

CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ANATÓMICA DE RAÍCES DE PORTAINJERTOS DE SEMILLA Y CLONALES DE PALTO (*Persea americana* Mill).

C.Fassio¹, M. Castro¹, N. Darrouy¹ y J. Mamani¹.

¹Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. San Francisco s/n. La Palma Quillota. Chile. Correo electrónico: frutales@ucv.cl.

Las características morfológicas y anatómicas del sistema radical de portainjertos clonales y de semilla de palto (*Persea americana* Mill) fueron estudiadas a nivel de plantas de vivero. Para esta investigación fueron utilizados portainjertos de semilla sin injertar de 10 meses de desarrollo de las variedades Mexícola, Nabal, Reed y Zutano y portainjertos clonales de dieciocho meses, de las variedades Duke 7 y Toro Canyon. Las plantas fueron evaluadas en términos del diámetro de tronco, área, peso fresco y seco, a nivel foliar y radical. También fue evaluada la morfología del sistema radical identificando los tipos de raíces que componen el sistema (raíces finas con crecimiento primario y raíces gruesas con crecimiento secundario) y la secuencia con la que los distintos elementos se presentaron. Anatómicamente fueron determinados los distintos componentes observados a nivel histológico y fueron cuantificadas las proporciones del cilindro vascular y del cortex. Se pudieron determinar claras diferencias morfológicas entre el sistema radical adventicio presentado por los portainjertos clonales y el sistema radicular constituido por una raíz primaria y sus ramificaciones, presentado por los portainjertos de semilla. Histológicamente en ambos tipos de portainjertos raíces de diámetro menores a 2 mm presentaron un patrón de desarrollo distinto al de raíces de diámetros superiores, verificándose una clara especialización de las raíces de acuerdo a su diámetro y grado de lignificación. Las raíces finas y con mayor proporción de cortex estarían más relacionadas con la absorción, mientras que las más gruesas, con mayor proporción de estela estarían más relacionadas con el transporte.

Palabras clave: anatomía, raíces, palto, portainjertos, histología.

ANATOMICAL AND MORPHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF ROOTS OF SEEDLING AND CLONAL AVOCADO (*Persea americana* Mill) ROOTSTOCKS

C.Fassio¹, M. Castro¹, N. Darrouy¹ and J. Mamani¹.

¹Facultad de Agronomía. Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. San Francisco s/n. La Palma Quillota. Chile. email: frutales@ucv.cl.

Anatomical and morphological characteristics of roots of clonal and seed avocado (*Persea americana* Mill) rootstocks were studied on nursery plants. For this research, 10-month-old ungrafted seedling rootstocks of Mexícola, Nabal, Reed and Zutano varieties and 18-month-old clonal avocado rootstocks of Duke 7 and Toro canyon varieties were used. Trunk diameter, leaf and root area, fresh and dry weights in both leaf and root were determined for each rootstock. Additionally,

root morphology was assessed by identifying the type of roots (fine roots with only primary growth or thick roots with secondary growth) and the root branching order for each rootstock. The different components histologically examined were anatomically assessed, while the proportions of stele and cortex were determined. Clear morphological differences could be established between adventitious root system shown by clonal rootstocks and root system formed by a primary root and its ramifications presented by seedling rootstocks. Histologically in both clonal and seedling rootstocks, roots below 2 mm in diameter had a pattern of development different to that of roots with larger diameter, verifying a clear specification of the roots according to their diameter and rate of lignification. Finer roots with thicker cortex may function primarily for water absorption, whereas thicker roots with larger stele presumably function for water transport.

INTRODUCCION

El sistema radical del palto es descrito como poco profundo y extendido superficialmente en el área de proyección de la canopia (Whiley et al, 2002). A pesar de su importancia en la absorción de nutrientes, agua y la síntesis de importantes reguladores de crecimiento, es un órgano muy poco estudiado en esta especie.

