genotipo injertado y la bioestimulación no habría incidido en su duración (Cuadro 5; Figura 4).

En el transcurso del periodo de etiolación, las yemas crecen con ayuda de las reservas acumuladas en los cotiledones de las plantas nodrizas (Ernst, 1999) y con reservas suficientes, el tiempo requerido para que los brotes alcancen un tamaño adecuado podría relacionarse con el origen genético de los cultivares evaluados; mientras que ‘Duke 7’ y ‘Zutano’ presentaron características predominantes de la raza mexicana (Crane et al., 2025), en ‘Day’ (VC-207) y ‘Velvick’ sobresalen características de la raza antillana (Ben-Ya'acov et al., 1992b; Crane et al., 2025).

4.3.3 Desarrollo de raíces y calidad de enraizamiento

En cuanto al porcentaje de enraizamiento, ‘Duke 7’ y ‘Zutano’ mostraron los valores más altos (100 y 95.83 %, respectivamente), y contrastaron de manera sobresaliente con ‘Velvick’, que exhibió el menor porcentaje (31.25 %) ($P < 0.001$). De manera similar, el número de raíces fue mayor en ‘Duke 7’ (66.60), seguido por ‘Zutano’ (26.89); mientras que, ‘Velvick’ presentó el menor número de raíces (1.39), ‘Day’ podría considerarse intermedio con 11.5 raíces y 72.91 % de enraizamiento. Estos resultados indican una gran capacidad de ‘Duke 7’ para promover la formación de raíces adventicias y la escasa respuesta de ‘Velvick’ (Figura 5).

‘Velvick’ ha mostrado una eficacia excepcional como portainjerto en regiones subtropicales húmedas. Mejora el vigor, la productividad y la calidad de la fruta, además de que exhibe tolerancia a la pudrición de la raíz provocada por *Phytophthora cinnamomi* Rands (Wolstenholme, 2003). No obstante, es un portainjerto de difícil enraizamiento (Hiti-Bandaralage et al., 2022) con una alta tendencia a formar callo en las heridas realizadas en los brotes para aplicar el tratamiento de auxinas (Whiley & Whiley, 2005). Estas características también fueron observadas en esta investigación (Figura 6) y evidencian la necesidad de contar con protocolos especializados para la multiplicación clonal de portainjertos como ‘Velvick’ y ‘Day’, cuya capacidad de enraizamiento limitada (Cuadro 6). De no desarrollarse dichos protocolos, su uso comercial sería muy restringido e incluso podría llegar a descartarse en contextos de investigación (De Villers & Ernst, 2015). En contraste ‘Duke 7’, que es considerado el portainjerto estándar comercial de aguacate (Kremer-Köhne & Duvenhage, 2000) posee una tolerancia moderada a *P.*

cinnamomi pero induce una elevada productividad de fruta (Bender et al., 2013) y puede alcanzar un alto porcentaje de enraizamiento (Figura 5a) lo que en conjunto ha promovido su uso en diversos países productores de aguacate (Douhan et al., 2011).

Por otra parte, 'Zutano' es un portainjerto de uso común en países como Australia (Thorp & Sedgley., 1993), Nueva Zelanda (Dixon et al., 2007) y Estados Unidos donde fue seleccionado (Crane et al., 2025) y aunque es muy susceptible a la pudrición de raíces provocada por *P. cinnamomi* permite una producción abundante y consistente en áreas frías debido a su tolerancia a las heladas (Crane et al., 2025). Sin embargo, su propagación clonal no está tan extendida y en varios casos se prefiere su propagación mediante semillas (Rengrudkij & Partida, 2003; Belisle et al., 2019), a pesar de que presenta una buena respuesta a la propagación clonal (Cuadro 6).

En cuanto a 'Day', es un portainjerto con capacidad de adaptación a múltiples factores del suelo (Barrientos-Priego et al., 2015), como *P. cinnamomi* (Douhan et al., 2006), salinidad ($CE\ 2.5\ dS\ m^{-1}$) (Bender et al., 2013), cloruros (Cesped, 2003), presencia de carbonatos de calcio y textura arenosa (Ben-Ya'acov & Zilberstaine., 1999b). A pesar de estos atributos, su propagación clonal requiere de atención para mejorar el porcentaje de enraizamiento e incrementar la formación de un mayor número de raíces (Cuadro 6). En lo que se refiere al diámetro de las raíces, se observó que el portainjerto 'Zutano' alcanzó el mayor valor (1.59 mm), mientras que 'Duke 7' y 'Velvick' mostraron diámetros significativamente menores, con 1.08 mm y 1.01 mm, respectivamente. Por otro lado, el índice de calidad del enraizamiento (ICE) fue notablemente superior en 'Duke 7' (211.57 cm), seguido por 'Zutano' (119.28 cm), y 'Day' (49.84 cm); mientras que 'Velvick' presentó el menor valor (4.03 cm) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis de varianza y prueba de comparación de medias del efecto de la bioestimulación en el enraizamiento de cuatro cultivares de aguacate empleados como portainjertos clonales.

	Enraizamiento (%)	Número de raíces	Diámetro de raíces (mm)	Índice de calidad de enraizamiento (cm)
Cultivar (C)				
'Duke 7'	100.00 a ^z	66.60 a	1.08 c	211.57 a
'Zutano'	95.83 a	26.89 b	1.59 a	119.28 b
'Day'	72.91 b	11.50 c	1.37 b	49.84 c
'Velvick'	31.25 c	1.39 d	1.01 c	4.03 d
DMSH	14.66	9.29	0.18	39.55
Valor F	65.33 ***	134.65 ***	31.43 ***	73.92 ***
Bioestimulante (B)				
Testigo	68.75	19.09 b	1.21 b	62.11 c
L-aminoácidos	72.91	33.06 a	1.44 a	133.84 a
EAM	79.16	25.50 ab	1.17 b	83.08 bc
<i>T. harzianum</i>	79.16	28.77 a	1.31 ab	105.69 ab
DMSH	14.66	9.29	0.18	39.55
Valor F	0.18 ns	5.71 **	4.91 **	8.58 ***
Interacción C × B				
Valor F	0.76 ns	4.03 ***	1.01 ns	4.71 ***
CV	20.79	37.14	14.36	43.70
Media	75.00	26.60	1.28	96.18

^zValores promedio en una misma columna seguidos por diferente letra indican diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

ns: No significativo; *, **, ***: significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente. DMSH: Diferencia mínima significativa honesta; EAM: Extractos de algas marinas; CV: Coeficiente de variación.

Para asegurar que los portainjertos clonales presenten un crecimiento homogéneo, las plantas deben poseer un sistema de raíces uniformes, de otra manera, aunque se trate de un mismo cultivar, los árboles podrían mostrar variabilidad en su crecimiento (De Villers & Ernst, 2015), este aspecto es clave para asegurar la calidad de las plantas de cultivares como 'Day' y 'Velvick' que presentaron un sistema de raíces escaso y heterogéneo (Figura 6). Se ha identificado desde hace varios años que los portainjertos de las razas mexicana y guatemalteca, en general,

presentan altos porcentajes de enraizamiento y los de raza antillana, en su mayoría, son muy difíciles de propagar vegetativamente (Kadman & Ben- Ya'acov., 1965). Este comportamiento tendría relación con los resultados observados en esta investigación puesto que los portainjertos con características predominantes de la raza mexicana ('Duke 7' y 'Zutano') enraizaron de mejor manera que los de la raza antillana ('Day' y 'Velvick').

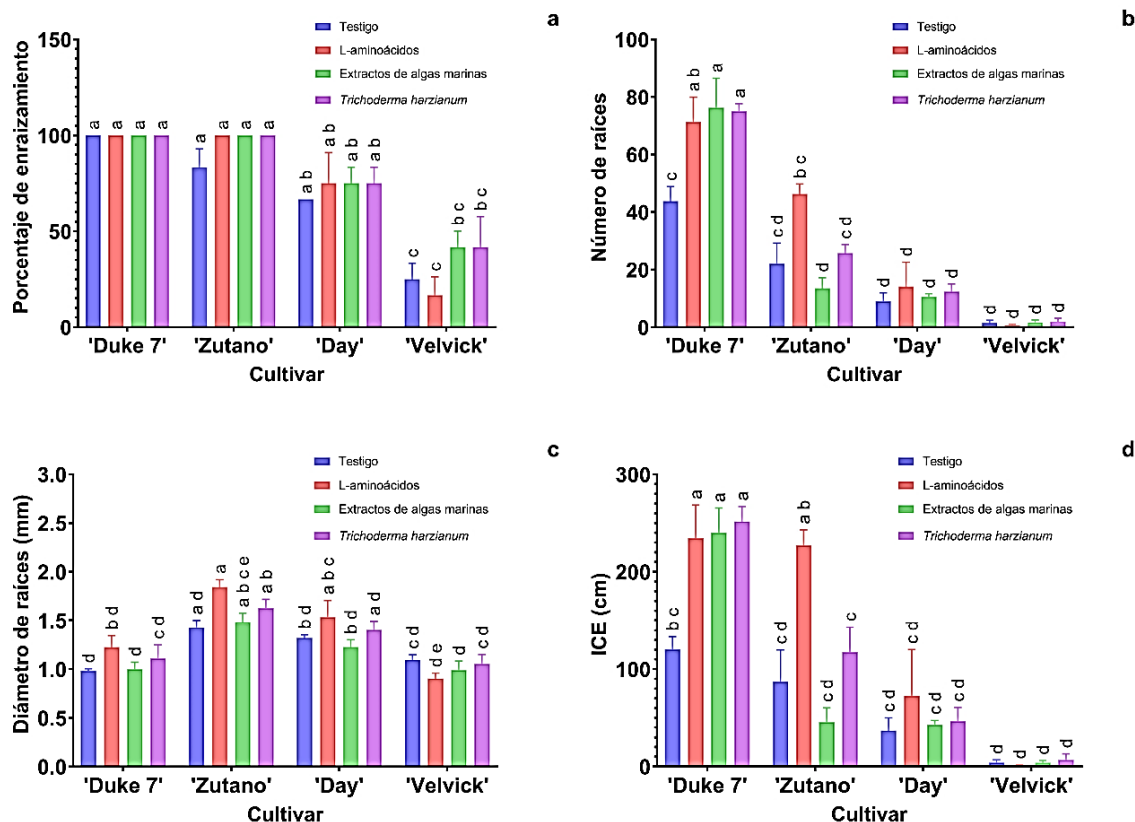


Figura 5. Comparación del efecto de tratamientos bioestimulantes en variables del enraizamiento de portainjertos cuatro portainjertos clonales de aguacate. Las barras indican el error estándar. Letras diferentes sobre las barras destacan diferencias estadísticas (Tukey, $P \leq 0.05$).

Los tratamientos bioestimulantes no presentaron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de enraizamiento ($P > 0.05$). No obstante, los tratamientos con L-aminoácidos y *T. harzianum* promovieron un incremento notable en la formación y vigor de raíces. En comparación con el testigo, el número de raíces se incrementó entre 50.7 % y 73.1 %, mientras que la longitud promedio de las

raíces aumentó entre 8.2 % y 19.0 %, según el bioestimulante aplicado (Cuadro 6). Mientras tanto, el índice de calidad de enraizamiento fue mayor con la aplicación de L-aminoácidos (133.84 cm), seguido de *T. harzianum* (105.69 cm) lo que indicaría una mejora sustancial en el proceso de propagación clonal de aguacate mediante la aplicación de estos bioestimulantes a las plantas madre donadoras de varetas (Figura 5). Este manejo promovió la formación de un sistema de raíces más robusto y mejor calidad del enraizamiento, lo cual podría mejorar la eficiencia de absorción de nutrientes de los clones y permitiría mitigar las mermas de proceso de producción, en la etapa de separación de los acodos enraizados de la planta nodriza (Ernst, 1999). Es importante señalar que, estos beneficios no fueron homogéneos en los cultivares evaluados. La bioestimulación solo favoreció a ‘Duke 7’ y ‘Zutano’ (Figura 5).

Algunas investigaciones han señalado un impacto positivo de la aplicación de aminoácidos en el enraizamiento de portainjertos mediante la síntesis y metabolismo de carbohidratos junto con la acumulación de prolina en hojas y raíces (Sarropoulou et al., 2016). Aminoácidos, como la glicina y el ácido glutámico, ayudan a regular la sensibilidad a las auxinas (Liao et al., 2022), en esta investigación estos aminoácidos se encontraron en una alta concentración en la composición del bioestimulante aplicado (.

Cuadro 1).

Por otra parte, el transporte de las auxinas también puede ser beneficiado por aminoácidos (Bennett et al., 1998). La interacción entre el efecto de los aminoácidos y los mecanismos de transporte y sensibilidad a las auxinas sugiere un efecto sinérgico que podría mejorar la distribución en la formación de raíces, tal como se pudo apreciar en esta investigación, los brotes enraizados provenientes de plantas tratadas con L-aminoácidos presentaron una mejor distribución en la formación de raíces adventicias, en contraste el tratamiento testigo aunque permitió el enraizamiento de los brotes, las raíces se formaron únicamente en sitios cercanos al sitio de aplicación de las auxinas y en los casos donde aparecieron más alejadas del sitio de aplicación del enraizador (‘Duke 7’) su formación fue escasa y

heterogénea (Figura 6), lo que indicaría que el transporte del enraizador en el brote etiolado fue afectado por los tratamientos de bioestimulación aplicados a las plantas donadoras de vareta.



Figura 6. Influencia de cuatro tratamientos de bioestimulación en el enraizamiento de cuatro genotipos de aguacate empleados como portainjertos clonales. EAM: extractos de algas marinas. *T.* *Trichoderma*.

Referente al efecto positivo que mostró la aplicación de *T. harzianum*, se sabe desde hace varios años que este hongo puede inducir respuestas beneficiosas sobre el crecimiento de las plantas al mejorar su resistencia a agentes bióticos y

abióticos (Hermosa et al., 2012). Esta mejora en el crecimiento de las plantas se atribuye a diversos mecanismos, entre ellos la optimización de la captación de nutrimentos (Yedidia et al., 2001), la producción de fitohormonas (Martínez-Medina et al., 2011) que colectivamente contribuyen a mejorar el desarrollo de las raíces (Li et al., 2015). Especialmente en ‘Duke 7’, las plantas madre donadoras de vareta tratadas con *T. harzianum*, mejoraron la calidad de las raíces en los acodos realizados, para el resto de cultivares este beneficio fue limitado o nulo, posiblemente debido a su limitada capacidad para formar raíces adventicias, ya que *T. harzinum* sí influyó en el crecimiento de las varetas de las plantas donadoras de los cuatro cultivares evaluados en esta investigación (Figura 3).

Por último, la aplicación de extractos de algas marinas también contribuyó en la mejora de la formación de raíces y el índice de calidad de enraizamiento en comparación del testigo (Cuadro 6), y este efecto fue particularmente pronunciado en ‘Duke 7’ (Figura 5, Figura 6). Los extractos de algas marinas poseen una composición rica en carbohidratos, proteínas, minerales, polifenoles, ácidos grasos insaturados, esteroides y hormonas vegetales (Górka et al., 2018). En esta investigación, la composición de los extractos de algas marinas aportó nutrimentos esenciales como potasio, azufre, calcio, magnesio y fósforo. Estos nutrientes juegan un papel crucial en la mejora del crecimiento y desarrollo de las plantas (Maathuis, 2009), lo que en última instancia conduciría a un mejor crecimiento vegetativo de las plantas donadoras de vareta. Además, la aplicación de estos extractos puede aportar a su vez numerosas betaínas y compuestos similares a las betaínas (MacKinnon et al., 2009) que minimizan el estrés osmótico provocado por la sequía y la salinidad (Dell’Aversana et al., 2021), y proporcionan mayor tolerancia a condiciones de estrés (Ahmed et al., 2022). Aunque los beneficios de la aplicación de extractos de algas marinas fueron heterogéneos, la tendencia indicó un efecto positivo que puede potenciar el enraizamiento de ‘Duke7’ y mejorar el vigor y la productividad de las plantas donadoras de vareta de los cuatro cultivares evaluados en esta investigación.

4.4 Conclusiones

La aplicación de bioestimulantes, particularmente L-aminoácidos y *Trichoderma harzianum*, mejoraron significativamente el vigor y la productividad de las plantas madre donadoras de vareta en cuatro cultivares de aguacate usados como portainjertos clonales. Estos tratamientos aumentaron el número de yemas, y varetas producidas por una planta donadora, lo que favoreció al incremento del rendimiento del material vegetal destinado a la propagación clonal.

