

RELACIONES ANATÓMICAS DE XILEMA CON TOLERANCIA A SEQUÍA EN PORTAINJERTOS DE AGUACATE

Flores-Espinosa, Blanca Berenice¹; Domínguez-Perales, Luis A.²; Jennifer Sánchez-Sánchez¹, Reyes-Quiroz, Claudia¹, Barrientos-Priego, Alejandro F.¹

¹Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco, km 38.5. Texcoco Estado de México, México. C.P. 56230. ereb89@hotmail.com

²Facultad de Ciencias Agrícolas y Pecuarias. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Av. Universidad, San Juan Acateno, Puebla, México. C.P. 73965

Resumen

México es el primer productor, exportador y consumidor de aguacate en el mundo, sin embargo, enfrenta factores que limitan su producción como la falta de agua y la obtención de portainjertos clonales tolerantes mejoraría y ampliaría las zonas de producción. Estudios previos permiten conocer los posibles mecanismos fisiológicos de portainjertos tolerantes a sequía, pero falta explorar los aspectos anatómicos, por lo que, la presente investigación tuvo por objetivo determinar la relación entre las características anatómicas de xilema y la tolerancia a la falta de humedad del suelo. Para esto se seleccionaron plantas de dos años de la raza guatemalteca y mexicana, derivadas de semilla e injertadas con 'Hass'. Estas fueron sometidas a estrés hídrico del suelo y atmosféricos durante 25 días. Después de riego de recuperación se tomaron muestras de tallo para realizar procesos de fijación y microtecnia. Se capturaron imágenes en microscopio óptico y analizadas mediante ImageJ, donde se calculó: Área de elemento de vaso de xilema, diámetro de Feret, diámetro de tallo, circunferencia de tallo, grosor de corteza, y proporción de áreas de los tejidos. Se encontró que hay un balance entre el área transversal de corteza y el área de xilema. Existió diferencias significativas entre el injerto y portainjertos respecto a las dimensiones de los elementos de vaso y su densidad. Los portainjertos tolerantes presentaron mayor porcentaje de tejido de xilema y menor porcentaje de tejido de corteza que los susceptibles. Respecto al diámetro Feret en el injerto se observó que los elementos de vaso de plantas tolerantes contaron con menor diámetro. El injerto presentó mayor grosor de pared intercelular. Mientras que hay un mayor número de elementos de vaso en injertos susceptibles.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., Portainjertos tolerantes, Agobio hídrico, Elementos de vaso.

ANATOMIC RELATIONSHIPS OF XYLEM WITH DROUGHT TOLERANCE IN AVOCADO ROOTSTOCKS

Abstract

Mexico is the first producer, exporter and consumer of avocado in the world; however, it faces factors that limit its production such as lack of water and obtaining tolerant clonal rootstocks would improve and expand production areas. Previous studies allow to know the possible physiological mechanisms of drought-tolerant rootstocks, but the anatomical aspects need to be explored, therefore, the present research aimed to determine the relationship between the anatomical characteristics of xylem and tolerance to the lack of soil moisture. For this, two-year-old seedling plants of the Guatemalan and Mexican race were selected and grafted with 'Hass'. These were subjected to soil and atmospheric water stress for 25 days. After irrigation of recovery, stem samples were taken to carry out fixing and microtechnical processing. Images were captured in an optical microscope and analyzed by ImageJ, where it was calculated: Xylem vessel element area, Feret diameter, stem diameter, stem circumference, bark thickness, and proportion of tissue areas. It was found that there is a balance between the cortex cross-sectional area and the xylem area. There were significant differences between the graft and rootstock regarding the dimensions of the vessel elements and their density. The tolerant rootstocks showed a higher percentage of xylem tissue and a lower percentage of bark tissue than the susceptible ones. Regarding the Feret diameter, it was observed that in the graft the vessel elements of tolerant plants had a smaller diameter. The graft presented greater intercellular wall thickness. While there are a greater number of vessel elements in susceptible grafts.

Key words: *Persea americana* Mill., Tolerant rootstocks, Hydric stress, Vessel element.