La morfología estudia la forma que presentan los órganos y el desarrollo de éstos, mientras que la anatomía estudia la estructura. En el caso del sistema radical el estudio de la forma y función que presentan cada uno de sus componentes podría revelar las implicancias de este órgano en el almacenaje, anclaje y la adquisición y transporte de agua (Essau, 1979). Estudios anatómicos realizados en manzano por Breakbane y Thompson (1939), en Kiwi por Wang et al. (1994) y en cítricos por Eissenstat y Achor (1999), demuestran la fuerte correlación existente entre las características morfoanatómicas de las raíces y la fisiología de la planta. El presente estudio muestra una caracterización morfoanatómica de raíces de distintos portainjertos de palto (clonales y de semilla) con potencialidad de uso en Chile.

MATERIALES Y METODOS

El primer ensayo correspondió al estudio de los portainjertos clonales Duke 7 y Toro Canyon, material vegetal de gran uso como portainjerto en EE.UU. Este material actualmente se encuentra en Chile pero recién se está comenzando su evaluación a nivel de campo y su propagación a nivel comercial (Proyecto FONDEF D0411346-PUCV). Por esta razón, parte de este ensayo se realizó en EEUU, en Viveros Brokaw LLC.

Durante el mes de Junio del 2006, portainjertos de cada variedad de iguales características en términos de vigor (área foliar y diámetro de tronco) fueron seleccionados y evaluados en cuanto a su morfología y anatomía radical. Para esto se procedió en primera instancia a lavar las raíces, cuidando de perder la menor cantidad de éstas, a fotografiar su arquitectura y posteriormente a

seleccionar los tipos de raíces que se encontraron en cada planta en base a su diámetro y grado de lignificación o color.

Una vez identificados los tipos de raíces presentes en los sistemas radicales de los distintos portainjertos clonales, estas fueron disectadas y conservadas en una solución de FAA (10 formalina: 5 ácido acético glacial: 50 etanol). En estas condiciones las muestras se internaron a Chile (previa inspección por parte del SAG en el aeropuerto) y luego fueron analizadas en el laboratorio de histología del Instituto de Biología de la PUCV.

El protocolo de preparación de las muestras para su observación al microscopio consistió en realizar una deshidratación alcohólica progresiva (50º, 70º, 95º y 100º por 30 minutos cada uno). Luego se realizó una inclusión en parafina y mediante un micrótopo se tallaron los bloques en láminas de 14 µm. La tinción de las muestras se realizó con safranina y posteriormente un marcaje con *Fast Green*.

Las muestras fueron observadas utilizando un microscopio óptico (Olympus™ modelo BX40) dotado de una cámara (Sony™ CCD-Iris modelo DXC-107A) y un adaptador de cámara (Sony™ CMA-D2). La señal del adaptador fue ingresada a un computador personal mediante una tarjeta capturadora de video y el software WinTv™ (Hauppauge Computer Works).

De cada preparación histológica se tomaron fotografías con un objetivo de 10x a una resolución de 640 x 480 pixeles y el análisis de imágenes se realizó con el software Scion Image™ Beta 4.02 (Scion Corporation). A través de este software se determinó el área ocupada por la estela y la corteza. La estela corresponde al cilindro vascular ubicado en el centro de la raíz y en donde se encuentran el xilema y el floema. La corteza es el área de tejido parenquimático que rodea a la estela y que se encuentra limitada en su parte interna (en contacto con la estela) por la endodermis y en su parte externa por la epidermis.

La investigación de material vegetal propagado por semilla fue realizada en el Laboratorio de Propagación de la PUCV. En mayo del 2006 se procedió a sembrar semillas de 4 portainjertos francos actualmente usados en forma comercial en Chile: Mexícola, Nabal, Zutano y Reed. Estos portainjertos se hicieron crecer bajo invernadero frío y una vez que alcanzaron un diámetro promedio de 10 mm a los 10 cm de altura desde el sustrato (mes de diciembre), se seleccionaron 6 plantas de cada portainjerto a las que se les eliminó todo el sustrato para evaluar la morfología y anatomía a nivel histológico del sistema radical. Al igual que con los portainjertos clonales se procedió en primer lugar a lavar las raíces, cuidando de perder la menor cantidad de éstas, a fotografiar su arquitectura y posteriormente a seleccionar los tipos de raíces que se encontraron en cada planta en base a su diámetro y grado de lignificación o color. La preparación de las muestras y la metodología para la observación de los cortes histológicos es la misma descrita para los portainjertos clonales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización morfológica del sistema radical de portainjertos clonales y de semillas de palto.