El incremento en el número de injertos que se pueden realizar con la vareta producida por una planta donadora fue dependiente del tipo de bioestimulante aplicado y superó al tratamiento testigo desde 70 hasta 116 % en función del tipo de cultivar. Los tratamientos con L-aminoácidos y *Trichoderma harzianum* favorecieron la formación de raíces más vigorosas y de mejor calidad, especialmente en ‘Duke 7’ y ‘Zutano’, mientras que ‘Day’ y ‘Velvick’, aunque lograron beneficios en el crecimiento y vigor de las varetas, presentaron un nulo efecto de los tratamientos bioestimulantes en el enraizamiento de sus brotes etiolados y acodados.

4.5 Literatura citada

- Acosta-Rangel, A. M., Li, R., Celis, N., Suarez, D. L., Santiago, L. S., Arpaia, M. L., & Mauk, P. A. (2019). The physiological response of ‘Hass’ avocado to salinity as influenced by rootstock. *Scientia Horticulturae*, 256, Article 108629. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108629>
- Ahmed, M., Ullah, H., Piromsri, K., Tisarum, R., Cha-um, S., & Datta, A. (2022). Effects of an *Ascophyllum nodosum* seaweed extract application dose and method on growth, fruit yield, quality, and water productivity of tomato under water-deficit stress. *South African Journal of Botany*, 151, 95–107. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2022.09.045>
- Barrientos-Priego, A. F., Muñoz-Pérez, R. B., Reyes-Alemán, J. C., Borys, M. C., & Martínez-Damián, M. T. (2015). In D. Téliz & A. Mora (Eds.), *El aguacate y su manejo integrado* (pp. 29–62). Mundi-Prensa México, S.A. de C.V.

- Belisle, R. J., Hao, W., McKee, B., Arpaia, M. L., Manosalva, P., & Adaskaveg, J. E. (2019). New oomycota fungicides with activity against *Phytophthora cinnamomi* and their potential use for managing avocado root rot in California. *Plant Disease*, 103(8), 2024–2032. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-18-1698-re>
- Ben-Ya'acov, A., Michelson, E., Zilberstaine, M., Barkan, Z., & Sela, I. (1992). Selection of clonal avocado rootstocks in Israel for high productivity under different soil conditions. *Proceedings of second world avocado congress, I*, 521–526.
- Ben-Ya'acov, A., & Zilberstaine, M. (1999). Clonal avocado (*Persea americana* Mill.) rootstocks in Israel. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 39–42.
- Ben-Ya'acov, A., & Zilberstaine, M. (1999). The possible use of avocado (*Persea americana* Mill.) germplasm material as rootstocks for soil stress conditions. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 25–28. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.1999.02.015>
- Ben-Ya'acov, A., Zilberstaine, M., & Sela, I. (1992). A study of avocado germplasm resources, 1988-1990. V. The evaluation of the collected avocado germplasm material for horticultural purposes. *Proceedings of second world avocado congress, I*, 559–562.
- Bender, G. S., Menge, J. A., & Arpaia, M. L. (2013). Avocado rootstocks. In G. S. Bender (Ed.), *Avocado production in California: a cultural handbook for growers* (pp. 45–53). University of California Cooperative Extension.
- Bennett, M. J., Marchant, A., May, S. T., & Swarup, R. (1998). Going the distance with auxin: unravelling the molecular basis of auxin transport. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 353, 1511–1515.
- Cesped, R. (2003). Response of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.) grafted on Mexican and West Indian clonal rootstocks to saline conditions. In M. L. Arpaia & R. Hofshi (Eds.), *Proceedings of Avocado Brainstorming. Session II. Salinity Management*. (pp. 1–8). California Avocado Society.

- Claeys, H., De Bodt, S., & Inzé, D. (2014). Gibberellins and DELLAs: central nodes in growth regulatory networks. *Trends in Plant Science*, 19(4), 231–239. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.10.001>
- Corrêa, L. da R., Paim, D. C., Schwambach, J., & Fett-Neto, A. G. (2005). Carbohydrates as regulatory factors on the rooting of *Eucalyptus saligna* Smith and *Eucalyptus globulus* Labill. *Plant Growth Regulation*, 45(1), 63–73. <https://doi.org/10.1007/s10725-004-6125-z>
- Crane, J. H., Manosalva, P., Faber, B.A. Barrientos -Priego, A. F., Focht, E.D., Arpaia, M. L., Nender, G. S., & Balerdi, C. F. (2025). Cultivar and rootstocks. In D. Carrillo, B. A. Schaffer, A. W. Whiley, & B. N. Wolstenholme (Eds.), *The avocado botany, production and uses* (pp. 212-263). CAB International Publishing. <https://doi.org/10.1079/9781800621824.0000>
- Darrouy, P. N., Castro, V. M., Cautín, M. R., Kort, S. L., & Bozzolo, A. R. (2010). Efecto de la posición de la yema y de la poda en plantas de aguacate destinadas a la clonación. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 33(3), 249–249. <https://doi.org/10.35196/rfm.2010.3.249>
- De Villers, A. I., & Ernst, A. (2015). Avocado rootstock research: principles and practices. *Proceedings of the VIII world avocado congress, I*, 40–45.
- Dell'Aversana, E., Cirillo, V., James, M., Stasio, E. D., Saiano, K., Woodrow, P., Ciarmiello, L. F., Maggio, A., & Carillo, P. (2021). *Ascophyllum nodosum* based extracts counteract salinity stress in tomato by remodeling leaf nitrogen metabolism. *Plants*, 10(6), 1044–1044. <https://doi.org/10.3390/plants10061044>
- Dixon, J., Elmsly, F. P., Greenwood, A. C., Smith, D. B., Pak, H., & Cutting, J. C. (2007). Effect of rootstock cultivar on ripe fruit quality. *New Zealand Avocado Grower's Association Annual Research Report*, 7, 85–90.
- Douhan, G. W., Crowley, M., Clegg, M., & Mauk, P. (2006). Screening and evaluation of new rootstocks with resistance to *Phytophthora cinnamomi*. *Proceedings of the California Avocado Research Symposium*, 81–86.

- Douhan, G. W., Fuller, E., McKee, B., & Pond, E. (2011). Genetic diversity analysis of avocado (*Persea americana* Miller) rootstocks selected under greenhouse conditions for tolerance to phytophthora root rot caused by *Phytophthora cinnamomi*. *Euphytica*, 182(2), 209–217. <https://doi.org/10.1007/s10681-011-0433-y>
- Duman, Z., Hadas-Brandwein, G., Eliyahu, A., Belausov, E., Abu-Abied, M., Yeselson, Y., Faigenboim, A., Lichter, A., Irihimovitch, V., & Sadot, E. (2020). Short de-etiolation increases the rooting of VC801 avocado rootstock. *Plants*, 9(11), Article 1481. <https://doi.org/10.3390/plants9111481>
- Ernst, A. (1999). Micro cloning: a multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 217–220.
- Estay, C., Cautín, R., Neaman, A., & Castro, M. (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. <https://doi.org/10.4067/s0718-16202016000200006>
- Frolich, E. F., & Platt, R. G. (1972). Use of the etiolation technique in rooting avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 55, 97–109.
- Gleeson, M., Mitter, N., & Carroll, B. (2016). Etiolation-mediated regulation of adventitious rooting in avocado. *Acta Horticulturae*, 1110, 35–40. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2016.1110.6>
- Górka, B., Korzeniowska, K., Lipok, J., & Wieczorek, P. P. (2018). The biomass of algae and algal extracts in agricultural production. In K. Chojnacka, P. P. Wieczorek, G. Schroeder, & I. Michalak (Eds.), *Algae biomass: characteristics and applications towards algae-based products* (pp. 103–114). Springer Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74703-3_9
- Guek, G., Kumari, V., Millar, A. H., & O’Leary, B. M. (2023). Alternative oxidase 1a and 1d enable metabolic flexibility during Ala catabolism in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 192(4), 2958–2970. <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad233>

- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. (2012). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17–25. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>
- Hiti-Bandaralage, J., Hayward, A., & Mitter, N. (2022). Structural disparity of avocado rootstocks *in vitro* for rooting and acclimation success. *International Journal of Plant Biology*, 13(4), 426–442. <https://doi.org/10.3390/ijpb13040035>
- Kadman, A., & Ben-Ya'acov, A. (1965). A review of experiments on some factors influencing the rooting of avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 49, 67–72.
- Kim, H.-J., Ku, K.-M., Choi, S., & Cardarelli, M. (2019). Vegetal-derived biostimulant enhances adventitious rooting in cuttings of basil, tomato, and chrysanthemum via brassinosteroid-mediated processes. *Agronomy*, 9(2), Article 74. <https://doi.org/10.3390/agronomy9020074>
- Kremer-Köhne, S., & Duvenhage, J. A. (2000). Field testing of new avocado rootstocks for tolerance to root rot. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 23, 70–71.
- Lazare, S., Haberman, A., Uri Yermiyahu, Ran Erel, Simenski, E., & Dag, A. (2019). Avocado rootstock influences scion leaf mineral content. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 66(10), 1399–1409. <https://doi.org/10.1080/03650340.2019.1672163>
- Li, R.-X., Cai, F., Pang, G., Shen, Q.-R., Li, R., & Chen, W. (2015). Solubilization of phosphate and micronutrients by *Trichoderma harzianum* and its relationship with the promotion of tomato plant growth. *PLoS ONE*, 10(6), Article e0130081. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130081>
- Li, W., Ma, X., Wang, S., Huang, W., & Jiang, M. (2024). The leafy-stem-buried etiolation contributed to the high efficiency of rootstock vegetative propagation in avocado (*Persea americana*). *Horticulturae*, 10(7), Article 770. <https://doi.org/10.3390/horticulturae10070770>

- Liao, H.-S., Chung, Y.-H., & Hsieh, M.-H. (2022). Glutamate: A multifunctional amino acid in plants. *Plant Science*, 318, Article 111238. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2022.111238>
- Maathuis, F. J. (2009). Physiological functions of mineral macronutrients. *Current Opinion in Plant Biology*, 12(3), 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2009.04.003>
- MacKinnon, S. L., Hiltz, D., Ugarte, R., & Craft, C. A. (2009). Improved methods of analysis for betaines in *Ascophyllum nodosum* and its commercial seaweed extracts. *Journal of Applied Phycology*, 22(4), 489–494. <https://doi.org/10.1007/s10811-009-9483-0>
- Martínez-Medina, A., Roldán, A., Albacete, A., & Pascual, J. A. (2011). The interaction with arbuscular mycorrhizal fungi or *Trichoderma harzianum* alters the shoot hormonal profile in melon plants. *Phytochemistry*, 72(2-3), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2010.11.008>
- Menge, J. A., Douhan, G. W., McKee, B., Pond, E., Bender, G. S., & Faber, B. (2012). Three new avocado rootstock cultivars tolerant to phytophthora root rot: ‘Zentmyer’, ‘Uzi’, and ‘Steddom’. *HortScience*, 47(8), 1191–1194. <https://doi.org/10.21273/hortsci.47.8.1191>
- Menzel, C. M., & Le Lagadec, M. D. (2014). Increasing the productivity of avocado orchards using high-density plantings: A review. *Scientia Horticulturae*, 177, 21–36. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.07.013>
- Mickelbart, M. V., Bender, G. S., Witney, G. W., Adams, C. A., & Arpaia, M. L. (2007). Effects of clonal rootstocks on ‘Hass’ avocado yield components, alternate bearing, and nutrition. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 82(3), 460–466. <https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512259>
- Pacholczak, A., & Nowakowska, K. (2020). The effect of biostimulators and indole-3-butyric acid on rooting of stem cuttings of two ground cover roses. *Acta Agrobotanica*, 73(1). Article 7314. <https://doi.org/10.5586/aa.7314>

- Platt, R. G. (1976). Current techniques of avocado propagation. *Proceedings of the First International Tropical Fruit Short Course: The Avocado*, 92–95.
- Rahman, S., Mehta, S., & Husen, A. (2024). Use of amino acids in plant growth, photosynthetic assimilation, and nutrient availability. In A. Husen (Ed.), *Biostimulants in plant protection and performance* (pp. 117–127). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-443-15884-1.00016-6>
- Rasool, A., Mansoor, S., Bhat, K. M., Hassan, G. I., Baba, T. R., Alyemeni, M. N., Alsahli, A. A., El-Serehy, H. A., Paray, B. A., & Ahmad, P. (2020). Mechanisms underlying graft union formation and rootstock scion interaction in horticultural plants. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 590847. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.590847>
- Rengrudsakij, P., & Partida, G. J. (2003). The effects of humic acid and phosphoric acid on grafted Hass avocado on Mexican seedling rootstocks. *Actas V congreso mundial del aguacate*, 395–400.
- Robbie, F. A., Atkinson, C. J., Knight, J. N., & Moore, K. G. (1993). Branch orientation as a factor determining fruit set in apple trees. *Journal of Horticultural Science*, 68(3), 317–325. <https://doi.org/10.1080/00221589.1993.11516357>
- Rogel-Castellanos, I., Muñoz-Pérez, R. B., & Cruz-Castillo, J. G. (2000). Propagación de aguacatero por acodo utilizando etiolación, ácido indolbutírico, y obstrucción de savia. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 6(1), 101–104. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.1999.07.049>
- Santos, K. M., Fisher, P. R., Yeager, T. H., Simonne, E. H., Carter, H. S., & Argo, W. R. (2011). Effect of petunia stock plant nutritional status on fertilizer response during propagation. *Journal of Plant Nutrition*, 34(10), 1424–1436. <https://doi.org/10.1080/01904167.2011.585201>
- Sarropoulou, V., Chatzissavvidis, C., Dimassi-Therious, K., & Therios, I. (2016). Effect of asparagine, cysteine, citrulline, and glutamine on *in vitro* rooting and biochemical constituents in cherry rootstocks. *Biología Plantarum*, 60(1), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10535-015-0562-6>

- Sun, W., Shahrajabian, M. H., Kuang, Y., & Wang, N. (2024). Amino acids biostimulants and protein hydrolysates in agricultural sciences. *Plants*, 13(2), Article 210. <https://doi.org/10.3390/plants13020210>
- Swarup, R., Parry, G., Graham, N., Allen, T., & Bennett, M. (2002). Auxin cross-talk: integration of signaling pathways to control plant development. *Plant Molecular Biology*, 49, 411–426.
- Szabados, L., & Savouré, A. (2010). Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.11.009>
- Tanimoto, E. (2005). Regulation of root growth by plant hormones—roles for auxin and gibberellin. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(4), 249–265. <https://doi.org/10.1080/07352680500196108>
- Thorp, T. G., & Sedgley, M. (1993). Manipulation of shoot growth patterns in relation to early fruit set in ‘Hass’ avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 56(2), 147–156. [https://doi.org/10.1016/0304-4238\(93\)90015-i](https://doi.org/10.1016/0304-4238(93)90015-i)
- Tripathi, P. C., & Karunakaran, G. (2019). Standardization of time and method of propagation in avocado. *Journal of Applied Horticulture*, 21(1), 67–69. <https://doi.org/10.37855/jah.2019.v21i01.12>
- Whiley, A. W., & Whiley, D. G. (2005). Rootstock Improvement for the Australian avocado industry – a preliminary report. *New Zealand and Australia Avocado Grower’s Conference*, 1–10.
- Wolstenholme, B. N. (2003). Avocado rootstocks: What do we know; are we doing enough research? *South African Avocado Growers’ Association Yearbook*, 26, 106–112.
- Yang, Q., Zhao, D., & Liu, Q. (2020). Connections between amino acid metabolisms in plants: lysine as an example. *Frontiers in Plant Science*, 11, Article 928. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00928>

Yedidia, I., Srivastva, A. K., Kapulnik, Y., & Chet, I. (2001). Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant and Soil*, 235(2), 235–242.
<https://doi.org/10.1023/a:1011990013955>

**5. LA FORMULACIÓN Y EL TIPO DE AUXINA DETERMINAN LA
CALIDAD RADICAL EN EL PORTAINJERTO DE AGUACATE
'DUKE 7'**

LA FORMULACIÓN Y EL TIPO DE AUXINA DETERMINAN LA CALIDAD RADICAL EN EL PORTAINJERTO DE AGUACATE 'DUKE 7'

Resumen

La propagación clonal del aguacate es un proceso laborioso que presenta obstáculos asociados a la dificultad de enraizamiento de varios portainjertos. El estudio evaluó las auxinas ácido 1-naftalenacético (ANA) y ácido indol-3-butírico (AIB), en sus formulaciones ácida y de sal potásica, aplicadas en diferentes concentraciones (24.6, 34.4 y 44.2 mM) y proporciones (ANA:AIB -100:0, 50:50, 0:100) sobre la formación de raíces adventicias de brotes etiolados del portainjerto 'Duke 7'. En un diseño factorial 2×3×3, se evaluaron porcentajes de supervivencia y enraizamiento, y la calidad del sistema radical, mediante el índice de calidad de enraizamiento (ICE), la distribución (BDRH) y el número promedio de raíces por brote. Los resultados mostraron que la eficacia del enraizamiento dependió críticamente de la interacción entre los factores estudiados. Las sales potásicas promovieron un desempeño superior en supervivencia (hasta 99.28 %) y enraizamiento (100 %), aunque con sistemas radicales menos desarrollados (ICE = 134.99 cm); mientras que las formulaciones ácidas produjeron raíces más vigorosas (ICE = 323.53 cm) pero baja supervivencia (≤ 56.56 %) a concentraciones iguales o superiores a 34.4 mM. La proporción ANA:AIB 100:0 (ANA puro) fue la más efectiva para desarrollo radical uniforme (BDRH = 97.5 %, 78.3 raíces por brote) pero con una supervivencia regular (80.04 %), y la 0:100 (AIB puro) maximizó la supervivencia (91.4 %). La combinación 50:50 mostró efectos antagónicos y presentó el peor desempeño de las proporciones evaluadas.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., propagación clonal, raíces adventicias, reguladores de crecimiento.