Introducción

El aguacate ha adquirido un lugar relevante para México, ya que es el primer productor, exportador y consumidor en el mundo. Para 2020 ocupó una superficie de 241,140 ha establecidas y 224,426 ha cosechadas, donde se obtuvo una producción nacional de 2,388,616 toneladas, con un gran valor económico sobre todo de exportación hacia EE. UU., ya sea en fresco o transformado. Sin embargo, el rendimiento por hectárea es de aproximadamente 10 t ha⁻¹ (SIAP, 2020), mientras que en otros países rondan entre 15 y 30 t ha⁻¹. Esto se explica en parte porque son varios factores que afectan la productividad de los huertos entre ellos: condiciones edáficas, presencia de patógenos, calidad y disposición de agua, entre otros factores, además de que la adopción y generación de nuevas tecnologías por parte de los productores ha sido lenta en México.

En otros países han existido históricamente una participación muy activa para solucionar los problemas concernientes a la baja productividad del aguacate y algunos con gran éxito como es el caso de Israel que ha pasado de 7 t ha⁻¹ en los 80s a 14 t ha⁻¹ en la actualidad, donde una contribución importante fue debida al uso de portainjertos selectos (Barrientos-Priego, 2017). En México aún no se ha adoptado el uso de portainjertos clonales selectos, ya que desde el siglo pasado se utilizan plantas injertadas sobre portainjertos de la raza mexicana que usualmente se les ha denominado como “criollos” (Gallegos, 1983). Se sabe que varios de los problemas se resuelven con el uso adecuado de portainjertos clonales (Fernández et al., 2011), por lo que existe la posibilidad de utilizar estos aunado a técnicas modernas de propagación clonal (Ernst, 1999). Uno de los factores que pueden afectar la productividad del aguacate es la disponibilidad de humedad del suelo que puede traer aunado una baja en la calidad postcosecha del fruto, por lo que una posible solución para disminuir dichos efectos es el uso de portainjertos que tengan la capacidad de ahorro de agua del suelo y de la parte aérea.

La clasificación de las razas de aguacate conforme a su menor exigencia de agua relativa es de menor a mayor: mexicana, guatemalteca y antillana (Solares, 1976). Esta opinión posiblemente se originó relacionando la distribución de las razas en zonas con niveles de precipitaciones diferentes, la cual coincide con los datos de Macías et al. (1981), quienes confirmaron una menor utilización del agua por las plántulas de la raza mexicana, también Jiménez et al. (1984) después de someter a 168 días sin riego a plantas de aguacate raza mexicana, antillana y *Persea schiedeana*, donde la primera sobresalió de las otras dos. Sin embargo, en una evaluación con la raza mexicana y antillana después de un mes sin riego, la segunda toleró más la condición,

donde se caracterizó por presentar una reducción de su conductancia estomática (cierre de estomas de la hoja) que se dio prematuramente a los pocos días de la sequía, dándole la capacidad de ahorrar agua al reducirse su transpiración, ya que se mantuvo su potencial hídrico y la turgencia (Barrientos Priego, 1998). Por otra parte, se ha observado que el cv. Hass injertado sobre un portainjerto de la raza mexicana mantuvo su turgencia por un probable ajuste osmótico bajo condiciones de sequía (Barrientos y Rodríguez, 1994). En otro, se encontró que al utilizar 'Colín V-33' como portainjerto de 'Hass' tuvo la capacidad de ahorrar más agua en el suelo y retrasó el cierre de estomas comparado con el mismo 'Hass' y 'Fuerte' como portainjertos clonales (Reyes, 2002).

Los antecedentes indicados denotan los estudios que se han realizado para conocer más los mecanismos fisiológicos que estos tipos de estrés del suelo, sin embargo, no se ha explorado a profundidad los aspectos anatómicos relacionados con la tolerancia a la falta de humedad en el suelo, por tal razón el objetivo de la presente investigación fue determinar la relación entre las características anatómicas de xilema de portainjertos y su relación con su tolerancia a sequía.

Materiales y Métodos

Esta investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Chapingo, ubicada en Texcoco, Estado de México.

De 84 plantas de aguacate de un año de la raza guatemalteca y mexicana, derivadas de semilla, se hizo una preselección de plantas establecidas en tubos blancos de PVC con capacidad de 7.17 L, provistas de un sustrato franco-arenoso. Posteriormente se sometieron a estrés hídrico hasta su marchitez permanente y se observó su comportamiento para su preselección como portainjertos tolerantes. Posteriormente se injertaron con el cultivar Hass y se dejaron crecer dos años más para comenzar con las evaluaciones de las plantas con injerto. Después de mantener las plantas con riego a capacidad de campo, se suspendió el riego en todas las plantas y así observar su comportamiento en marchitez temporal y permanente con fines de realizar otro ciclo de selección de los que toleraron las condiciones adversas donde se agruparon con el criterio: más sensibles al estrés, las poco sensibles y las más tolerantes, de acuerdo con los días de supervivencia sin agua y su conductancia estomática. Al finalizar se clasificaron 33 individuos, los cuales mostraron un intervalo de días con la presentación de síntomas de marchitez permanente de 8 a 25 días, siendo los primeros susceptibles y los últimos tolerantes. A todas las plantas se le dio un riego de recuperación y a la semana se cortaron muestras para determinar