En los sistemas radicales de los portainjertos clonales es posible observar un sistema radical compuesto por raíces principales adventicias, en número promedio de 10-15 y con un diámetro promedio de 4 mm. Estas luego se ramifican en raíces secundarias de aproximadamente 2 mm de diámetro, las cuales a su vez se ramifican en raíces terciarias de diámetro promedio de 1 mm (Figura 1). La lignificación en este tipo de raíces crece a medida que aumenta su grosor, sin embargo, cabe destacar que en el portainjerto Toro Canyon se presenta una categoría distinta de raíces (de un diámetro promedio mayor que las raíces adventicias primarias) de 5 mm y que además de ser gruesas son blancas (no lignificadas) y tienden a salir directamente de la raíz adventicia primaria. Normalmente crecen en la parte exterior del sistema radical (superficie en contacto con la bolsa) y son de gran extensión (Figura 2).

En relación a las áreas promedios de los sistemas radicales (Tabla 1), se puede observar que si bien las áreas totales de los distintos portainjertos no presentan grandes diferencias, es posible observar diferencias a nivel de la distribución porcentual de las distintas categorías de raíces. En ambos portainjertos el mayor porcentaje del área total de raíces se encuentra ocupado por las raíces secundarias y terciarias (menores a 2 mm de diámetro). En Toro Canyon se presenta una tipología distinta de raíces (raíces gruesas de gran crecimiento en longitud) y se observa una menor proporción de raíces adventicias. Tal como se mencionó anteriormente estas raíces gruesas, serían una extensión en profundidad de las raíces adventicias, por lo cual si se consideran como parte de esta área, las proporciones de raíces adventicias de ambos portainjertos serían también similares.



Figura 1. Sistema radical y distribución de distintos tipos de raíces presentes en portainjertos clonales de palto. a y b: portainjerto clonal Duke 7; c y d: portainjerto clonal Toro Canyon.



Figura 2. Raíces gruesas de portainjerto clonal de palto Toro Canyon.

Tabla 1. Áreas totales y distribución de raíces en los sistemas radicales de portainjertos clonales de palto.

Portainjerto	Área total (cm ²)	Área raíces adventicias (cm ²)	% de área total ocupada por raíces adventicias	Área raíces secundarias y terciarias (cm ²)	% del área total ocupada por raíces secundarias y terciarias.	Área raíces gruesas (cm ²)	% del área total ocupada por raíces gruesas
Duke 7	652,05	203,42	31	448,63	69	0	0
Toro Canyon	695,26	104,28	15	521,44	75	69,54	10

El sistema radicular de los portainjertos propagados por semilla se caracteriza por presentar en general una raíz principal larga de un grosor entre 4 y 5 mm en la zona media, muy lignificada y que se ramifica en raíces secundarias de un grosor promedio de 2 mm y de color blanco o marrón claro (no lignificadas). De estas últimas se desprenden a su vez raíces terciarias de menor diámetro (1 mm), blancas y cortas (Figura 3). Cabe destacar que en el caso del portainjerto Reed se pudo observar en un alto porcentaje de las plantas examinadas (83%), la presencia de una curvatura en la raíz principal (a los 10 cm de profundidad), así como también una bifurcación de ésta en 2. En la tabla 2 se puede observar las áreas de los sistemas radiculares de los portainjertos de semilla en evaluación.

Tabla 2. Áreas totales y distribución de raíces en los sistemas radiculares de portainjertos de semilla.

Portainjerto	Área total (cm ²)	Área raíz principal (cm ²)	% de área total ocupada por raíz principal	Área raíces secundarias (cm ²)	% del área total ocupada por raíces secundarias.	Área raíces terciarias (cm ²)	% del área total ocupada por raíces terciarias.
Mexicola	270,76	66,08	24,3	83,72	31,0	120,96	44,7
Nabal	316,07	63,85	20,2	106,37	33,6	145,85	46,2
Reed	303,85	58,72	19,3	115,53	38,0	129,60	42,7
Zutano	268,51	52,17	19,4	113,14	42,1	103,20	38,5

*Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística a un nivel de significancia de 0,05.