FORMULATION AND TYPE OF AUXIN DETERMINE ROOT SYSTEM QUALITY IN 'DUKE 7' AVOCADO ROOTSTOCK

Abstract

Clonal propagation of avocado is a laborious process that presents obstacles associated with the rooting difficulties of various rootstocks. The study evaluated the auxins 1-naphthaleneacetic acid (NAA) and indole-3-butyric acid (IBA), in their acid and potassium salt formulations, applied at different concentrations (24.6, 34.4 and 44.2 mM) and ratios (NAA:IBA -100:0, 50:50, 0:100) on adventitious root formation in etiolated shoots of the rootstock 'Duke 7'. In a 2×3×3 factorial design, survival and rooting percentages, and the quality of the root system were evaluated using the rooting quality index (RQI), the distribution (BDRH) and the average number of roots per shoot. It was found that rooting efficiency depended critically on the interaction between the factors studied. Potassium salts promoted superior performance in survival (up to 99.28 %) and rooting (100 %), although with less developed root systems (RQI = 134.99 cm), while acidic formulations produced more vigorous roots (RQI = 323.53 cm) but low survival (≤ 56.56 %) at concentrations equal to or higher than 34.4 mM. The ANA:AIB 100:0 ratio (pure ANA) was the most effective for uniform root development (BDRH = 97.5 %, 78.3 roots per shoot) but with regular survival (80.04 %), and the 0:100 (pure AIB) maximized survival (91.4 %). The 50:50 combination showed antagonistic effects and showed the worst performance of the ratios evaluated.

Keywords: *Persea americana* Mill, clonal propagation, adventitious roots, growth regulators.

5.1 Introducción

El aguacate (*Persea americana* Mill.) se ha consolidado como un cultivo frutal de relevancia global (Aguirre-López et al., 2024), con un consumo creciente en fresco y como producto procesado (Del Castillo-Llamosas et al., 2021). Este aumento responde no solo a sus beneficios nutricionales, sino también a su creciente popularidad en los mercados internacionales (Aguirre-López et al., 2024). Sin embargo, su producción enfrenta desafíos críticos asociados a patógenos y suelos con limitaciones fisicoquímicas (Pérez-Jiménez, 2008).

Los portainjertos clonales han surgido como una estrategia clave para superar estas limitaciones, ya que mejoran el establecimiento de los huertos, confieren resistencia a patógenos del suelo (Dohuan et al., 2006; De Villers & Ernst, 2015) y pueden mitigar estrés abiótico, como la salinidad (Ben-Ya'acov & Michelson, 1995; Celis et al., 2018). Pese a estas ventajas, la propagación clonal de aguacate sigue limitada por la dificultad del enraizamiento de esta especie (Hiti-Bandaralage et al., 2017), un obstáculo que urge resolver para garantizar la sostenibilidad del cultivo, especialmente en zonas con condiciones agrícolas severas.

Las auxinas como reguladores de crecimiento vegetal son compuestos fundamentales para inducir la formación de raíces adventicias en la propagación de numerosas especies (Geiss et al., 2009). En aguacate, se han utilizado el ácido indol-3-butírico (AIB), su sal potásica (K-AIB) y el ácido 1-naftalenacético (ANA) (Gustafson & Kadman, 1969; Barrientos-Priego et al., 1986) para promover el enraizamiento. Aunque predomina el uso de AIB (Ernst, 1999; Escobedo & Escobedo, 2011), seguido de K-AIB (Duman et al., 2020) y combinaciones AIB:ANA (Prabhu et al., 2017), existen pocos estudios comparativos bajo condiciones estandarizadas que evalúen su eficacia en portainjertos clonales.

Este estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto de las auxinas sintéticas ácido indol-3-butírico (AIB) y ácido 1-naftalenacético (ANA) en sus formulaciones ácida y potásica aplicadas en diferentes concentraciones y proporciones, sobre la

inducción de raíces adventicias en brotes etiolados del portainjerto 'Duke 7' con el propósito de optimizar un protocolo de propagación clonal que maximice la supervivencia y la calidad del sistema de raíces.

5.2 Materiales y Métodos

5.2.1 Ubicación del experimento y material vegetal

La investigación se llevó a cabo durante los años 2023 y 2024 en Texcoco, México, en un invernadero de la Universidad Autónoma Chapingo (coordenadas geográficas: 19°29'25.6 N, 98°52'24.6 O; altitud: 2264 metros sobre el nivel del mar). Se empleó el método de propagación propuesto por Hofshi (1996) y Ernst (1999), adaptado a las condiciones locales del invernadero. Durante el periodo experimental, los parámetros ambientales presentaron fluctuaciones naturales, ya que no se utilizó un sistema de control activo de temperatura o humedad. Las condiciones climáticas mostraron una variabilidad estacional, con temperaturas medias que oscilaron entre 13.2 °C (diciembre de 2023) y 23.6 °C (mayo de 2024), y humedad relativa entre 83.6 % (diciembre de 2023) y 42.2 % (marzo de 2024) (Figura 7). Para mitigar el estrés hídrico asociado a los meses más secos (febrero-abril de 2024; humedad relativa <45 %), se estableció un programa de riego sistemático para garantizar una humedad adecuada en el sustrato.

Para la producción de plantas nodrizas, se emplearon semillas de aguacate antillano (*P. americana* var. *americana*) provenientes del estado de Veracruz, cuyo tamaño (68.9 ± 12.6 g) se ha documentado como adecuado para asegurar un buen desarrollo del brote etiolado en la etapa de enraizamiento (Castro et al., 2021).

Las semillas se sembraron el 24 de septiembre de 2023 en bolsas de polietileno de 1000 cm³, se utilizó un sustrato compuesto por fibra de coco, roca volcánica y perlita en proporción 1:1:1 (en volumen). El manejo agronómico consistió en riegos moderados para mantener la humedad del sustrato, así como aplicaciones preventivas cada 20 días de oxiclورو de cobre (2.5 g·L⁻¹) como fungicida e imidacloprid (1 mL·L⁻¹) como insecticida, hasta la fecha de injertación.

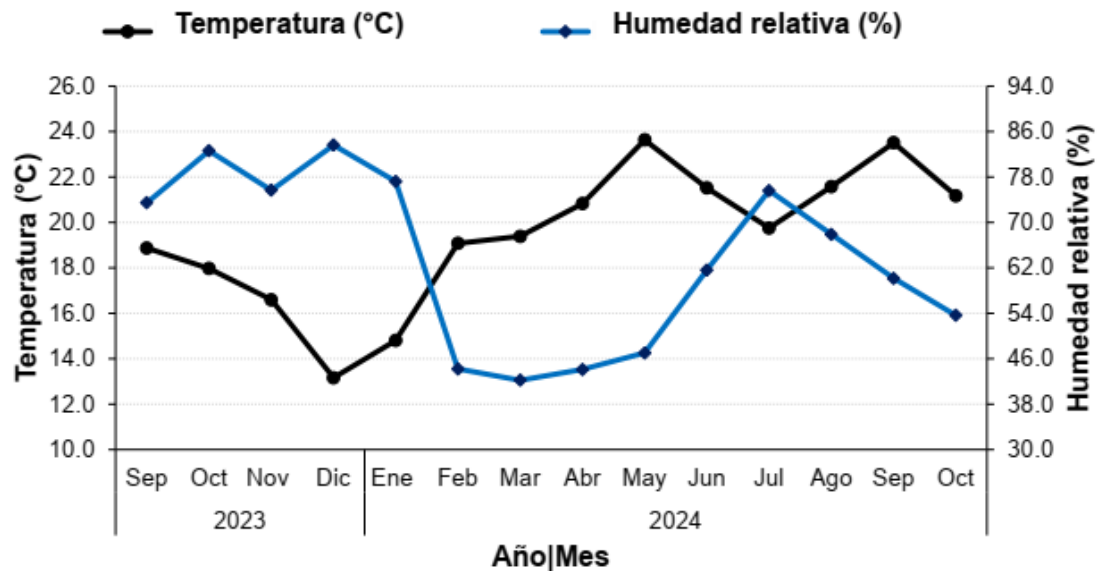


Figura 7. Variación mensual promedio de la temperatura ambiente y la humedad relativa durante el período experimental.

El 9 de enero de 2024, las plantas nodrizas se injertaron con varetas maduras del portainjerto 'Duke 7', seleccionadas por presentar yemas sanas y vigorosas. La técnica de injerto (hendidura) se realizó a 5 cm sobre el nivel del sustrato, en cada injerto se emplearon secciones de vareta con al menos dos yemas viables y las heridas de las secciones fueron selladas con pegamento de resina de acetato de polivinilo para evitar su deshidratación. Posteriormente, cada injerto se cubrió con una bolsa de polietileno transparente (5 × 8 cm) para mantener una humedad relativa elevada (>90 %) durante el periodo de prendimiento. Una vez que se observó la brotación de al menos una yema, las bolsas protectoras se retiraron y las plantas se trasladaron a una cámara de etiolación con temperatura media de 23.94 °C y humedad relativa de 85 %. El proceso de etiolación duró de cinco a seis semanas y facilitó el desarrollo de brotes aptos para el acodo aéreo.

A partir del 26 de marzo de 2024, se seleccionaron plantas con brotes etiolados de 31.5 ± 6.1 cm de longitud. En la base de cada brote, se practicó un acodo aéreo que consistió en la realización de una herida de aproximadamente 2 cm de longitud en su base, que fue efectuada con una segueta manual de 12 pulgadas (18 dientes por pulgada) previamente desinfectada con etanol a 70 % (v/v). Las

soluciones de auxinas (AIB:ANA en formulación ácida o sal potásica) se aplicaron directamente sobre la herida (50 μ L) y se prepararon el mismo día de su aplicación para garantizar la estabilidad de las auxinas.

El sistema de acodo se implementó mediante un soporte metálico insertado en el sustrato de la planta nodriza, que sostuvo un contenedor transparente (150 cm³) con polvillo de fibra de coco previamente humedecido. Las plantas acodadas se mantuvieron en una zona sombreada del invernadero, con riegos periódicos (aproximadamente cada 48 horas) para conservar la humedad del sustrato.

5.2.2 Diseño experimental

Se empleó un diseño completamente aleatorio con un arreglo factorial $2 \times 3 \times 3$, en el que se evaluaron dos tipos de formulación de auxina, tres concentraciones y tres proporciones diferentes. La unidad experimental estuvo constituida por cinco brotes acodados y de cada tratamiento se realizaron tres repeticiones. Las auxinas evaluadas fueron ácido 1-naftalenacético (ANA) y ácido indol-3-butírico (AIB), cada uno presentado en dos formulaciones: sal potásica (F1) y ácida (F2). Las concentraciones aplicadas incluyeron 24.6, 34.4 y 44.2 mM; mientras que las proporciones de auxina (ANA:AIB) se establecieron en tres niveles: 100:0 (P1), 50:50 (P2) y 0:100 (P3) (Cuadro 7). La asignación espacial de las unidades experimentales se aleatorizó en el sitio experimental.

Para cada formulación se preparó un volumen de 20 mL. El ácido 1-naftalenacético (ANA, Sigma®) y el ácido indol-3-butírico (AIB, Sigma®) se disolvieron en una mezcla disolvente de alcohol etílico e isopropílico (70:30 en volumen), donde los volúmenes de disolvente agregados (5, 7 o 9 mL) se ajustaron según la concentración objetivo: 24.6 mM, 34.4 mM y 44.2 mM, respectivamente. En cambio, la sal potásica de ácido naftalenacético (K-ANA, Sigma®) y la sal potásica de ácido indol-3-butírico (K-AIB, Sigma®) se solubilizaron en agua destilada.

Cuadro 7. Descripción completa del diseño factorial y la estratificación de las variables experimentales.

Formulación: sal potásica				Formulación: ácida			
Trat.	Conc. (mM)	Auxina		Trat.	Conc. (mM)	Auxina	
		ANA	AIB			ANA	AIB
1	24.6	24.6	0.0	10	24.6	24.6	0.0
2		12.3	12.3	11		12.3	12.3
3		0.0	24.6	12		0.0	24.6
4	34.4	34.4	0.0	13	34.4	34.4	0.0
5		17.2	17.2	14		17.2	17.2
6		0.0	34.4	15		0.0	34.4
7	44.2	44.2	0.0	16	44.2	44.2	0.0
8		22.1	22.1	17		22.1	22.1
9		0.0	44.2	18		0.0	44.2

Trat.: Tratamiento; Conc.: Concentración; ANA: ácido 1-naftalenacético; AIB: Ácido indol-3-butílico.

5.2.3 Variables evaluadas

La evaluación se llevó a cabo 195 días posteriores a la aplicación de los tratamientos. Para ello, los acodos aéreos fueron separados de la planta nodriza, para posteriormente eliminar el sustrato adherido al sistema radical mediante inmersión en un recipiente con agua y agitación manual intermitente. La altura de los brotes y la longitud de las raíces se midieron con un flexómetro de precisión (± 0.1 cm); mientras que los diámetros de brotes y raíces se determinaron con un vernier digital Mitutoyo® (precisión ± 0.01 mm). Las variables evaluadas incluyeron: supervivencia (porcentaje de brotes vivos), enraizamiento (proporción de brotes con al menos una raíz ≥ 0.5 cm), crecimiento vegetativo (incremento porcentual en altura y diámetro basal del brote, medidos desde la base), desarrollo radical (número, longitud y diámetro de raíces), presencia de raíces secundarias (escala binaria), porcentaje de brotes con distribución de raíces homogénea (BDRH: brotes con raíces distribuidas en >80 % de la sección de tallo acodado), formación de callos (presencia-ausencia) y proporción de brotes con callos abundantes (porcentaje de tallos con callos de ≥ 5 mm de longitud). Adicionalmente, para cuantificar la calidad del sistema radical, se calculó el índice de calidad de enraizamiento (ICE) mediante la ecuación

$$\text{ICE} = (\text{Raíces (n)} \times \text{Longitud promedio (cm)})$$

5.2.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó mediante el procedimiento GLM (General Linear Model) del paquete estadístico SAS® (SAS On Demand for Academics, versión 3.1.0; SAS Institute, 2021).

Los datos de las variables expresadas en porcentaje fueron transformados mediante la función arco seno de la raíz cuadrada de la proporción decimal [$y = \arcsin(\sqrt{x})$, donde $x = \text{valor porcentual}/100$], con el fin de cumplir con los supuestos de normalidad y homocedasticidad requeridos para los análisis paramétricos. En la presentación de resultados se mantuvieron los valores porcentuales originales para facilitar su interpretación. Las variables continuas fueron analizadas sin transformación previa.

El modelo de análisis de varianza (ANOVA) utilizado fue:

$$Y_{ijk} = \mu + F_i + C_j + P_k + (F \times C)_{ij} + (F \times P)_{ik} + (C \times P)_{jk} + (F \times C \times P)_{ijk} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde: Y_{ijk} es la variable respuesta, μ es la media general, F_i es el efecto de la formulación de la auxina ($i = \text{sal potásica, ácido}$), C_j es el efecto de la concentración ($j = 24.6, 34.4, 44.2 \text{ mM}$), P_k es el efecto de la proporción ($k = 100:0, 50:50, 0:100$) y ε_{ijk} es el error experimental.

