

CARACTERIZACIÓN HISTOLÓGICA DE VASOS XILEMÁTICOS A NIVEL DE TALLO Y VULNERABILIDAD A LA CAVITACIÓN EN PORTAINJERTOS DE PALTO (*Persea americana* Mill) Y LA VARIEDAD HASS EN PLANTAS DE VIVERO.

M. Castro¹, C. Fassio¹, N. Darrouy¹ y S. Reyes¹.

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

Recientes estudios anatómicos realizados en palto (Reyes- Santa Maria *et al*, 2002) describen la existencia de diferencias en la anatomía de vasos xilemáticos entre las distintas razas de palto. A objeto de definir si estas diferencias se presentan a nivel de plantas de vivero de Hass injertada sobre portainjertos de distintas razas, se procedió a determinar en cortes histológicos a nivel de tallo: la frecuencia de los vasos del xilema (vasos mm⁻² de área de xilema), el diámetro promedio de los vasos (µm), la conductividad hidráulica relativa y el índice de vulnerabilidad a la cavitación que presentarían los distintos materiales vegetales. Tanto los portainjertos Mexícola, Nabal, Zutano, Nachlat 3, como la variedad Hass presentaron diferencias significativas en cuanto a la frecuencia y diámetro promedio de vasos xilemáticos. Sin embargo, entre los portainjertos estudiados no se encontró diferencias en términos de la conductividad hidráulica relativa, lo que sugeriría un ajuste entre el diámetro de los vasos y su frecuencia. En relación al índice de vulnerabilidad a la cavitación, el máximo valor lo obtuvo el portainjerto Mexícola y el menor Nachlat 3. Si bien, los resultados obtenidos en esta investigación son inversos a los obtenidos por Reyes- Santa Maria *et al* (2002), esto podría deberse a la edad fisiológica y cronológica del material evaluado.

Palabras clave: *Persea americana* Mill, vasos xilemáticos, portainjertos, histología, cavitación, conductividad hidráulica

HISTOLOGICAL CHARACTERIZATION OF XYLEM VESSEL ON STEMS AND CAVITATION VULNERABILITY IN AVOCADO ROOTSTOCKS (*Persea americana* Mill) AND HASS VARIETY IN NURSERY PLANTS.

M. Castro¹, C. Fassio¹, N. Darrouy¹ and S. Reyes¹.

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

Recent anatomic studies on avocado trees (Reyes-Santa Maria *et al*, 2002) show the existence of differences in anatomy of xylem vessels among the different avocado varieties. In order to determine if these differences occur in nursery plants of Hass grafted on rootstocks of different races, the following aspects were determined through histological sections on stems: frequency of xylem vessels (vessels mm⁻² xylem area), average diameter of vessels (µm), relative hydraulic conductivity and vulnerability rate to cavitation that different plant materials would show. Mexicola, Nabal, Zutano and Nachlat 3 rootstocks as well as the Hass

variety presented significant differences regarding frequency and average diameter of xylem vessels. Nevertheless, no differences were found among rootstocks studied in terms of relative hydraulic conductivity, which would suggest an adjustment between the diameter of vessels and their frequency. Although the results obtained are opposite to those obtained by Reyes- Santa María *et al* (2002), this could occur due to the physiological and chronologic age of the material evaluated.

INTRODUCCION

Las plantas angiospermas poseen vasos del xilema, los cuales son responsables del transporte de agua y nutrientes a largas distancias. Durante el desarrollo vascular, células conductoras solitarias se fusionan en hileras. Una vez fusionadas y posterior a la formación de pared celular secundaria, esos elementos traqueales pierden su núcleo y contenido celular, formando los vasos del xilema (Nijse, 2004).

El transporte de agua en las plantas, a través de los vasos xilemáticos, ocurre a favor del gradiente de potencial hídrico existente entre el suelo y la atmósfera. De acuerdo a la teoría de la tensión-cohesión, la evaporación en las hojas genera tensiones en las zonas más cercanas a los lugares de evaporación (Martinez-Vilalta y Piñol, 2003; Tyree, 1997). La elevada cohesión entre las moléculas de agua permite que estas tensiones sean transmitidas a través de toda la planta y, por lo tanto, hace posible el transporte (Steudle, 1995).