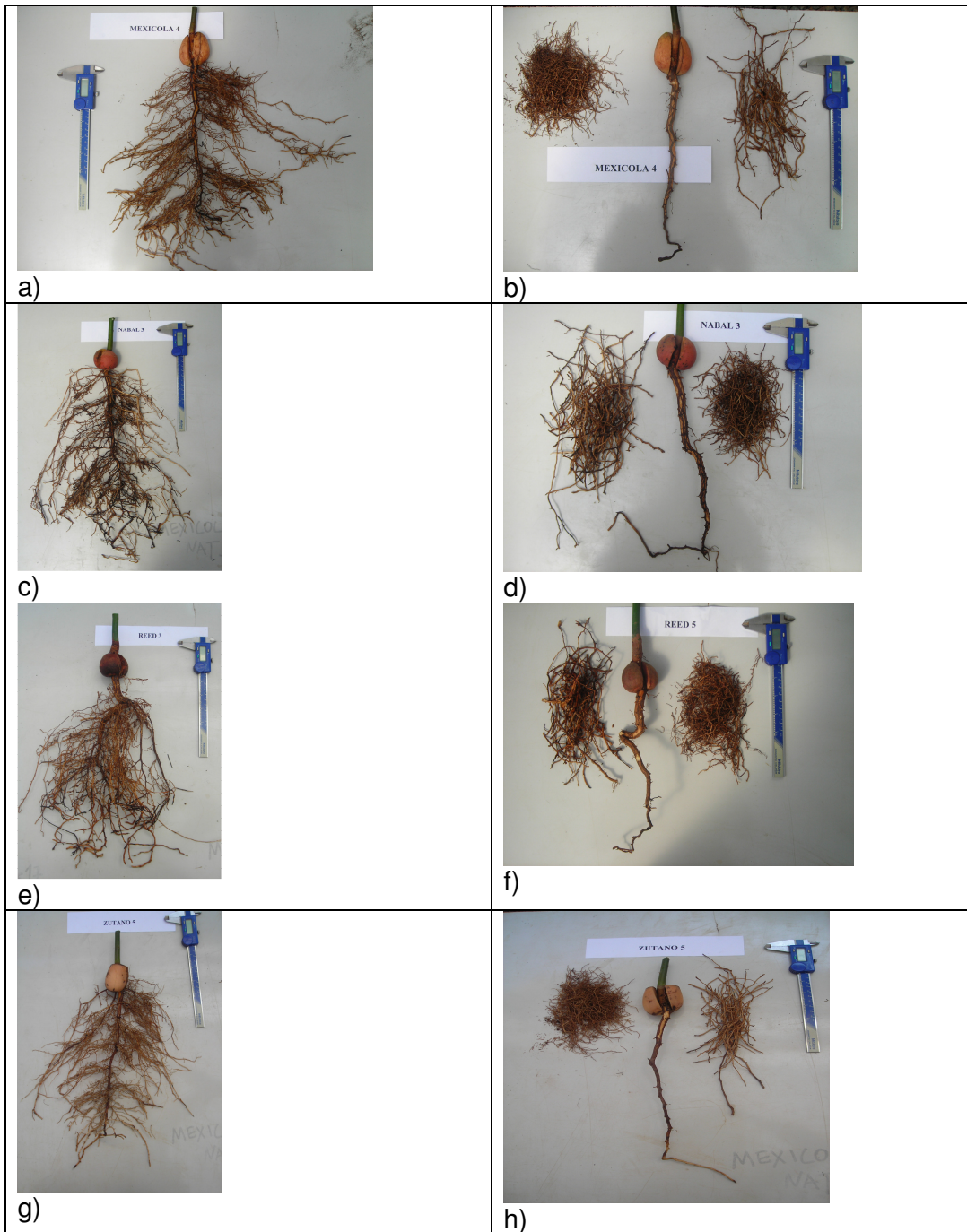


Figura 3. Sistema radicular y distribución de distintos tipos de raíces presentes en portainjertos de semilla de palto. a y b : Mexicola, c y d: Nabal, e y f: Reed; g y h: Zutano.