La comparación de medias se realizó con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$), y los valores que previamente fueron transformados se convirtieron a sus unidades originales para su interpretación. A partir de estas medias ajustadas, se generaron mapas de calor para las variables de supervivencia, enraizamiento, porcentaje de brotes con callo, número de raíces, brotes con callo abundante, índice de calidad de enraizamiento y brotes con distribución de raíces homogénea. Estos mapas fueron elaborados en el programa GraphPad Prism (versión 10.4.2), se utilizó una escala de color continuo (inferno) para representar la intensidad relativa de cada variable. Para cada variable, los datos se

organizaron en matrices de doble entrada que siguieron el diseño factorial del experimento (formulación × concentración × proporción), con el fin de visualizar patrones de respuesta específicos a cada tratamiento.

5.3 Resultados y Discusión

5.3.1 Análisis de varianza

El análisis de varianza (ANOVA) mostró efectos significativos de la formulación de auxinas (F), la concentración (C), la proporción (P) y sus interacciones sobre la supervivencia (Supv.) y el enraizamiento (Enr.) de los brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’ (Cuadro 8). La formulación presentó el mayor efecto sobre supervivencia y enraizamiento ($P < 0.001$).

Cuadro 8. Análisis de varianza (ANOVA) para supervivencia, enraizamiento y crecimiento vegetativo en brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’.

Fuente de variación	gl	Cuadrados medios			
		Supv. (%)	Enr. (%)	Crecimiento vegetativo	
				Altura (cm)	Diámetro (mm)
Formulación (F)	1	5.436 ^{***}	6.000 ^{***}	0.008 ^{ns}	0.000 ^{ns}
Concentración (C)	2	0.639 ^{***}	0.519 ^{***}	0.001 ^{ns}	0.002 ^{ns}
Proporción (P)	2	0.150 [*]	0.095 ^{ns}	0.114 ^{***}	0.023 ^{ns}
F x C	2	0.242 ^{**}	0.180 [*]	0.007 ^{ns}	0.027 ^{ns}
F x P	2	0.261 ^{**}	0.280 ^{**}	0.006 ^{ns}	0.004 ^{ns}
F x C x P	8	0.144 ^{**}	0.141 ^{**}	0.014 ^{ns}	0.026 [*]
Error	36	0.036	0.036	0.011 ^{ns}	0.010
C.V. (%)		16.16	16.57	19.92	14.98

gl: grados de libertad; Supv.: Supervivencia; Enr.: Enraizamiento; C.V.: Coeficiente de variación; ns: No significativo; *, **, ***: Significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente.

Las interacciones F × C y F × P fueron significativas para ambas variables ($P < 0.01$), lo que indicó que el efecto de la formulación dependió de la concentración y la proporción aplicada. La interacción triple F × C × P también fue significativa ($P < 0.01$), lo que sugiere que la respuesta de los brotes estuvo influenciada por la combinación específica de factores. Por el contrario, las variables de crecimiento vegetativo (altura y diámetro de brotes) no mostraron diferencias entre tratamientos, con la excepción de un efecto marginalmente

significativo de la proporción (P) sobre la altura ($P<0.001$) y de la interacción $F \times C \times P$ en el diámetro ($P<0.05$). Este hallazgo implica que los tratamientos ejercieron una influencia mínima sobre el crecimiento vegetativo (altura y diámetro de los brotes) bajo las condiciones experimentales de este estudio.

Por otra parte, el ANOVA también reveló efectos significativos de la formulación de auxinas (F), la concentración (C) y la proporción (P) sobre los parámetros relacionados con el sistema de raíces y el índice de calidad de enraizamiento (ICE) en los brotes etiolados del portainjerto de aguacate ‘Duke 7’ (Cuadro 9).

Cuadro 9. ANOVA para variables radicales e índice de calidad de enraizamiento (ICE) en brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’.

Fuente de variación	gl	Cuadrados medios			
		Raíces			ICE
		Número	Longitud (cm)	Diámetro (mm)	
Formulación (F)	1	4393.82***	0.197 ^{ns}	0.256***	41509.13***
Concentración (C)	2	2004.35***	0.279*	0.065**	27681.44***
Proporción (P)	2	8626.07***	0.353**	0.074**	76123.00***
$F \times C$	2	202.49 ^{ns}	0.052 ^{ns}	0.012 ^{ns}	712.68 ^{ns}
$F \times P$	2	204.49 ^{ns}	0.047 ^{ns}	0.259***	1622.83 ^{ns}
$F \times C \times P$	8	671.83***	0.202**	0.145***	3963.33*
Error	36	148.21	0.066	0.011	1713.86
C.V. (%)		22.26	8.67	6.61	25.44

gl: grados de libertad; C.V.: Coeficiente de variación; ^{ns}; No significativo; *, **, ***: Significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente.

En relación con el número de raíces, la formulación, la concentración y la proporción mostraron efectos altamente significativos ($P<0.001$) y también los resultados mostraron que la interacción $F \times C \times P$ fue altamente significativa ($P<0.001$), lo que mostraría que combinaciones específicas de factores maximizan la producción de raíces. Por su parte la longitud de raíces solo presentó efectos significativos para la proporción ($P<0.01$), la concentración ($P<0.05$) y la interacción $F \times C \times P$ ($P<0.01$). En lo referente al diámetro de raíces, las fuentes de variación principales (F, C, P) y las interacciones $F \times P$ ($P<0.001$) y $F \times C \times P$ ($P<0.001$) fueron altamente significativas. Mientras que el índice de

calidad de enraizamiento fue influido significativamente por los tres factores principales ($P<0.001$).

Se encontró efectos significativos de los factores experimentales sobre las variables brotes con callo (BC, %), brotes con callo abundante (BCA, %) y brotes con distribución de raíces homogénea (BDRH, %); mientras que brotes con raíces secundarias (BRS, %) solo presentó respuesta a la concentración ($P<0.01$) (Cuadro 10). La formulación (F) de las auxinas influyó significativamente BCA ($P<0.001$) y BDRH ($P<0.001$), pero no afectó BRS ($P>0.05$). Por su parte, la concentración influyó en BRS ($P<0.01$), BC ($P<0.01$) y BCA ($P<0.001$) y la proporción (P) mostró efectos significativos en BC ($P<0.01$), BCA ($P<0.001$) y BDRH ($P<0.001$). La interacción $F \times C \times P$ fue significativa para BC ($P<0.05$) y BDRH ($P<0.001$), lo que evidenció que combinaciones específicas de factores modularon estas respuestas.

Cuadro 10. ANOVA para brotes con raíces secundarias (BRS), brotes con callo (BC), brotes con callo abundante (BCA) y brotes con distribución de raíces homogénea (BDRH) en brotes etiolados de aguacate ‘Duke 7’.

Fuente de variación	gl	Cuadrados medios			
		BRS (%)	BC (%)	BCA (%)	BDRH (%)
Formulación (F)	1	0.167 ^{ns}	0.310 [*]	2.640 ^{***}	1.779 ^{***}
Concentración (C)	2	0.438 ^{**}	0.355 ^{**}	0.564 ^{***}	0.020 ^{ns}
Proporción (P)	2	0.149 ^{ns}	0.305 ^{**}	2.793 ^{***}	2.234 ^{***}
F x C	2	0.171 ^{ns}	0.141 ^{ns}	0.060 ^{ns}	0.300 [*]
F x P	2	0.188 ^{ns}	0.116 ^{ns}	0.489 ^{**}	0.008 ^{ns}
F x C x P	8	0.092 ^{ns}	0.126 [*]	0.095 ^{ns}	0.215 ^{***}
Error	36	0.073 ^{ns}	0.049	0.064	0.061
C.V. (%)		19.50	17.16	35.10	24.60

gl: grados de libertad; C.V.: Coeficiente de variación; ^{ns}: No significativo; *, **, ***: Significativo a $P \leq 0.05$, 0.01 ó 0.001, respectivamente.

5.3.2 Efecto de la formulación

Las auxinas en su formulación ácida mejoraron el desempeño de variables críticas para la propagación clonal de ‘Duke 7’. En comparación con las sales potásicas, la formulación ácida incrementó el número promedio de raíces por brote (63.71 contra 45.67), el índice de calidad del enraizamiento (ICE = 190.99

cm contra 134.99 cm) y la proporción de brotes con callo abundante (65.23 % contra 22.81 %) (Cuadro 11; Figura 8c-d). Además, se observó una distribución más homogénea de raíces (BDRH = 86.21 %), lo que indica un sistema radical más funcional y uniforme. Por su parte, las formulaciones en sales potásicas destacaron por presentar el mayor porcentaje de supervivencia (99.28), con un enraizamiento igualmente alto (99.28 %), aunque asociado a brotes con raíces menos desarrolladas y mal distribuidas (BDRH = 54.19 %).

Cuadro 11. Comparación de medias y diferencias mínimas significativas honestas (DMSH) entre formulaciones de auxinas en variables de respuesta de brotes etiolados de aguacate.

Variable	Factor: formulación			Media global
	Sal potásica	Ácido	DMSH	
Supervivencia (%)	99.28 a	56.56 b	1.08	84.67
Enraizamiento (%)	99.28 a	53.37 b	1.11	83.49
Altura de brote (%)	25.66 a	23.51 a	0.32	24.58
Diámetro de brote (%)	38.03 a	37.70 a	0.30	37.86
Número de raíces (n)	45.67 b	63.71 a	6.72	54.70
Longitud de raíces (cm)	2.89 a	3.01 a	0.14	2.96
Diámetro de raíces (mm)	1.49 b	1.62 a	0.06	1.56
ICE	134.99 b	190.99 a	22.85	162.72
BRS (%)	94.16 a	98.25 a	2.20	96.49
BC (%)	87.85 b	95.88 a	1.49	92.35
BCA (%)	22.81 b	65.23 a	1.93	43.39
BDRH (%)	54.19 b	86.21a	1.87	68.88

ICE: índice de calidad de enraizamiento; BRS: Brotes con raíces secundarias; BC: Brotes con callo; BCA: Brotes con callo abundante; BDRH: Brotes con distribución de raíces homogénea. Letras distintas (a, b) indican diferencias significativas entre formulaciones (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Estas diferencias se explican en gran parte por las propiedades fisicoquímicas de cada formulación. Como ácidos débiles, tanto el ANA ($pK_a = 4.24$) como el AIB ($pK_a = 4.70$) existen en equilibrio entre sus formas ionizadas (ANA^-/AIB^-) y no ionizadas ($ANA-H/AIB-H$), que depende del pH celular (Schönherr, 1976; Yang et al., 2016). En condiciones ácidas ($pH < pK_a$), predominan las formas no ionizadas, que son altamente lipofílicas por lo que tienden a difundirse pasivamente a través de las membranas plasmáticas (Rubery & Sheldrake, 1974;

Yang et al., 2016). Esta difusión pasiva permite una distribución más uniforme de la auxina en el tejido de los brotes etiolados, lo que podría explicar la mayor homogeneidad en la formación de las raíces adventicias (BDRH) observada con formulaciones ácidas (Figura 9d).

Por el contrario, las auxinas en formulación de sal potásica se disuelven en soluciones acuosas a un pH neutro o alcalino, lo que las mantiene en sus formas ionizadas. En este estado, su absorción celular depende de transportadores específicos como AUX/LAX; PINs, ABCBs, cuya expresión y localización varían entre tejidos (Gutknecht & Walter, 1980; Zažímalová et al., 2010; Gomes et al., 2021). Al depender de transporte activo mediado por proteínas específicas como AUX1/LAX, responsables de la captación, PIN para la distribución polar, y ABCB para el eflujo celular (Hammes et al., 2021) tendrían una absorción regulada, lo que explicaría su menor citotoxicidad (supervivencia = 99.28 %) y la disminución de su potencial morfogénico general un 139.6 % en comparación de las formulaciones ácidas (ICE = 134.99 cm contra 323.53 cm), cuya señalización auxínica se concentró en células próximas a la herida del acodo, en lugar de promover una dispersión homogénea (Figura 9).

Además, la disminución de la formación de callos (BCA = 22.81 % contra 65.23 % en formulaciones ácidas) implicaría que la entrada controlada de sales potásicas a las células fomentó una división celular organizada y minimizó la formación de tejidos indiferenciados y raíces adventicias (Figura 8).

En especies modelo como *Arabidopsis thaliana*, se ha identificado y estudiado la función específica de transportadores y como su expresión diferencial podría modular la eficacia en el transporte (Hammes et al., 2021). La expresión diferencial de estos transportadores podría modular la eficiencia de absorción y actividad biológica de las auxinas, donde las sales potásicas, cuya forma ionizada no atraviesa libremente la membrana plasmática; mientras que las formas no ionizadas de las auxinas ácidas pueden difundirse pasivamente, lo que explicaría su absorción más rápida y su efecto morfogénico más amplio, aunque también más fitotóxico en concentraciones altas (Figura 8a). Esto refuerza la hipótesis de

que la formulación ácida permite una señalización auxínica más intensa y sostenida, en cambio las sales potásicas inducen una respuesta más localizada y menos citotóxica.

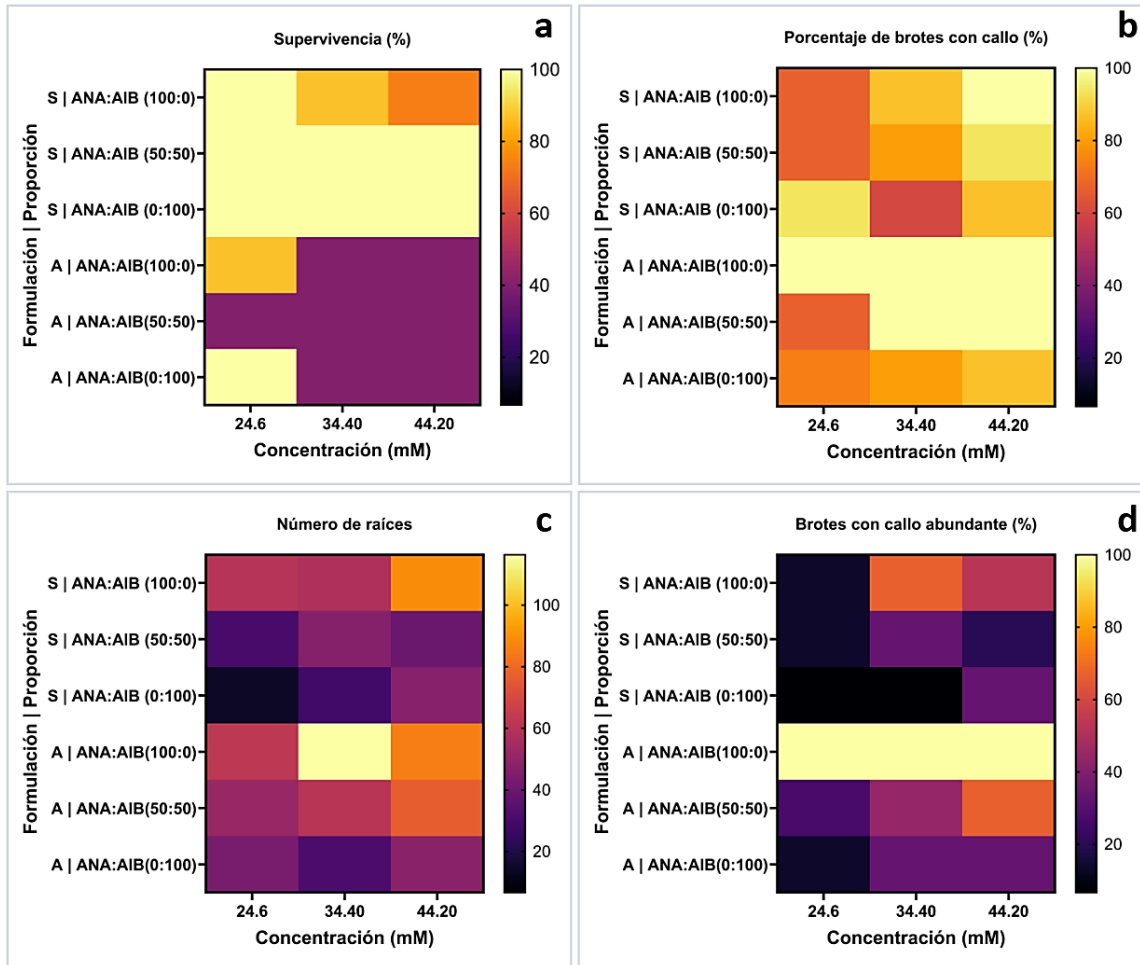


Figura 8. Supervivencia vs. eficacia: Mapas de calor del efecto de la formulación de auxinas en brotes acodados de 'Duke 7'. a) Porcentaje de supervivencia. b) Porcentaje de brotes con formación de callo. c) Número promedio de raíces por brote. d) Porcentaje de brotes con callo abundante. S: Auxina en formulación de sal potásica. A: Auxina en formulación ácida. ANA: Ácido 1-naftalenacético. AIB: Ácido indol-3-butírico.