Cuando la columna de agua del xilema experimenta tensiones extremadamente negativas, especialmente bajo estrés hídrico o congelamiento, se produce el fenómeno de cavitación, una ruptura de la columna de agua bajo tensiones extremadamente bajas (Zimmerman, 1983; Reyes-Santamaria *et al.*, 2002).

Consecuentemente, ocurre la introducción de burbujas de aire en los conductos de traqueidas y vasos, formándose el fenómeno de embolismo (Tyree y Sperry, 1989; Fanyi Shen *et al.*, 2002). La introducción de aire en la columna de agua incrementa la resistencia al flujo de ésta y gatilla respuestas en la planta como el cierre estomático, pérdida de follaje y eventualmente puede llegar a ocasionar la muerte de la planta (Kavanagh y Zaerr, 1997).

A través del presente estudio, se pretende determinar en cortes histológicos a nivel de tallo, la frecuencia de los vasos del xilema (vasos mm^{-2} de área de xilema), el diámetro promedio de los vasos (μm), la conductividad hidráulica relativa y el índice de vulnerabilidad a la cavitación que presentarían portainjertos de distintas razas y la variedad Hass.

MATERIALES Y METODOS

Los portainjertos utilizados fueron Mexícola, Nabal, Nachalt 3 y Zutano. Para la evaluación de la variedad Hass, un total de 8 púas fueron colectadas de 2 árboles adultos del cv. "Hass" de la Estación Experimental La Palma, de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso en el mes de Septiembre.

El experimento fue conducido mediante un Diseño Completamente al Azar (DCA), con 4 repeticiones por cada portainjerto.

El protocolo de obtención de las muestras fue el siguiente: Se seccionaron, mediante un corte transversal al eje del tallo, muestras de 3 cm de largo de la zona del tallo de los portainjertos a 20 cm de altura y del tercio medio de púas de "Hass". Luego se fijaron en solución FAA (10 formalina: 5 ácido acético glacial: 50 etanol), dejando actuar por mínimo 48 horas para lograr una correcta fijación.

El protocolo de preparación de las muestras para observarlas al microscopio fue realizado en el Laboratorio de Histología de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, y 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, realizando cortes trasversales al eje para observar los vasos. 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).

Todas las fotografías fueron tomadas con un objetivo de 10x a una resolución de 640 x 480 píxeles y el análisis de imágenes se realizó con el software Scion Image™ Beta 4.02 (Scion Corporation).

Para poder obtener las mediciones, primero se debió obtener la escala de las fotografías. Esta relaciona las dimensiones reales de los vasos en µm y los píxeles de la fotografía. Se eligió fotografiar un objeto de dimensiones conocidas, para luego determinar su largo en píxeles. Se utilizó una celda de 250 x 250 µm de una Cámara de Neubauer. Mediante el software, se realizaron 100 mediciones de uno de los lados de la celda, determinándose que con dicha resolución de imagen y objetivo del microscopio, un promedio 258,1 píxeles en la fotografía representan 250 µm. La escala obtenida fue de 1,032 píxeles por cada µm.

La frecuencia de los vasos del xilema (vasos mm⁻² de área de xilema) se determinó mediante una función lineal a partir de 16 veces la media de 80 campos de 250 x 250 µm por muestra. El diámetro de los vasos (µm) se obtuvo a partir de la media de 150 vasos individuales por muestra.

La variación en la eficiencia durante la conducción de agua fue evaluada a través de la Conductividad Hidráulica Relativa (CHR) de los vasos, estimada a partir de la ecuación modificada de Hagen-Poiseuille (Fahn *et al.*, 1986; Reyes Santamaría *et al.*, 2002): $CHR = r^4 FV (\mu\text{m}^4 \times 10^6)$, donde “r” es el radio del vaso medido en μm y “FV” la frecuencia de los vasos. Esta fórmula considera despreciable los valores de presión al interior de los conductos xilemáticos.