En general las áreas totales de los sistemas radiculares de portainjertos de semilla no presentan grandes variaciones entre ellos, sin embargo, es posible apreciar una diferencia entre los portainjertos de raza mexicana (Mexícola y Zutano) y los de raza guatemalteca (Nabal y Reed). Estos últimos presentan una mayor área de raíces que los de raza mexicana. Cabe destacar que las semillas de todos los portainjertos fueron sembradas al mismo tiempo, sobre el mismo sustrato y mantenidas bajo iguales condiciones, por lo cual las diferencias presentadas son solo atribuibles a aspectos genéticos. En relación a la distribución porcentual de los distintos tipos de raíces entre los portainjertos evaluados, en general se puede determinar que el menor porcentaje (cerca de un 20%) corresponde a la raíz principal, el cual es seguido por las raíces secundarias (36%) y luego por las raíces terciarias (44%).

Caracterización anatómica del sistema radical de portainjertos clonales y de semilla de palto.

Anatómicamente las raíces de palto observadas (de portainjertos clonales y de semilla) se caracterizan por presentar una corteza constituida por células parenquimáticas. A medida que aumenta el diámetro de la raíz y se observa crecimiento secundario en la corteza, comienza a hacerse menos importante proporcionalmente en relación a la estela. Contrariamente a esto la estela durante el crecimiento primario de la raíz se presenta como un área de menor proporción con respecto al área total de la raíz y en ella es posible observar el desarrollo inicial del cilindro vascular compuesto por protoxilema y protofloema. De acuerdo al número de polos del protoxilema, las raíces observadas en general presentaron patrones de tipo pentarca, hexarca, heptarca y oxarca en sus estelas. A medida que las raíces aumentan en diámetro, la proporción de la estela se hace más importante. Durante el crecimiento secundario de las raíces se observa un completo desarrollo del tejido vascular y la formación de la peridermis en las capas exteriores del periciclo. La corteza queda completamente desplazada y su proporción con respecto al área total es mínima. También es claramente visible la lignificación y engrosamiento por parte de la epidermis. En las Figuras 5 y 6 es posible observar claramente las diferencias en cuanto a la presencia y proporción de tejidos en raíces en crecimiento primario y secundario.

En todos los portainjertos las raíces de diámetros menores a 2 mm presentaron un mayor porcentaje de su área ocupada por la corteza (sobre 85%), en cambio en raíces de diámetros sobre 4 mm este comportamiento se revierte y es la estela la que ocupa el mayor porcentaje de área de la raíz (sobre 65%). Esto podría deberse al grado de desarrollo de las raíces, en donde las raíces menores a 2 mm estarían en un estado de crecimiento primario y las de mayor diámetro en estado de crecimiento secundario. Esto concuerda con la funcionalidad que debieran poseer los distintos tipos de raíces, donde raíces de diámetros menores corresponden a las últimas ramificaciones del sistema radical y es en donde se estaría produciendo principalmente el fenómeno de absorción de agua y nutrientes, en cambio raíces de mayor diámetro y con mayor grado de desarrollo

y lignificación, estarían encargadas de la conducción de estos elementos por lo cual tendrían un mayor desarrollo del tejido conductor.