También en *Arabidopsis thaliana*, se ha observado que altas concentraciones de auxinas inducen la formación de callos, en tanto que niveles intermedios promueven una organogénesis regulada (Sugimoto et al., 2010; Iwase et al., 2011; Ikeuchi et al., 2013).

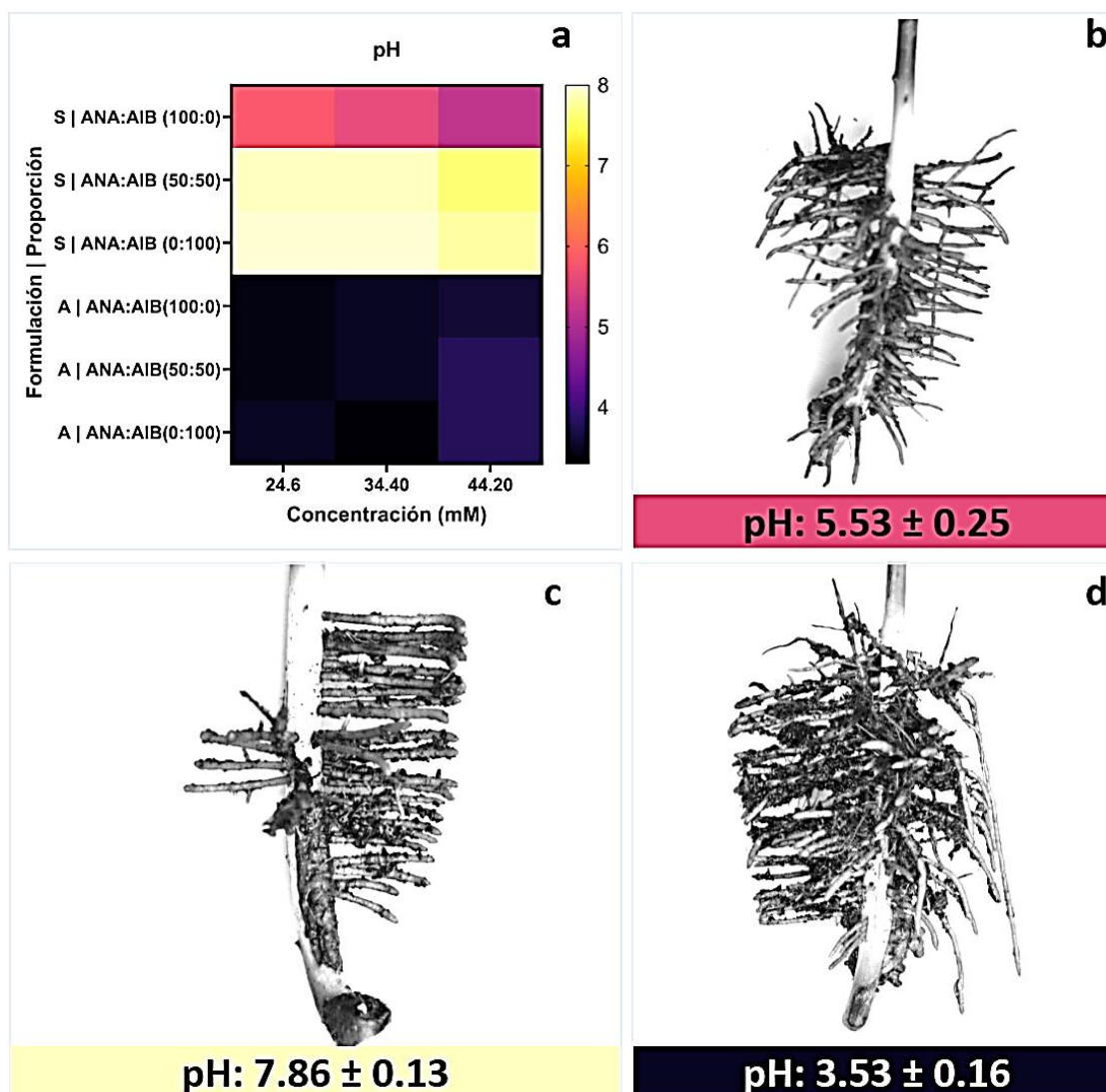


Figura 9. Valores de pH de las soluciones de ácido 1-naftalenacético e indol-3-butírico en sus formulaciones de sales potásicas y ácidas y su efecto en la distribución y capacidad de morfogénesis de raíces adventicias en brotes de 'Duke 7'. S: auxina en formulación de sal potásica. A: auxina en formulación ácida. ANA: ácido 1-naftalenacético. AIB: ácido indol-3-butírico. a) Mapa de calor de valores de pH dependientes de la formulación de las auxinas. b) Distribución de raíces homogénea provocada por formulaciones de sales potásicas con pH ligeramente ácido. c) Distribución de raíces heterogénea provocada por formulaciones de sales potásicas con pH ligeramente alcalino. d) Distribución de raíces homogénea provocada por formulaciones ácidas.

En este estudio se identificó un comportamiento similar, las formulaciones ácidas estimularon callogénesis sobre la herida del acodo y enraizamiento vigoroso, aunque también incrementaron el riesgo de necrosis y muerte de los brotes. En

contraste, las sales potásicas atenuaron estos efectos, posiblemente debido a su absorción más controlada y gradual por la naturaleza de su pH (Figura 9).

En conjunto, estos resultados indican que las auxinas en su formulación ácida promueven sistemas de raíces más robustos y uniformes, aunque requieren un manejo cuidadoso para evitar efectos fitotóxicos. Por su parte, con formulaciones de sal potásica se tiene mayor seguridad fisiológica, especialmente bajo condiciones ambientales no controladas, lo que las hace una opción para protocolos que busquen maximizar la supervivencia a gran escala, pero no cuenten con infraestructura para controlar parámetros de temperatura y humedad durante el enraizamiento.

5.3.3 Efecto de la concentración

Los resultados de este estudio indicaron una influencia significativa de la concentración de auxinas en el enraizamiento y el desarrollo radical (Cuadro 12). La concentración más alta (44.2 mM) promovió el mayor número de raíces (64.05) y el valor máximo de ICE (197.76 cm), así como un incremento en la formación de callos (BC = 98.35 %). Sin embargo, esta concentración provocó una disminución significativa en la supervivencia (73.93 %) y el enraizamiento (73.93 %), en comparación con concentraciones más bajas como 24.6 mM (supervivencia = 96.55 %, enraizamiento = 95.07 %), lo que sugiere que, aunque fue eficaz desde el punto de vista morfogénico, resultó también fisiológicamente agresiva. En contraste, la concentración intermedia (34.4 mM) mostró una respuesta equilibrada entre supervivencia y eficacia, al lograr un ICE elevado (170.05 cm), una calidad radical adecuada (longitud = 3.03 cm, diámetro = 1.50 mm) y un porcentaje de supervivencia aceptable (78.31 %), posicionándose como la dosis más adecuada para protocolos de propagación a nivel comercial. La dosis más baja (24.6 mM) maximizó la supervivencia (96.55 %), pero generó un sistema de raíces limitado (ICE = 120.36 cm) que podría comprometer el desarrollo postrasplante de los clones.

Por su parte, las variables de crecimiento vegetativo (altura y diámetro del brote) y la proporción de brotes con distribución homogénea de raíces (BDRH) no mostraron diferencias significativas entre concentraciones ($P>0.05$), lo que indicaría que estas variables no fueron sensibles a la concentración de auxinas aplicada y que el principal efecto de la concentración se manifiesta en la inducción y arquitectura del sistema de raíces.

Cuadro 12. Comparación de medias y diferencias mínimas significativas honestas (DMSH) entre concentraciones de auxinas en variables de respuesta de brotes etiolados de aguacate.

Variable	Factor: concentración			
	24.6 mM	34.4 mM	44.2 mM	DMSH
Supervivencia (%)	96.55 a ^z	78.31 b	73.93 b	2.35
Enraizamiento (%)	95.07 a	77.38 b	73.93 b	2.40
Altura de brote (%)	24.57 a	23.93 a	25.25 a	0.71
Diámetro de brote (%)	36.69 a	38.40 a	38.50 a	0.65
Número de raíces (n)	43.25 b	56.79 a	64.05 a	9.92
Longitud de raíces (cm)	2.81 b	3.03 a	3.03 a	0.21
Diámetro de raíces (mm)	1.57 ab	1.50 b	1.62 a	0.08
ICE	120.36 b	170.05 a	197.76 a	33.73
BRS (%)	89.09 a	99.93 a	95.95 ab	4.75
BC (%)	84.38 b	90.95 ab	98.35 a	3.22
BCA (%)	26.53 b	58.05 a	66.38 a	4.17
BDRH (%)	68.03 a	73.65 a	73.04 a	4.04

ICE: índice de calidad de enraizamiento; BRS: Brotes con raíces secundarias; BC: Brotes con callo; BCA: Brotes con callo abundante; BDRH: Brotes con distribución de raíces homogénea.

^zLetras distintas indican diferencias significativas entre formulaciones (Tukey, $\alpha = 0.05$).

Esta respuesta bifásica observada en ‘Duke 7’, en la que se alcanzaron altos porcentajes de supervivencia y enraizamiento de los brotes tratados a una baja concentración de auxinas (24.6 mM), para disminuir de manera pronunciada a dosis mayores (44.2 mM) es consistente con un fenómeno de hormesis. En este fenómeno, dosis bajas estimulan el desarrollo y dosis elevadas inducen estrés fisiológico (de Klerk et al., 1997; Barreto et al., 2023). En concentraciones altas (especialmente en formulación ácida), se identificó la presencia de fitotoxicidad a través de necrosis en los tejidos adyacentes al sitio de aplicación (Figura 10a-b). Estos efectos fueron atribuibles a la mayor lipofilia de las formulaciones ácidas,

que facilita su infiltración en las membranas celulares (Schönherr, 2006), pero puede provocar alteración estructural y acumulación excesiva de auxina en los tejidos (Blythe et al., 2007; Bhatla & Lal, 2023). Este daño estructural por dosis excesiva de auxinas puede ser agravado por la presencia de alcohol en la solución enraizadora de las formulaciones ácidas (Schönherr, 2006; Schwab et al., 2021), y llega a ser perceptible al provocar necrosis tisular (Linke et al., 2010; Hąc-Wydro & Flasiński, 2015). En contraste, las auxinas en forma de sales potásicas, al ser solubles en agua y carentes de solventes agresivos, son absorbidas mediante transportadores específicos, posiblemente del tipo ABC, AUX/LAX o PIN (Korasick et al., 2013; Hammes et al., 2021), lo que reduce su impacto citotóxico (Figura 8a) y permite que presente una respuesta más controlada sin daño visible, incluso a 44.2 mM (Figura 10c).

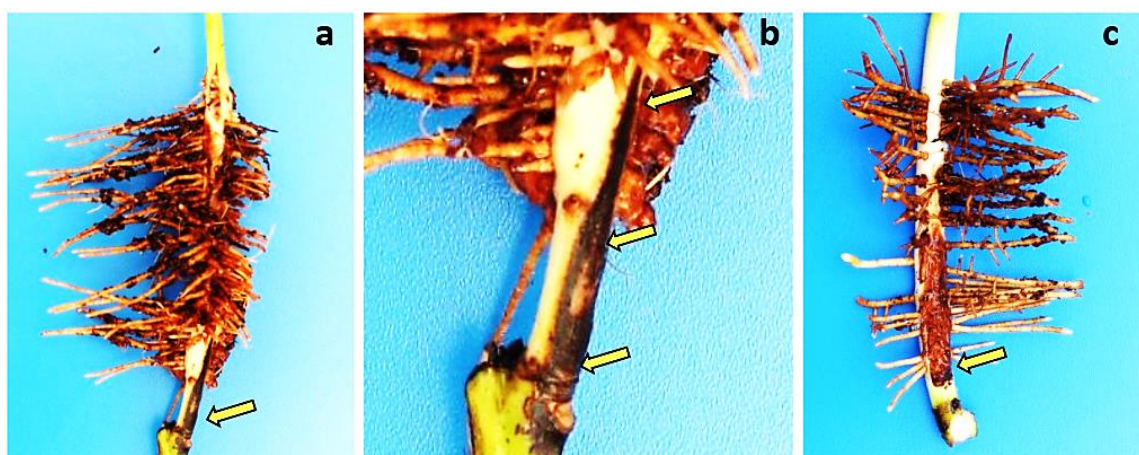


Figura 10. Efectos de toxicidad contrastantes de las formulaciones ácida y potásica de auxinas aplicadas en brotes de 'Duke 7'. a) Brote tratado con ANA (ácido 1-naftalenacético) en formulación ácida (34.4 mM en solución etanol:isopropanol, 70:30 v/v) donde se observa necrosis severa (flechas amarillas) en la base del tallo, asociada al escurrimiento del enraizador aplicado (50 μ L). b) Ampliación de la región necrótica en el mismo tratamiento, donde se aprecia el daño localizado por contacto directo con la solución. c) Brote tratado con ANA en formulación potásica (44.2 mM en agua), sin evidencia de daño tisular, a pesar del mismo volumen aplicado.

Adicionalmente, se ha documentado que concentraciones excesivas de auxinas inducen estrés oxidativo (Roussos, 2023), producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) (McCarthy-Suárez, 2017), y senescencia foliar mediante las vías

de biosíntesis del etileno y ácido abscísico (Wilkinson & Davies, 2002; Mittler et al., 2004). Estos procesos podrían explicar la caída en supervivencia de los brotes observada con 44.2 mM (73.93 %), a pesar de su alto número de raíces (64.05) y callos formados (BC = 98.35), donde esta dosis provocó un posible desequilibrio redox, daño estructural de membranas y fragmentación del ADN (Roussos, 2023; Mittler et al., 2004). Esta respuesta sería también indicadora de desregulación hormonal en la que se activan vías de proliferación celular no controladas (Figura 8b, d), como la generación excesiva de callo (BCA = 66.38 %) sin generar una organogénesis eficiente (Ikeuchi et al., 2013).

Por tanto, aunque concentraciones elevadas de auxinas incrementan el potencial rizogénico, su aplicación debe realizarse con precaución. En el caso de la propagación de 'Duke 7', la concentración de 34.4 mM resultó ser la más adecuada, al promover la formación de un sistema radical abundante y vigoroso, con una arquitectura funcional y viabilidad fisiológica adecuada. Esta concentración indujo la formación de un sistema de raíces bien distribuido, con alta proporción de raíces secundarias (99.93 %), lo que favorecería el establecimiento en campo y reduciría el estrés asociado a la separación del acodo de la planta nodriza.

Además, es importante señalar que el porcentaje de enraizamiento, por sí solo, no es un indicador suficiente del éxito de un protocolo de propagación. Un sistema radical escaso y mal distribuido puede limitar el desarrollo postrasplante y derivar en pérdidas comerciales. Este aspecto es particularmente relevante en especies leñosas de difícil enraizamiento como el aguacate (Davies et al., 1994; Hartmann et al., 2014), donde la calidad del sistema radical es determinante para la rentabilidad de la producción clonal, ya que un sistema radical con una calidad deficiente en etapas posteriores del proceso de producción llega a significar mermas (plantas muertas o para desecho). Por lo tanto, esta investigación resalta la necesidad de evitar protocolos conservadores que priorizan la supervivencia durante la etapa de enraizamiento a expensas de la calidad y funcionalidad radical (Gonçalves et al., 1998).

5.3.4 Efecto de la proporción

La proporción de auxinas (ANA:AIB) mostró un impacto significativo en la calidad del sistema radical inducido en los brotes de 'Duke 7' (Cuadro 13). En general el tratamiento con ANA puro (100:0) fue el más efectivo, con el mayor número de raíces (78.34), el ICE más alto (234.72 cm) y una distribución de raíces homogénea (BDRH = 97.50 %).

Cuadro 13. Comparación de medias y diferencias mínimas significativas honestas (DMSH) entre proporciones de auxinas en variables de respuesta de brotes etiolados de aguacate.