La susceptibilidad a daños durante la conducción de agua fue evaluada a través del Índice de Vulnerabilidad a la Cavitación (IV) propuesto por Reyes Santamaría *et al.* (2002), éste es: $IV = DV / FV$. Donde “DV” es el diámetro de los vasos y “FV” la frecuencia de éstos.

La conductividad hidráulica relativa y el índice de vulnerabilidad a la cavitación fueron determinados por un promedio de los valores individuales de las 4 repeticiones por cada portainjerto.

Se realizaron análisis de varianza para determinar diferencias entre las medias, y de existir diferencias se utilizó el Test de Comparaciones Múltiples de Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se presentan los resultados obtenidos para los distintos parámetros evaluados a los portainjertos en cuanto a las dimensiones, la distribución y las características hidráulicas de los vasos del xilema.

Se observaron diferencias significativas en el diámetro de los vasos entre todos los portainjertos. El portainjerto antillano “Nachlat 3” presentó los vasos de menor diámetro, el portainjerto guatemalteco Nabal fue intermedio y los portainjertos de origen mexicano presentaron los vasos más anchos, aunque existen diferencias significativas entre estos dos últimos (Figura 1).

Fueron encontradas diferencias significativas en la frecuencia de los vasos de los portainjertos estudiados. “Nachlat 3” posee la mayor frecuencia de vasos. No hubo diferencia significativa en la frecuencia de vasos entre los portainjertos “Zutano” y “Nabal”, quienes poseen frecuencias intermedias. Méxicocola posee la menor frecuencia de vasos.

Tabla 1. Características anatómicas e hidráulicas de los vasos del xilema de los portainjertos de palto estudiados.

Portainjerto	Raza	Diámetro (µm)	Frecuencia (Vasos mm ⁻² de área xilemática)	Conductividad Hidráulica Relativa (µm ⁴ X 10 ⁶)	Índice de Vulnerabilidad
Mexícola	M	48,4 d*	52,8 a	18,3 a	0,93 c
Nachlat 3	A	38,9 a	93,3 c	13,2 a	0,43 a
Zutano	M x G	42,9 c	66,6 b	14,5 a	0,65 b
Nabal	G	40,4 b	67,3 b	11,0 a	0,63 b

*Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística a un nivel de significancia de 0,05. M: mexicano, A: antillano, G: guatemalteco, M x G: híbrido mexicano y guatemalteco.

Por lo analizado anteriormente, existiría una relación inversa entre diámetros y densidad de los vasos de los distintos portainjertos de acuerdo a la raza a la que pertenecen, tal como lo reportó Reyes Santamaría *et al* (2002). El ordenamiento de las razas obtenido en este ensayo, es diferente a aquel estudio. La relación obtenida en esta investigación es que los vasos más anchos y las menores frecuencias la posee la raza mexicana, en el otro extremo se encontraría la raza antillana, con los vasos más angostos y las mayores frecuencias. Los portainjertos con características guatemaltecas (“Nabal” y el híbrido “Zutano”) poseerían características anatómicas intermedias.

No se encontraron diferencias significativas entre los portainjertos en relación a la conductividad hidráulica relativa. Lo que sugiere un ajuste entre el diámetro de los vasos y su frecuencia, que permitiría mantener una conductividad relativa similar entre los portainjertos, tal como lo reportan Reyes-Santamaría *et al*. (2002).