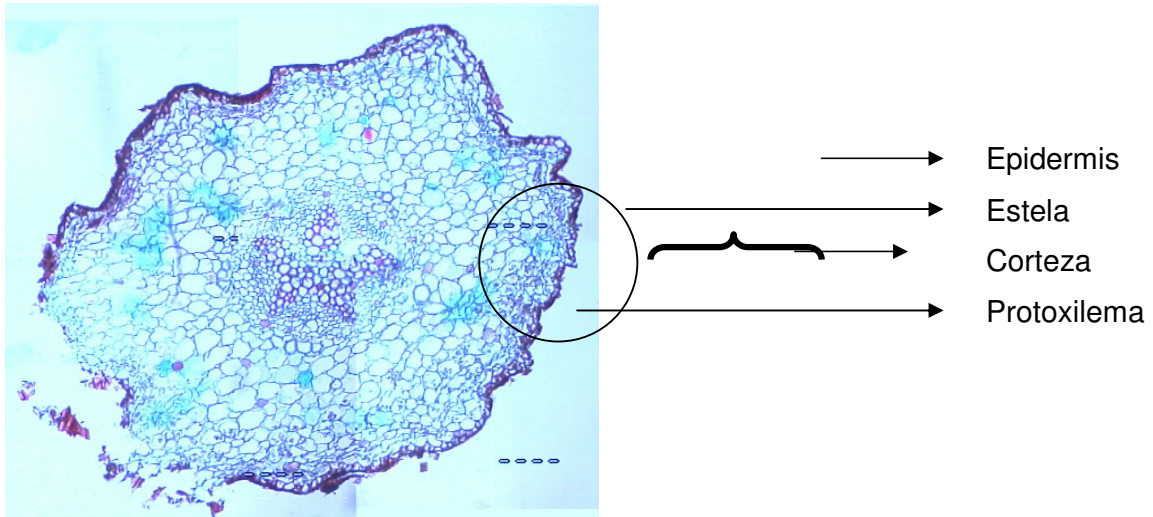


Figura 4. Crecimiento primario en una raíz pentarca de 1 mm de diámetro presentes en el portainjerto clonal de palto Duke 7 (10X).

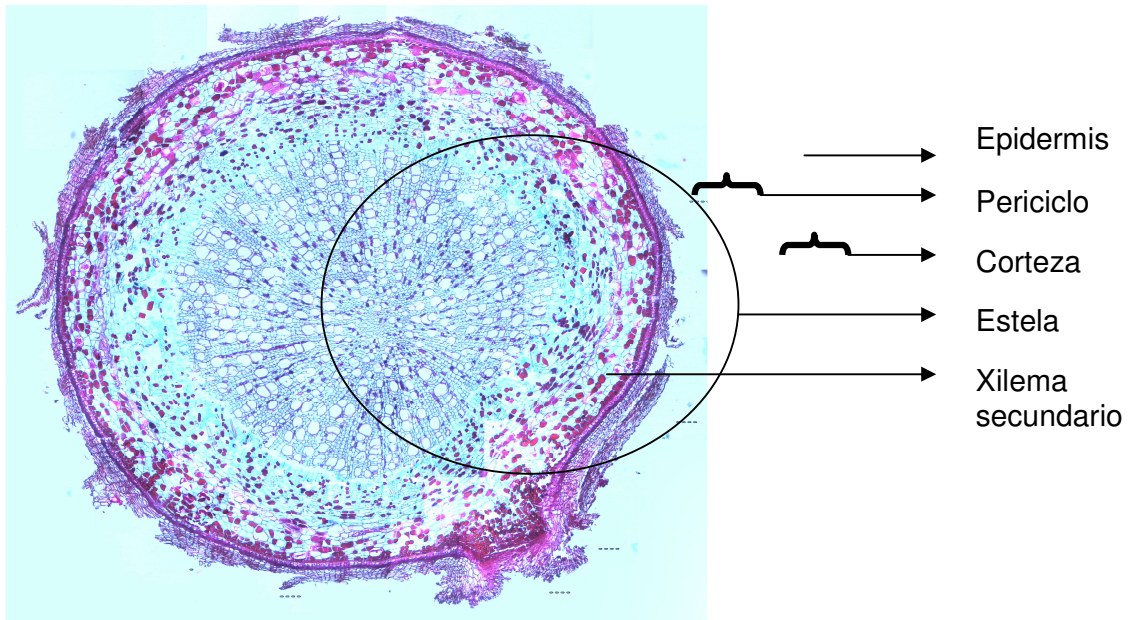


Figura 5. Crecimiento secundario en una raíz de 4 mm de diámetro presente en el portainjerto clonal de palto Duke 7 (10X).

Es destacable la presencia de raíces de diámetros sobre 5 mm en el portainjerto Toro Canyon, las cuales se caracterizan por presentar solo crecimiento primario con una gran proporción del área ocupada por la corteza (sobre 90%) (Figura 6). Por la morfología presentada por este tipo de raíces (gran crecimiento en

longitud) estas raíces podrían tener una funcionalidad distinta, que estaría relacionada con la expansión del crecimiento radical hacia zonas más profundas. Esto otorgaría a este portainjerto características especiales en relación a una mayor capacidad de exploración de nuevas zonas de crecimiento a nivel de suelo. No existen antecedentes de descripción de este tipo de raíces (en la actualidad no existen muchos estudios de la anatomía de raíces de palto) por lo cual será de gran importancia continuar con esta área de investigación a fin de poder determinar la real funcionalidad de este tipo de raíz.