Variable	Factor: Proporción			DMSH
	ANA:AIB (100:0)	ANA:AIB (50:50)	ANA:AIB (0:100)	
Supervivencia (%)	80.04 b ^z	81.37 ab	91.40 a	2.35
Enraizamiento (%)	80.04 a	80.49 a	89.22 a	2.40
Altura de brote (%)	21.01 b	20.47 b	32.86 a	0.71
Diámetro de brote (%)	34.04 a	38.89 a	40.71 a	0.65
Número de raíces	78.34 a	50.61 b	35.14 c	9.92
Longitud de raíces (cm)	3.00 b	2.80 b	3.07 a	0.21
Diámetro de raíces (mm)	1.63 a	1.56 b	1.50 c	0.08
ICE (cm)	234.72 a	145.18 b	108.26 b	33.73
BRS (%)	93.36 a	95.31a	99.33 a	4.75
BC (%)	98.09 a	90.88 b	85.18 b	3.22
BCA (%)	84.18 a	30.76 b	15.71 b	4.17
BDRH (%)	97.50 a	56.93 b	47.42 b	4.06

ICE: índice de calidad de enraizamiento; BRS: Brotes con raíces secundarias; BC: Brotes con callo; BCA: Brotes con callo abundante; BDRH: Brotes con distribución de raíces homogénea.

^zLetras distintas indican diferencias significativas entre formulaciones (Tukey, $\alpha = 0.05$).

La proporción ANA:AIB (50:50) exhibió un equilibrio intermedio, con valores moderados en número de raíces (50.61) e ICE (145.18 cm), pero una reducción significativa en callosidad (BCA = 30.76 %) y distribución homogénea de raíces (BDRH = 56.93 %) en comparación con ANA:AIB (100:0). Por otro lado, la proporción ANA:AIB (0:100) destacó en supervivencia y altura de brotes, pero registró el menor número de raíces (35.14), diámetro radical más bajo (1.50 mm) e ICE reducido (108.26 cm), lo que muestra una menor capacidad para inducir un sistema radical adecuado (Cuadro 13).

La evidencia experimental de esta investigación refuerza la necesidad de encontrar un balance entre la calidad radical (favorecida por ANA) y la supervivencia (favorecida por AIB). La proporción ANA:AIB (100:0) se considera óptima para mejorar la formación y la uniformidad de raíces, a diferencia de la proporción ANA:AIB (0:100) se considera apropiada en condiciones de estrés abiótico en las que la supervivencia inicial es primordial. La ausencia de diferencias en el porcentaje de enraizamiento entre las diferentes proporciones de auxinas implicó que, a pesar de las variaciones en la calidad de las raíces, la capacidad de inducir raíces adventicias se mantuvo estable en las tres proporciones evaluadas.

El ácido 1-naftalenacético (ANA) y el ácido indol-3-butírico (AIB) son auxinas ampliamente empleadas en el campo de la propagación de plantas, cada una de estas sustancias presenta distintos mecanismos bioquímicos y aplicaciones prácticas (Hartmann et al., 2014). Aunque se esperaría que la combinación de ambas auxinas produjera un efecto sinérgico, en el enraizamiento de 'Duke 7' el comportamiento observado podría atribuirse a una posible interferencia en sus rutas hormonales. Se ha documentado que la diferenciación del tejido vascular y la inducción de raíz adventicias dependen de una distribución temporal y espacial de auxinas altamente regulada (Péret et al., 2009; Ikeuchi et al., 2013). La presencia simultánea de ANA y AIB podría desestabilizar esa distribución y alterar la expresión de genes clave como *ARF*, *LBD* y *WOX*, involucrados en el proceso de formación de raíces adventicias (Du et al., 2024).

Además, la menor distribución homogénea de raíces en la proporción 50:50 indicaría que la combinación de auxinas puede inducir una respuesta morfogénica heterogénea en células vecinas (Figura 12c,d). A nivel celular, esta respuesta podría estar relacionada con diferencias en la afinidad, metabolismo o transporte intracelular de ANA y AIB, lo cual alteraría la direccionalidad del flujo hormonal y, por ende, la arquitectura del sistema radical (Korasick et al., 2013; Simon & Petrášek, 2011; Jan et al., 2024).

Ambas auxinas son compuestos sintéticos y muestran una efectividad biológica mayor en comparación con el ácido indolacético (AIA); este comportamiento se ha atribuido a sus configuraciones moleculares que confieren resistencia a la degradación enzimática, lo que prolonga su actividad biológica al evitar la degradación en los tejidos vegetales (Dobrev et al., 2023). Concretamente, el AIB muestra un periodo prolongado de actividad en los tejidos vegetales con relación al AIA, lo que aumenta su eficacia para promover el desarrollo de raíces (Epstein & Ludwig-Müller, 1993). Además, la aplicación de AIB favorece la formación de raíces a través de la vía de la β -oxidación donde se transforma en AIA, lo que incrementa la unión de la auxina a sus receptores (Gonin et al., 2019).

Por el contrario, el ANA, que se metaboliza principalmente por conjugación en lugar de oxidación, posee la capacidad de mantener una actividad más prolongada que el AIB en los tejidos vegetales (De Klerk et al., 2011; Epstein & Ludwig-Müller, 1993). Esta característica explicaría su eficacia para promover el desarrollo de raíces adventicias y la formación de callos densos (De Klerk et al., 1999).

La retención prolongada del ANA en los tejidos vegetales puede aclarar la arquitectura uniforme de las raíces observada en la proporción 100:0, BDRH = 97.5 %), así como sus posibles efectos fitotóxicos. Es probable que esta fitotoxicidad esté relacionada a la acumulación de auxina libre, lo que resultaría en la disminución de los porcentajes de supervivencia (80.04 % en ANA frente a 91.40 % en AIB) (Hąc-Wydro & Flasiński, 2015). Por el contrario, la rápida degradación del AIB por acción de enzimas como las peroxidasas, puede producir una señalización auxínica efímera, que minimiza el estrés oxidativo (Ludwig-Müller, 2011). Este fenómeno fue congruente con una mayor supervivencia (91.40 %) y un mayor crecimiento vertical de los brotes acodados (altura = 32.86 % con AIB frente a 21.02 % con ANA), además de una organogénesis radical restringida (35.14 raíces con AIB frente a 78.34 raíces con ANA), que resultó en sistemas radicales escasos y posiblemente limitados para promover un crecimiento vigoroso después de separarlos de la nodriza.

En la horticultura, la selección entre ANA y AIB depende de los requisitos específicos de cada especie, la metodología de propagación empleada y de sus consideraciones prácticas (Hartmann et al., 2014). La mayor estabilidad y eficacia asociadas al AIB lo convierten en la opción preferida para la propagación de numerosas especies leñosas (Blythe et al., 2007). Sin embargo, el ANA puede presentarse como una opción económicamente más viable y ventajosa en casos específicos (Gavilanes et al., 2006; Husen & Pal, 2006).

En el caso particular del portainjerto ‘Duke 7’, los hallazgos indican que, ANA en su forma pura (100:0) se perfila como la auxina más eficiente para promover sistemas radicales más robustos y funcionales, que podrían traducirse en un mejor desarrollo vegetativo posterior. Sin embargo, en portainjertos con sensibilidad marcada al ANA, el AIB puede ser una alternativa más adecuada debido a su perfil de menor toxicidad.

5.3.5 Efecto de la interacción de factores

La interacción entre formulación, concentración y proporción de auxinas influyó significativamente en diferentes variables evaluadas, lo que evidencia que los efectos de los tratamientos sobre el enraizamiento de ‘Duke 7’ no pueden atribuirse a un solo factor de manera aislada, sino que dependen del ajuste específico de los factores estudiados.

En particular, se identificó que el número de raíces por brote, la longitud y el diámetro radical, el índice de calidad del enraizamiento (ICE), el porcentaje de brotes con callo (BCA), la distribución de raíces (BDRH) e incluso la supervivencia y el porcentaje de enraizamiento fueron regulados por condiciones específicas de formulación, concentración y proporción de ANA y AIB.

Este tipo de interacción se refleja en las imágenes generadas por los mapas de calor, que mostraron patrones de respuestas máximas y mínimas bajo condiciones específicas (Figuras 11-13).

Las auxinas en su formulación de sales potásicas mostraron un desempeño superior en porcentaje de enraizamiento, con porcentajes altos (86.7 – 100 %), en todas las combinaciones de concentración y proporción. En contraste, las formulaciones ácidas fueron afectadas significativamente por la proporción de auxinas. La aplicación de ANA puro (100:0) logró 86.7 % a 24.6, pero disminuyó a 40 % en concentraciones superiores (34.4 y 44.1 mM) (Figura 11a,b).

Estos resultados destacan una mayor funcionalidad de las sales potásicas frente a las formulaciones ácidas. En las proporciones 50:50, el enraizamiento fue drásticamente afectado en las formulaciones ácidas. Este patrón es consistente con una respuesta hormética, caracterizada por la estimulación del enraizamiento a dosis bajas y toxicidad a dosis altas, como ha sido ampliamente descrito en sistemas vegetales, donde el antagonismo de la mezcla de sustancias ocurre con mayor frecuencia en la proporción equimolar (Agathokleous et al., 2020).

Los efectos antagónicos de AIB y ANA en la proporción equimolar pueden deberse a la competencia por receptores o a diferencias en sus vías metabólicas, ya que el AIB se convierte en IAA en los tejidos vegetales (Lei et al., 2018); mientras que ANA promueve el enraizamiento al tiempo que reduce los niveles endógenos de ácido indol-3-acético y citocininas (Wang et al., 2019). Por lo tanto, la evaluación de múltiples proporciones molares puede proporcionar información importante para obtener respuestas óptimas.

La supervivencia también mostró dependencia de la interacción de factores, con tendencias similares a las observadas en el enraizamiento (Figura 8a). Todos los tratamientos con formulación de sales potásicas mostraron supervivencias elevadas (≥ 86.7 %), independientemente de la concentración o proporción. En contraste, las formulaciones ácidas, mostraron una reducción significativa de la supervivencia (hasta 40 %), con la excepción de la aplicación de AIB puro (0:100), que mantuvo una supervivencia de 100 % incluso a concentraciones altas (44.2 mM). Aunque la concentración y la formulación, fueron los factores principales que determinaron esta respuesta, el tratamiento más fitotóxico fue ANA 100:0 en formulación ácida a 44.2 mM, el cual provocó necrosis en la base de los brotes

enraizados debido al escurrimiento de la solución de auxina disuelta en etanol:isopropanol (70:30; v/v).

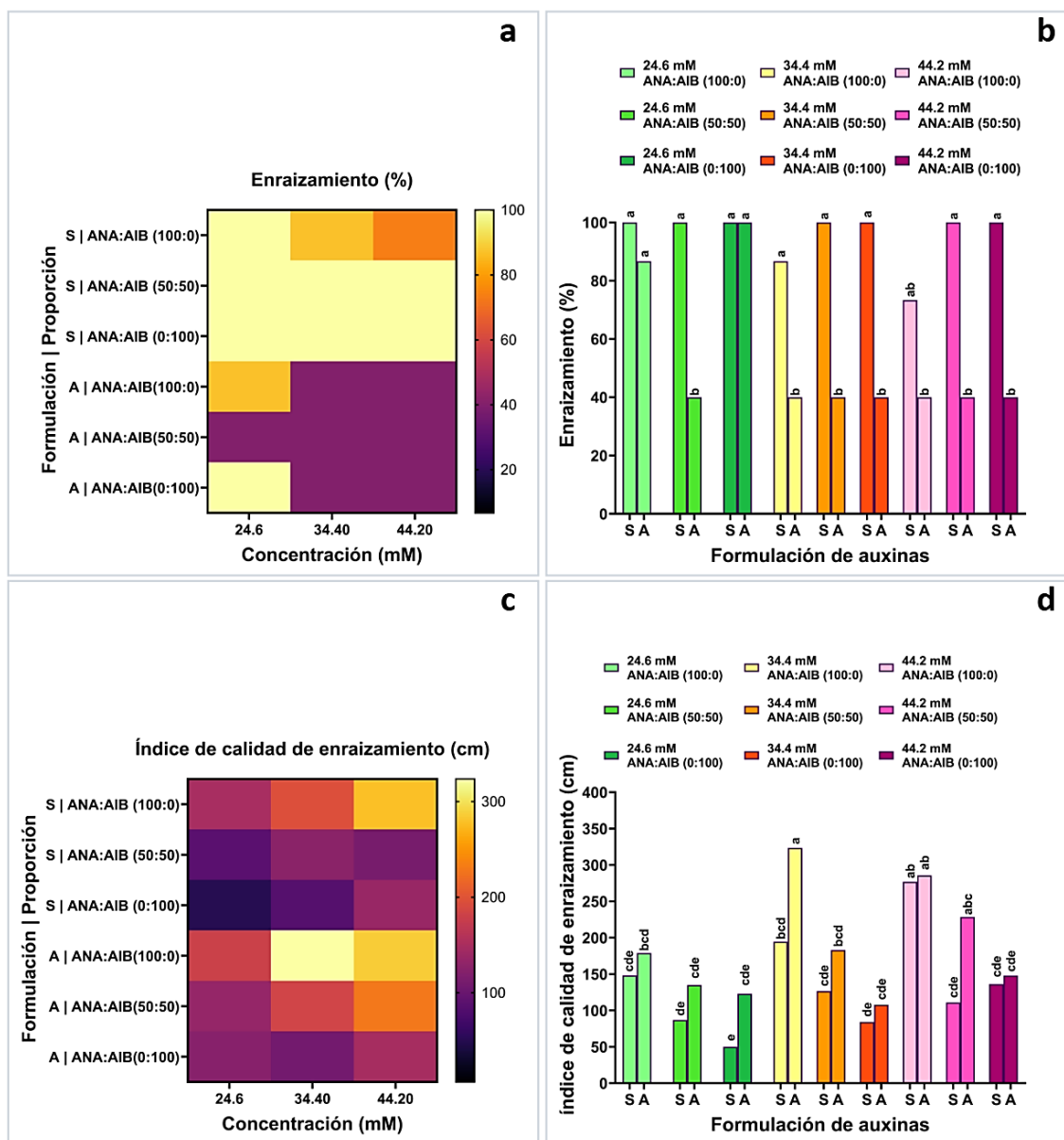


Figura 11. Efectividad de tratamientos y calidad estructural del sistema de raíces: mapas de calor y comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$). a) Porcentaje de enraizamiento. b) Índice de calidad de enraizamiento.

Este patrón coincide con la menor toxicidad y mayor estabilidad del AIB, incluso acompañado de solventes agresivos (Rademacher, 2015), en cambio, la aplicación de ANA afectó la integridad de los tejidos, posiblemente debido a su

mayor permeabilidad cuticular (Schönherr, 2006) que le conferiría capacidad para provocar desorganización de las membranas celulares (Hąc-Wydro & Flasiński, 2015) y al combinarse con alcoholes sería más agresivo químicamente, así como por su menor afinidad a las proteínas transportadoras, lo que podría reducir su control intracelular y aumentar su toxicidad (Calderón-Villalobos et al., 2012; Korasick et al., 2013; Hammes et al., 2021).

El análisis del índice de calidad de enraizamiento (ICE) reveló diferencias significativas entre formulaciones y tratamientos. La formulación de sal potásica mostró un incremento progresivo del ICE con la proporción ANA:AIB (100:0), hasta alcanzar su valor máximo (277.05 cm) a la concentración más alta (44.2 mM), a diferencia de las proporciones 50:50 y 0:100 que mantuvieron valores notablemente inferiores (≤ 136.23 cm) en todas las concentraciones evaluadas.

En contraste, la formulación ácida destacó por registrar el ICE más elevado del estudio (323.53 cm) con la combinación ANA:AIB (100:0) a 34.4 mM, seguido de 285.59 cm a 44.2 mM. Esta formulación exhibió además un efecto sinérgico dependiente de la concentración en la proporción 50:50, donde el ICE aumentó 73.4 % al incrementar la dosis de 24.6 mM (134.85 cm) a 44.2 mM (228.67 cm). Los valores más bajos se observaron con la sal potásica en proporción 0:100 (AIB puro) a 24.6 mM (ICE = 50.04 cm) (Figura 11c, d). Estos resultados demostraron que la formulación ácida a altas concentraciones (34.4-44.2 mM) y predominancia de ANA (100:0) optimiza la calidad del sistema radical, en cambio en formulación de sal potásica se requiere exclusivamente de ANA puro en alta concentración (>34.4 mM) para alcanzar valores competitivos (Figura 11d), lo que manifiesta diferencias notables en los mecanismos de acción de ambas formulaciones. En el aspecto práctico es destacable la importancia de identificar la combinación de factores que permitan balancear entre calidad radical y viabilidad del material vegetal para implementar un protocolo de propagación exitoso (Gonçalves et al., 2009; Hartmann et al., 2014).