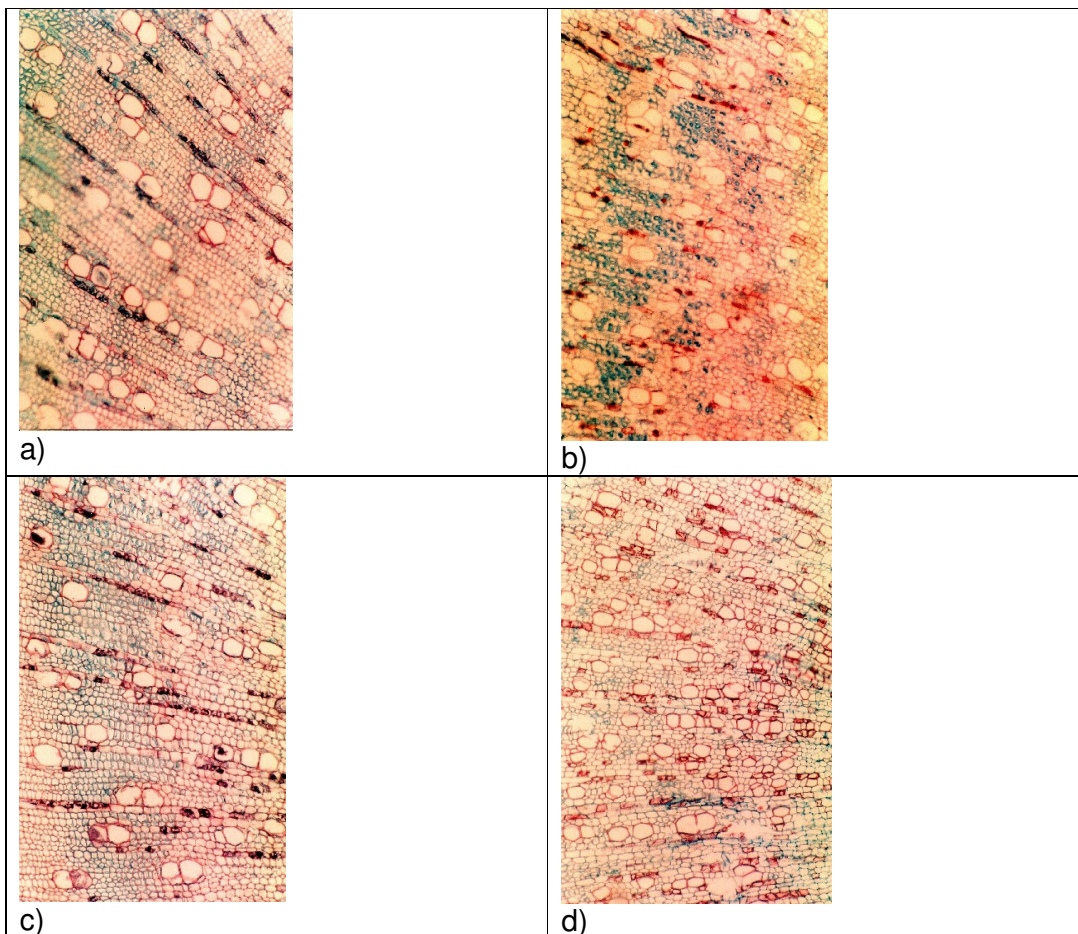


Figura 1. Microfotografías a 10x que detalla los vasos del xilema de tallo de plantas de portainjertos de palto: a) Mexícola, b) Zutano, c) Nabal y d) Nachlat 3.

Se encontraron diferencias significativas en el índice de vulnerabilidad a la cavitación entre los distintos portainjertos. El portainjerto antillano “Nachlat 3” destacó por poseer el más bajo índice de vulnerabilidad a la cavitación, los portainjertos “Zutano” y “Nabal” fueron intermedios y el mayor índice de vulnerabilidad lo obtuvo “Mexícola”.

Se realizó además un análisis para comparar las dimensiones y distribución de vasos del xilema entre los distintos portainjertos y púas del cv. “Hass”. En la Tabla 2 se presentan los resultados obtenidos para la separación de medias.

Tabla 2. Comparación de diámetro y frecuencia de vasos entre los distintos portainjertos de palto estudiados y púas del cv. "Hass".