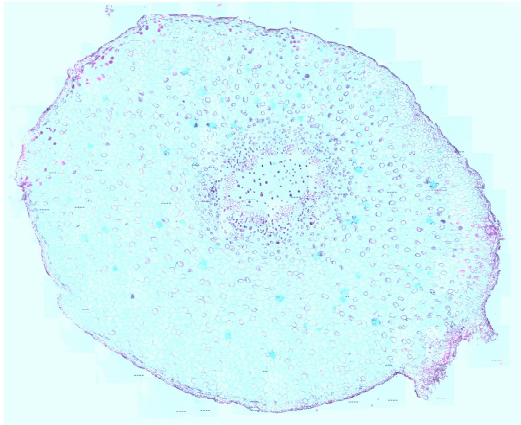


Figura 6. Anatomía de raíz de 5 mm presente en portainjerto clonal Toro Canyon. (10X)

Al analizar estadísticamente el área de estela (cilindro vascular) presente en los portainjertos estudiados, es posible precisar que solo en las raíces de diámetro de 4 mm, se presentan diferencias en este tejido (Tabla 3). En donde los portainjertos Duke 7 y Reed son los que presentan la mayor área de estela y Mexícola la menor. Las diferencias entre los portainjertos a este nivel podrían indicar una mayor capacidad de transporte de agua y nutrientes en los portainjertos Duke 7 y Reed.

Tabla 3. Área de estela presente en raíces de distintos diámetros en portainjertos clonales y de semilla.

PORTAINJERTO	Área (mm ²) diámetro 1 mm	Estela Raíces	Área Estela (mm ²) Raíces diámetro 2 mm	Área (mm ²) Raíces diámetro 4 mm	Estela	Área (mm ²) Raíces diámetro 5 mm	Estela
Duke 7	0,066 a		0,55 a	6,66 c		-	
Toro Canyon	0,059 a		0,48 a	5,87 bc		0,92	
Mexícola	0,065 a		0,55 a	3,5 a		-	
Nabal	0,072 a		0,41 a	5,3 abc		-	
Reed	0,083 a		0,57 a	6,8 c		-	
Zutano	0,088 a		0,38 a	3,2 ab		-	

CONCLUSIONES

Este estudio es de gran significación para el conocimiento de la arquitectura radical y de la funcionalidad que podrían tener los distintos tipos de raíces presentes en los portainjertos estudiados, ya que actualmente no existen estudios a este respecto. El conocimiento de estas características del sistema radical a nivel de plantas de vivero nos permite un mejor enfoque a la hora de investigar los portainjertos a nivel de campo. Investigaciones en otras especies comprueban que la arquitectura que desarrollan las plantas a nivel de vivero constituye la base sobre la cual se producen los nuevos crecimientos a nivel de campo y que existe una fuerte correlación entre la anatomía de las raíces producidas por los distintos portainjertos y la funcionalidad que éstas poseen en términos de absorción de agua y nutrientes.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece la valiosa colaboración para la ejecución de esta investigación de Viveros Brokaw LLC y del Laboratorio de Histología de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso.

FINANCIAMIENTO

Proyecto DI242.724/2006 Pontificia Universidad Católica de Valparaíso

LITERATURA CITADA

BREKANE, A. AND THOMPSON, E. 1939. Anatomical studies of stem and roots of hardy fruit trees. II. The internal structure of the roots of some vigorous and some dwarfing apple rootstocks, and the correlation of structure with vigor. J. Pomology Hort. Sci. 17:141-149.

EISSENSTAT, D.M. AND ACHOR, D.S. 1999. Anatomical characteristics of root citrus rootstocks that vary in specific root length. New Phytol. 141:309-321.

ESSAU, K. 1972. Anatomia Vegetal. Barcelona. Omega. 779 p.

WANG, Z.Y., GOULD, K.S. AND PATTERSON, K.J. 1994. Comparative root anatomy of five actinidia species in relation to rootstock effects on kiwifruit flowering. Ann. Bot. 73: 403-413.

WHILEY AW, SCHAFFER B, WOLSTENHOLME BN. 2002. The Avocado: Botany, Production and Uses. CABI Publishing, Oxon UK. 416 pp.