Por otra parte, la distribución de raíces, otra variable relevante de esta investigación, presentó una marcada influencia de la interacción de los factores

evaluados (Cuadro 10; Figura 12). Para la formulación de sal potásica, la proporción ANA:AIB (100:0) generó los mayores porcentajes de brotes con distribución de raíces homogénea (BDRH), al alcanzar 86.7 % y 100 % en concentraciones de 24.6 y 34.4 mM, respectivamente, aunque este desempeño disminuyó significativamente (63.67 %) en la concentración más alta (44.2 %).

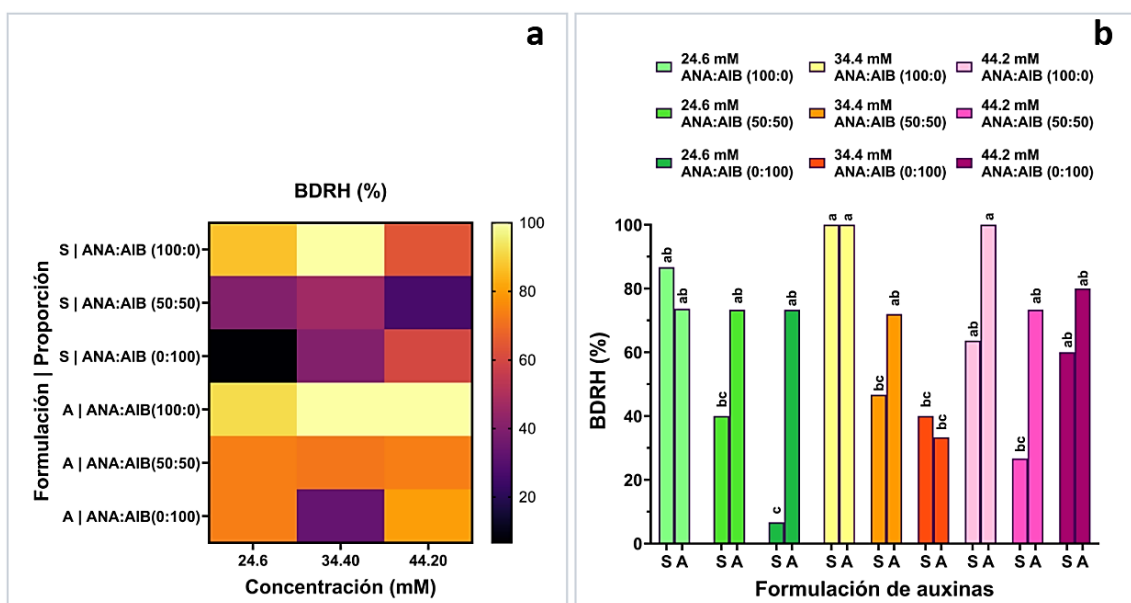


Figura 12. Uniformidad el sistema de raíces en 'Duke 7'. a) Mapa de calor. b) Comparación de medias entre tratamientos (Tukey, $\alpha = 0.05$). BDRH: Brotes con distribución de raíces homogénea.

Las proporciones 50:50 y 0:100 mostraron resultados inconsistentes, con valores de BDRH que fluctuaron entre 6.67 % y 60 %. En contraste, la formulación ácida demostró superioridad consistente, con la proporción 100:0 mantuvo valores de BDRH entre 91.6 % y 100 % en todas las concentraciones, a diferencia de la proporción 0:100 se observó una variación entre 33.33 % (34.4 mM) hasta 80 % (44.2 mM). Estos patrones sugieren que la formulación ácida con ANA puro (100:0) garantizó uniformidad radical, independientemente de la concentración, y que el AIB en formulación ácida puede inducir distribución homogénea, pero solo a concentraciones elevadas, respuestas que se explicarían por la capacidad de difusión pasiva a través de las membranas celulares de las auxinas en su forma ácida (Lomax, 1985). Esta difusión pasiva es impulsada por gradientes de

concentración y no requiere energía ni proteínas de transporte específicas (Lomax, 1985); sin embargo, las formulaciones con sales potásicas, al poseer un pH más alto se vuelven menos lipofílicas, dependen más de mecanismos de transporte activo para su absorción celular (Reemmer & Murphy, 2013). Con excepción de la sal potásica de ANA que mantiene un pH ácido (5.53), que facilitaría su transporte pasivo de acuerdo al modelo quimiosmótico del transporte de auxinas (Bhatla & Lal, 2023), por lo tanto, lograría una mejor distribución en la formación raíces adventicias en comparación del resto de tratamientos con sales potásicas (Figura 12; Figura 13).

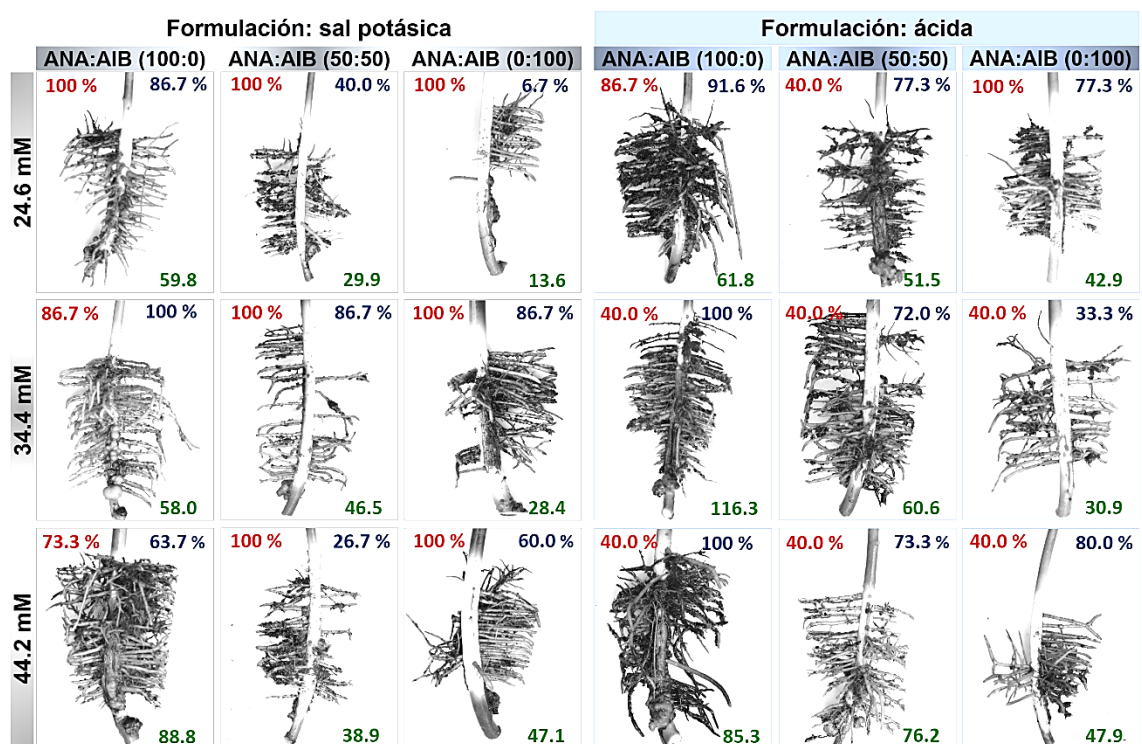


Figura 13. Efecto de formulaciones de ANA y AIB en la arquitectura radical de 'Duke 7': Interacción entre tipo de formulación, concentración y proporción. Supervivencia (porcentaje de brotes, rojo). Brotes con desarrollo de raíces homogéneo (porcentaje de brotes, azul). Cantidad de raíces promedio (verde).

Para aplicaciones prácticas, estas observaciones respaldan el uso preferencial de la formulación ácida con ANA puro como la estrategia más confiable para lograr sistemas de raíces uniformes y de buena calidad, en tanto que las sales potásicas requerirían condiciones más restrictivas (ANA puro a 34.4 mM) para

optimizar este parámetro (Figura 13). No obstante, la viabilidad de su aplicación está sujeta al ambiente del sitio de propagación, pues en condiciones de estrés abiótico (baja humedad relativa), el AIB puro (0:100) demostró tener el mejor desempeño en supervivencia (91.4 %), a pesar de sacrificar calidad radical. Estos resultados llevan a proponer dos protocolos diferenciados: uno basado en formulación ácida a 24.6 mM para máxima calidad radical en ambientes controlados, y otro con sales potásicas a 34.4 mM para producción a gran escala, ya que ambos logran un enraizamiento uniforme y eficiencia de recursos. La elección entre estos sistemas deberá ponderar no solo los indicadores agronómicos, sino también los costos operativos y las limitantes ambientales del sitio de producción.

Finalmente, el número y diámetro de raíces también fue afectado por la interacción de factores. El mayor número se registró en los tratamientos con ANA puro (100:0) (Figura 14), donde se alcanzaron valores superiores a 58 raíces por brote, con un valor máximo en la concentración 34.3 mM en la formulación ácida (116.3). Esta respuesta fue más efectiva en comparación con otras combinaciones, lo que sugiere que esta auxina ofrece mayor estabilidad fisiológica para la inducción de raíces adventicias en los brotes de 'Duke 7'. En contraste, el AIB exhibió una alta variabilidad; mientras que el tratamiento de AIB puro (100:0) a 24.6 mM en formulación potásica promovió la formación de un bajo número de raíces (13.6), la misma concentración y proporción en la formulación triplicó dicho valor (42.9). En todas las concentraciones, la combinación de auxinas fue más efectiva para estimular la formación de raíces en comparación del AIB puro, pero en ningún caso superó la efectividad de ANA puro (Figura 14a, b).

En cuanto al diámetro de raíz, se observó un patrón diferente al número de raíces, con diferencias significativas influenciadas por la interacción de factores (Figura 14c, d). El mayor diámetro promedio (2 mm) se registró en la formulación ácida con ANA puro (100:0) a 44.2 mM, significativamente superior al resto de los tratamientos (Figura 14c), seguido del tratamiento con AIB puro a 34.4 mM en la

misma formulación, lo que mostró que las auxinas en forma ácida, inducen raíces más engrosadas. En contraste, las formulaciones de sal potásica generaron raíces más delgadas con diámetros entre 1.1 y 1.7 mm (Figura 14c, d).

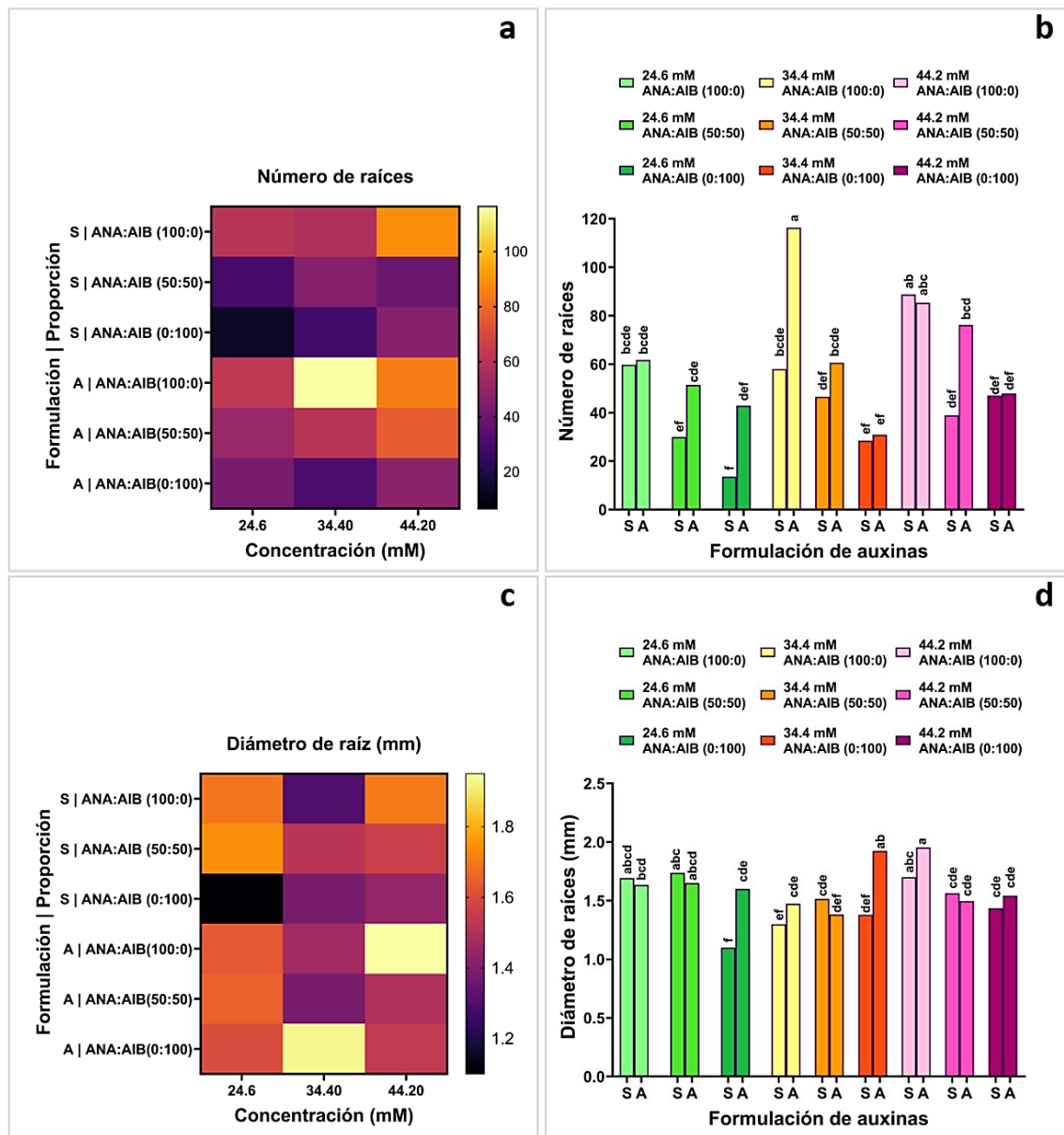


Figura 14. Número y diámetro de raíces en brotes de ‘Duke 7’: mapas de calor y comparación de medias entre tratamientos. a) Número promedio de raíces por brote. b) Diámetro promedio de raíces. Comparación de medias (Tukey, $\alpha = 0.05$).

En particular, AIB puro (0:100) generó las raíces más delgadas (1.1 mm), a diferencia de las proporciones 50:50 que en las dos formulaciones evaluadas

presentaron diámetros intermedios (1.4 - 1.7 mm) (Figura 14b, c). Estos resultados indican que las formulaciones ácidas promovieron diámetros mayores, posiblemente debido a una mayor absorción pasiva de las auxinas a través de las membranas, lo que intensifica localmente la actividad hormonal (Lomax, 1985; Bhatla & Lal, 2023).

En el caso de ANA puro (100:0) en formulación ácida, el incremento progresivo del diámetro con la concentración (de 1.6 a 2.0 mm), indica un efecto dosis-dependiente, que podría asociarse con una mayor acumulación de auxina en los tejidos de los primordios y raíces adventicias. Sin embargo, esta respuesta se acompañó de un mayor riesgo fitotóxico, como se indicó previamente en la variable supervivencia, lo que limita su aplicación en protocolos comerciales.

Por otra parte, las auxinas en su formulación de sal potásica mostraron un comportamiento más estable, lo cual podría atribuirse a su absorción controlada por mecanismos de transporte activo, favorecida por su menor lipofilia (Reemmer & Murphy, 2013; Hammes et al., 2021). Esta característica limitaría la difusión pasiva en el tejido del brote etiolado de aguacate y permitiría una acción de las auxinas más gradual. Este patrón coincide con las respuestas observadas cuando se aplicó AIB en forma de sal potásica a 26.6 mM, que no solo indujo el menor número de raíces por brote, sino que también generó las raíces más delgadas entre todos los tratamientos evaluados, lo que reflejaría una menor intensidad de la respuesta rizogénica bajo estas condiciones.

5.4 Conclusiones

La formación de raíces adventicias en el portainjerto ‘Duke 7’ dependió significativamente de la interacción entre tres factores: el tipo de formulación (sales potásicas frente a formulaciones ácidas), la concentración de auxinas (24.6-44.2 mM) y la proporción ANA:AIB (100:0 a 0:100). Se evidenció una clara relación inversa entre supervivencia y calidad radical según la formulación empleada.

Las sales potásicas mostraron los mejores porcentajes de supervivencia (hasta 99.28 %) y enraizamiento completo (100 %), pero produjeron sistemas radicales menos desarrollados (ICE = 134.99 cm). Por el contrario, las formulaciones ácidas generaron los sistemas radicales más vigorosos (ICE = 323.53 cm), aunque con mayor riesgo de fitotoxicidad en concentraciones elevadas (supervivencia reducida hasta 56.56 % a ≥ 34.4 mM).