Material vegetal	Diámetro (μm)	Frecuencia (Vasos mm ⁻²)
Mexícola (T)	48.4 e*	52.8 a
Nachlat 3 (T)	38.9 b	93.3 c
Zutano (T)	42.9 d	66.6 b
Nabal (T)	40.4 c	67.3 b
Hass (P)	28.3 a	163.2 d

*Letras iguales en la misma columna indican que no existe diferencia estadística a un nivel de significancia de 0,05. (T): Tallos de portainjertos de 0,5 cm de diámetro, medido a los 20 cm de altura. (P): Púas aptas para injertación.

En la Tabla 2 se observan diferencias significativas entre todos los tallos de portainjertos y las púas del cv "Hass", en cuanto al diámetro y frecuencia de vasos del xilema. Las púas de "Hass" tienen vasos más delgados y en mayor frecuencia que cualquier portainjerto estudiado. Lo anterior puede ser explicado debido a que los tejidos de los tallos de los portainjertos ya se han endurecido a los 6 meses de edad, en cambio las púas son aún herbáceas, tejidos no endurecidos en los que el xilema aún no se desarrolla totalmente. Las diferencias anatómicas observadas entre todos los portainjertos y el cv Hass podría tener implicancias en la conductividad hidráulica total de la planta una vez injertada.

CONCLUSIONES

Se encontraron diferencias significativas entre los diámetros de los vasos de todos los portainjertos estudiados.

El portainjerto antillano "Nachlat 3" presentó los vasos de menor diámetro. Los portainjertos de origen guatemalteco fueron intermedios y los de origen mexicano poseían los vasos más anchos.

Nachlat 3 presenta la mayor frecuencia de vasos. Zutano y Nabal poseen frecuencias intermedias y el portainjerto Mexícola la menor frecuencia.

Se encontró una relación inversa entre los diámetros y densidades de los vasos, tal como lo propuesto por Reyes Santamaría *et al.* (2002), aunque el ordenamiento de las razas es distinto.

No se encontraron diferencias significativas entre los portainjertos en relación a la conductividad hidráulica relativa, lo que sugiere un ajuste entre el diámetro de los vasos y su frecuencia, que permitiría mantener conductividades hidráulicas similares entre los portainjertos estudiados.

Se encontraron diferencias significativas en el índice de vulnerabilidad de los portainjertos. El portainjerto "Nachlat 3" posee el menor índice de vulnerabilidad a la cavitación. "Zutano" y "Nabal" tuvieron índices intermedios y "Méxicola" obtuvo el mayor índice.

LITERATURA CITADA

FANH,A., WERKER,E., BAAS,P.,1986. Wood anatomy and identification of trees and shrubs from Israel and adjacent regions. *Isr.Acad. Sci. Hum.*, Jerusalem. Isarel.

FANYI SHEN.; RONGFU GAO; WENJI LIU.; WENJIE ZHANG. 2002. Physical analysis of the process of cavitation in xylem sap. *Tree physiol.* 22: 655-659.

KAVANAGH, K.; ZAER, J. 1997. Xylem cavitation and loss of hydraulic conductance in western hemlock following planting. *Tree physiol.* 17: 59-63.

MARTINEZ-VILLALTA, J.; PIÑOL, J. 2003. Limitaciones hidráulicas al aporte de agua a las hojas y resistencia a la sequía, (online). <http://www.aeet.org/ecosistemas/0.31/investigacion1.htm>

NIJSSE, J. 2004. On the mechanism of Xylem Vessel Length Regulation. *Plant Physiology*, January 2004. 134: 32-34

REYES-SANTAMARIA, I.; BARRIENTOS-PRIEGO, A.; TERRAZAS, T.; TREJO, C. 2002. Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. *Scientia Horticulturae*. 92: (2002) 97-105.

TYREE, M. 1997. The Cohesion-Tension Theory of sap ascent: current controversies. *Journal of Experimental Botany*. 315: 1753-1765.

TYREE M.; SPERRY, S. 1989. Vulnerability of xylem to cavitation and embolism, *Annu. Rev. Plant physiol. Mol. Biol.* 40: 19-38.

ZIMMERMAN, M. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlag. Berlin.