La proporción ANA:AIB 100:0 fue la más efectiva para promover un desarrollo radical uniforme (BDRH = 97.5 %) y abundante (78.3 raíces por brote), aunque con supervivencia moderada (80.04 %). En contraste, la proporción 0:100 (AIB puro) maximizó la supervivencia (91.40 %), pero presentó limitaciones en la calidad radical (BDRH = 47.42 %; ICE = 108.26 cm), por lo que su uso es recomendable solo para condiciones de estrés abiótico severo. La combinación equimolar (50:50) mostró un efecto antagónico que redujo la calidad radical (ICE = 145.18 cm), descartándose para uso comercial.

Para la producción comercial de ‘Duke 7’ se establecieron dos protocolos óptimos según las condiciones de cultivo. La formulación ácida con ANA puro (100:0) a 24.6 mM, que combina buena supervivencia (86.67 %) con excelente calidad radical (ICE = 179.11 cm; BDRH = 91.6 %), además de reducir en 30 % el uso de auxinas; ideal para ambientes controlados. La sal potásica con ANA puro (100:0) a 34.4 mM, que mantiene igual supervivencia (86.67 %) mientras maximiza la uniformidad del enraizamiento (BDRH = 100%) sin requerir solventes orgánicos, se recomienda para operaciones a gran escala y ambientes sin control activo de temperatura y humedad.

Estos protocolos superan los métodos convencionales al ofrecer sistemas radicales más uniformes y funcionales, con menor riesgo de fitotoxicidad. La elección entre ambas opciones debe considerar factores como los objetivos productivos (calidad frente a supervivencia), recursos disponibles y condiciones ambientales del vivero, y representan un avance significativo al ofrecer bases sólidas para la aplicación de tratamientos enraizadores que mejoren la propagación clonal de aguacate.

5.5 Literatura citada

- Agathokleous, E., Kitao, M., & Calabrese, E. J. (2020). Hormesis: highly generalizable and beyond laboratory. *Trends in Plant Science*, 25(11), 1076–1086. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.05.006>
- Aguirre-López, J. M., Peña-Sosa, O., Magallanes-Prado, V., & Jiménez-Carrasco, J. S. (2024). Analysis of the structure of the global avocado (*Persea americana* Mill) trade network. *Agro Productividad*, 13(3), 109–117. <https://doi.org/10.32854/agrop.v17i3.2691>
- Barreto, G. F., Arcanjo, M., Riberio, R., Oliveira, C., Castro, T. S., de, J., Maia, S., & Torres, L. (2023). Herbicide-induced hormesis and its effect on crop development. *Revista Agro Ambiente On-Line*, 17, 1–19. <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v17i00.7654>
- Barrientos-Priego, A., Borys, M. W., & Barrientos-Pérez, F. (1986). Rooting of Avocado cuttings (*Persea americana* Mill.) cvs. Fuerte and Colin V-33. *California Avocado Society Yearbook*, 70, 157–164.
- Bhatla, S. C., & Lal, M. A. (2023). Auxins. In *Plant physiology, development and metabolism* (pp. 399–420). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-99-5736-1_15
- Blythe, E. K., Sibley, J. L., Tilt, K. M., & Ruter, J. M. (2007). Methods of auxin application in cutting propagation: a review of 70 years of scientific discovery and commercial practice. *Journal of Environmental Horticulture*, 25(3), 166–185. <https://doi.org/10.24266/0738-2898-25.3.166>
- Calderón-Villalobos, L. I. A., Lee, S., De Oliveira, C., Ivetac, A., Brandt, W., Armitage, L., Sheard, L. B., Tan, X., Parry, G., Mao, H., Zheng, N., Napier, R., Kepinski, S., & Estelle, M. (2012). A combinatorial TIR1/AFB–Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin. *Nature Chemical Biology*, 8(5), 477–485. <https://doi.org/10.1038/nchembio.926>

- Castro, M., Fassio, C., & Cruz, R. (2021). Efecto del tamaño de la semilla nodriza en el enraizamiento de paltos clonales. *Memorias del VI congreso latinoamericano del aguacate*, 1–6.
- Celis, N., Suarez, D. L., Wu, L., Li, R., Arpaia, M. L., & Mauk, P. (2018). Salt tolerance and growth of 13 avocado rootstocks related best to chloride uptake. *HortScience*, 53(12), 1737–1745. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI13198-18>
- Davies, F. T., Kester, D. E., & Davis, T. D. (1994). Commercial importance of adventitious rooting to horticulture. In T. D. Davis & B. E. Haissig (Eds.), *Biology of Adventitious Root Formation* (pp. 53–59). Springer.
- De Klerk, G.-J., Brugge, J. T., & Marinova, S. (1997). Effectiveness of indoleacetic acid, indolebutyric acid and naphthaleneacetic acid during adventitious root formation *in vitro* in *Malus* ‘Jork 9’. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 49(1), 39–44. <https://doi.org/10.1023/a:1005850222973>
- De Klerk, G.-J., Guan, H., Huisman, P., & Marinova, S. (2011). Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* ‘Jork 9’. *Plant Growth Regulation*, 63(2), 175–185. <https://doi.org/10.1007/s10725-010-9555-9>
- De Klerk, G.-J., Van der Krieken, W., & De Jong, J. C. (1999). Review the formation of adventitious roots: new concepts, new possibilities. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 35(3), 189–199. <https://doi.org/10.1007/s11627-999-0076-z>
- Del Castillo-Llamosas, A., del Río, P. G., Pérez-Pérez, A., Yáñez, R., Garrote, G., & Gullón, B. (2021). Recent advances to recover value-added compounds from avocado by-products following a biorefinery approach. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*, 28, Article 100433. <https://doi.org/10.1016/j.cogsc.2020.100433>

- Dobrev, P. I., Filepová, R., Lacek, J., Vondráková, Z., Müller, K., Maršík, P., Drašarová, L., Talacko, P., Hošek, P., & Petrášek, J. (2023). Study of auxin metabolism using stable isotope labeling and LCMS; evidence for *in planta* auxin decarboxylation pathway. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2023.06.02.543384>
- Du, Q., Song, K., Wang, L., Du, L., Du, H., Li, B., Li, H., Yang, L., Wang, Y., & Liu, P. (2024). Integrated transcriptomics and metabolomics analysis promotes the understanding of adventitious root formation in *Eucommia ulmoides* Oliver. *Plants*, 13(1), 136–136. <https://doi.org/10.3390/plants13010136>
- Duman, Z., Hadas-Brandwein, G., Eliyahu, A., Belausov, E., Abu-Abied, M., Yeselson, Y., Faigenboim, A., Lichter, A., Irihimovitch, V., & Sadot, E. (2020). Short de-etiolation increases the rooting of VC801 avocado rootstock. *Plants*, 9(11), Article 1481. <https://doi.org/10.3390/plants9111481>
- Epstein, E., & Ludwig-Muller, J. (1993). Indole-3-butyric acid in plants: occurrence, synthesis, metabolism and transport. *Physiologia Plantarum*, 88(2), 382–389. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1993.tb05513.x>
- Ernst, A. (1999). Micro cloning: a multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 5, 217–220.
- Escobedo, V., & Escobedo, J. A. (2011). Adventitious root formation without rooting medium in etiolated shoots of ‘Duke’ avocado (*Persea americana*) growing on nurse plants. *Acta Horticulturae*, 923, 227–232.
- Gavilanes, L. R., Rosero, N. C., Carriel, J. M., & Villacís, O. (2006). Empleo de hormonas (ANA y AIB) estimuladoras del enraizamiento para la propagación vegetativa de *Chlorophora tinctoria* (L) Gaud (moral fino) en el litoral ecuatoriano. *Foresta Veracruzana*, 8(1), 9–12.
- Geiss, G., Gutierrez, L., & Bellini, C. (2009). Adventitious root formation: new insights and perspectives. *Annual Plant Reviews*, 37, 127–156. <https://doi.org/10.1002/9781444310023.ch5>

- Gomes, G. L. B., & Scortecci, K. C. (2021). Auxin and its role in plant development: structure, signalling, regulation and response mechanisms. *Plant Biology*, 23(6), 894–904. <https://doi.org/10.1111/plb.13303>
- Gonçalves, J. C., Diogo, G., & Amâncio, S. (1998). In vitro propagation of chestnut (*Castanea sativa* × *C. crenata*): Effects of rooting treatments on plant survival, peroxidase activity and anatomical changes during adventitious root formation. *Scientia Horticulturae*, 72(3-4), 265–275. [https://doi.org/10.1016/s0304-4238\(97\)00136-2](https://doi.org/10.1016/s0304-4238(97)00136-2)
- Gonin, M., Bergougnoux, V., Nguyen, T. D., Gantet, P., & Champion, A. (2019). What makes adventitious roots? *Plants*, 8(7), Article 240. <https://doi.org/10.3390/plants8070240>
- Gustafson, C. D., & Kadman, A. (1969). Effect of some plant hormones on the rooting capacity of avocado cuttings. *California Avocado Society Yearbook*, 53, 97–100.
- Gutknecht, J., & Walter, A. (1980). Transport of auxin (indoleacetic acid) through lipid bilayer membranes. *The Journal of Membrane Biology*, 56(1), 65–72. <https://doi.org/10.1007/bf01869353>
- Hąc-Wydro, K., & Flasiński, M. (2015). The studies on the toxicity mechanism of environmentally hazardous natural (IAA) and synthetic (NAA) auxin – The experiments on model *Arabidopsis thaliana* and rat liver plasma membranes. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 130, 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.03.064>
- Hammes, U. Z., Murphy, A. S., & Schwechheimer, C. (2021). Auxin transporters—a biochemical view. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 14(2), a039875–a039875. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a039875>
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., & Geneve, R. L. (2014). Techniques of propagation by cuttings. In *Hartmann & Kester's plant propagation principles and practices* (pp. 362–432). Pearson Education Limited.

- Hiti-Bandaralage, J. C. A., Hayward, A., & Mitter, N. (2017). Micropropagation of Avocado (*Persea Americana* Mill.). *American Journal of Plant Sciences*, 08(11), 2898–2921. <https://doi.org/10.4236/ajps.2017.811197>
- Hofshi, R. (1996). Experiments with cloning avocado rootstocks. *California Avocado Society Yearbook*, 80, 103–108.
- Husen, A., & Pal, M. (2006). Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. *New Forests*, 33(3), 309–323. <https://doi.org/10.1007/s11056-006-9030-7>
- Ikeuchi, M., Sugimoto, K., & Iwase, A. (2013). Plant callus: mechanisms of induction and repression. *The Plant Cell*, 25(9), 3159–3173. <https://doi.org/10.1105/tpc.113.116053>
- Iwase, A., Mitsuda, N., Koyama, T., Hiratsu, K., Kojima, M., Arai, T., Inoue, Y., Seki, M., Sakakibara, H., Sugimoto, K., & Ohme-Takagi, M. (2011). The AP2/ERF transcription factor WIND1 controls cell dedifferentiation in *Arabidopsis*. *Current Biology*, 21(6), 508–514. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.02.020>
- Jan, M., Muhammad, S., Jin, W., Zhong, W., Zhang, S., Lin, Y., Zhou, Y., Liu, J., Liu, H., Munir, R., Yue, Q., Afzal, M., & Wang, G. (2024). Modulating root system architecture: cross-talk between auxin and phytohormones. *Frontiers in Plant Science*, 15, Article 1343928. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1343928>
- Korasick, D. A., Enders, T. A., & Strader, L. C. (2013). Auxin biosynthesis and storage forms. *Journal of Experimental Botany*, 64(9), 2541–2555. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert080>

- Lei, C., Fan, S., Li, K., Meng, Y., Mao, J., Han, M., Zhao, C., Bao, L., & Zhang, D. (2018). iTRAQ-based proteomic analysis reveals potential regulation networks of IBA-induced adventitious root formation in apple. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(3), Article 667. <https://doi.org/10.3390/ijms19030667>
- Linke, B., Schröder, K., Arter, J., Gasperazzo, T., Woehlecke, H., & Ehwald, R. (2010). Extraction of nucleic acids from yeast cells and plant tissues using ethanol as medium for sample preservation and cell disruption. *BioTechniques*, 49(3), 655–657. <https://doi.org/10.2144/000113476>
- Lomax, T. L. (1985). Active auxin uptake by specific plasma membrane carriers. In M. Bopp (Ed.), *Plant growth substances 1985* (pp. 209–213). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-71018-6_25
- Ludwig-Müller, J. (2011). Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants. *Journal of Experimental Botany*, 62(6), 1757–1773. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq412>
- McCarthy-Suárez, I. (2017). Role of reactive oxygen species in auxin herbicide phytotoxicity: current information and hormonal implications — are gibberellins, cytokinins, and polyamines involved? *Botany*, 95(4), 369–385. <https://doi.org/10.1139/cjb-2016-0084>
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Van Breusegem, F. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10), 490–498. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009>
- Péret, B., Larrieu, A., & Bennett, M. J. (2009). Lateral root emergence: a difficult birth. *Journal of Experimental Botany*, 60(13), 3637–3643. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp232>
- Pérez-Jiménez, R. M. (2008). Significant avocado diseases caused by fungi and oomycetes. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, 2(1), 1–24.

- Prabhu, S. A., Ndlovu, B., Engelbrecht, J., & van den Berg, N. (2017). Generation of composite *Persea americana* (Mill.) (avocado) plants: A proof-of-concept-study. *Plos One*, 12(10), Article e0185896. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0185896>
- Rademacher, W. (2015). Plant growth regulators: backgrounds and uses in plant production. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(4), 845–872. <https://doi.org/10.1007/s00344-015-9541-6>
- Reemmer, J., & Murphy, A. (2014). Intercellular transport of auxin. In E. Zažímalová, J. Petrášek, & E. Benková (Eds.), *Auxin and its role in plant development* (pp. 75–100). Springer Vienna. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1526-8_5
- Roussos, P. A. (2023). Adventitious root formation in plants: the implication of hydrogen peroxide and nitric oxide. *Antioxidants*, 12(4), 862–862. <https://doi.org/10.3390/antiox12040862>
- Rubery, P. H., & Sheldrake, A. R. (1974). Carrier-mediated auxin transport. *Planta*, 118(2), 101–121. <https://doi.org/10.1007/bf00388387>
- Schönherr, J. (1976). Naphthaleneacetic acid permeability of *Citrus* leaf cuticle. *Biochemie Und Physiologie Der Pflanzen*, 170(4-5), 309–319. [https://doi.org/10.1016/s0015-3796\(17\)30224-x](https://doi.org/10.1016/s0015-3796(17)30224-x)
- Schönherr, J. (2006). Characterization of aqueous pores in plant cuticles and permeation of ionic solutes. *Journal of Experimental Botany*, 57(11), 2471–2491. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj217>
- Schwab, J. D., Williams, K. A., & Griffin, J. J. (2021). Asexual propagation by stem cuttings of half-high and low-bush blueberries in soilless substrates. *Journal of Environmental Horticulture*, 39(2), 47–52. <https://doi.org/10.24266/0738-2898-39.2.47>
- Simon, S., & Petrášek, J. (2011). Why plants need more than one type of auxin. *Plant Science*, 180(3), 454–460. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.12.007>

- Sugimoto, K., Jiao, Y., & Meyerowitz, E. M. (2010). *Arabidopsis* regeneration from multiple tissues occurs via a root development pathway. *Developmental Cell*, 18(3), 463–471. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2010.02.004>
- Wang, Y., Pang, D., Ruan, L., Liang, J., Zhang, Q., Qian, Y., Zhang, Y., Bai, P., Wu, L., Cheng, H., Cui, Q.-M., Wang, L., & Wei, K. (2022). Integrated transcriptome and hormonal analysis of naphthalene acetic acid-induced adventitious root formation of tea cuttings (*Camellia sinensis*). *BMC Plant Biology*, 22(319), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03701-x>
- Wilkinson, S., & Davies, W. J. (2002). ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 195–210. <https://doi.org/10.1046/j.0016-8025.2001.00824.x>
- Yang, L., Chen, Y., Zhao, S., Zhang, W., Du, H., Deng, Z., & Zhang, S. (2016). Simultaneous determination of indole-3-acetic acid and indole-3-butyric acid in plant by field-amplified sample stacking open-tubular capillary electrochromatography based on solid-phase extraction with calixarene sorbent. *Chromatographia*, 79(3-4), 243–254. <https://doi.org/10.1007/s10337-015-2999-3>
- Zažímalová, E., Murphy, A. S., Yang, H., Hoyerová, K., & Hošek, P. (2010). Auxin transporters—Why so many? *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2(3), Article a001552. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a001552>