la anatomía de tallo. Los genotipos que mostraron mayor tolerancia (días sin riego) al estrés fueron las plantas 22J, 27J, 37J, 44J, 62J, 67J y 76J; por el contrario, los que mostraron menor resistencia al estrés fueron las plantas 6J, 12J, 15J, 51J, 55J y 71J, los cuales se utilizaron para el presente estudio.

Variables de anatomía de xilema

De cada planta se tomaron muestras de una sección de tallo de aproximadamente 2 cm de longitud a una altura de 15 cm por arriba ('Hass') y otra por abajo (portainjerto) del injerto de la planta, las cuales se fijaron inmediatamente con solución GAA (glicerol, alcohol absoluto y agua destilada, 1:1:1) para su preservación. Se realizaron cortes transversales de un grosor de 30 μm en un micrótopo de congelamiento (Reichert-Jung modelo 1205). Se utilizó la tinción general con safranina (tinción en rojo de paredes celulares lignificadas) y "fast green" (tinción en verde a un verde azulado de paredes de celulosa), siguiendo un proceso de hidratación (alcohol absoluto, alcohol 96°, alcohol 70° durante tres minutos en cada paso), tinción (safranina, por dos minutos), enjuague (agua), deshidratación (alcohol 70°, alcohol 96°, alcohol absoluto, tres minutos en cada etapa), tinción ("fast green", 1 minuto), enjuague (alcohol absoluto). Una vez teñidos los cortes se hicieron preparaciones fijas con un medio de montaje Entellan® Merck. Las imágenes de cortes fueron capturadas en un microscopio óptico marca Leica con una cámara integrada de 2 MP, tomando ocho campos por tres repeticiones con un total de 24 campos lo cual está conforme la recomendación dada por Meza-Castillo et al. (2010). Las imágenes obtenidas fueron procesadas con ayuda del programa de análisis de imágenes ImageJ, dónde se calculó las siguientes variables, imágenes con aumento de 10X: área de elemento de vaso de xilema (μm^2), diámetro de Feret de elemento de vaso de xilema ($[(4 \cdot \text{área} / \text{TT})^{0.5}]$) y con aumento de 0.8X se evaluó: diámetro de tallo (mm), circunferencia de tallo (mm), grosor de corteza (mm), proporción de áreas de los tejidos en porcentaje (%). Se evaluaron ocho imágenes por repetición de diámetro de Feret, área de elemento de vaso y densidad de vasos de xilema, se tomaron 10 mediciones de grosor de pared intercelular, y se obtuvo el promedio para cada genotipo. En grosor de corteza se tomarán dos mediciones por repetición y una medición para diámetro de tallo, por imagen. Con el diámetro de tallo se calculó la circunferencia de tallo y con esta última el área transversal total; con el grosor de corteza, se calculó el área transversal de corteza, siguiendo el método propuesto por López y Barrientos (1987). Se realizó un análisis de correlación múltiple de Pearson entre las características anatómicas y se comparó los genotipos tolerantes y susceptibles a falta de agua del suelo, tanto en injerto como portainjerto donde se calculó el error estándar.

Resultados y Discusión

De acuerdo con los resultados se encontró que hay un balance entre el área transversal de corteza y el área transversal de xilema, mientras que el área transversal de la médula es muy baja y menor a 1 de alrededor de 0.03 y 0.05 % (en portainjertos susceptible y tolerante, respectivamente). En general se encontraron diferencias muy contrastantes en todos los casos respecto a los componentes de los tejidos entre el injerto ('Hass') y los portainjertos (Figura 1). En el injerto de 'Hass' respecto a porcentajes de tejidos no presentaron diferencias entre tolerantes y susceptibles (Figura 2), mientras que para portainjertos tolerantes presentaron mayor porcentaje de tejido de xilema (madera) y menor porcentaje de tejido de corteza que los susceptibles (Figura 2) y lo contrario para porcentaje de corteza. Respecto al tejido de xilema puede estar determinando mayor eficiencia en el flujo de agua hacia el injerto y le da mayor tolerancia en condiciones de déficit hídrico en el suelo.

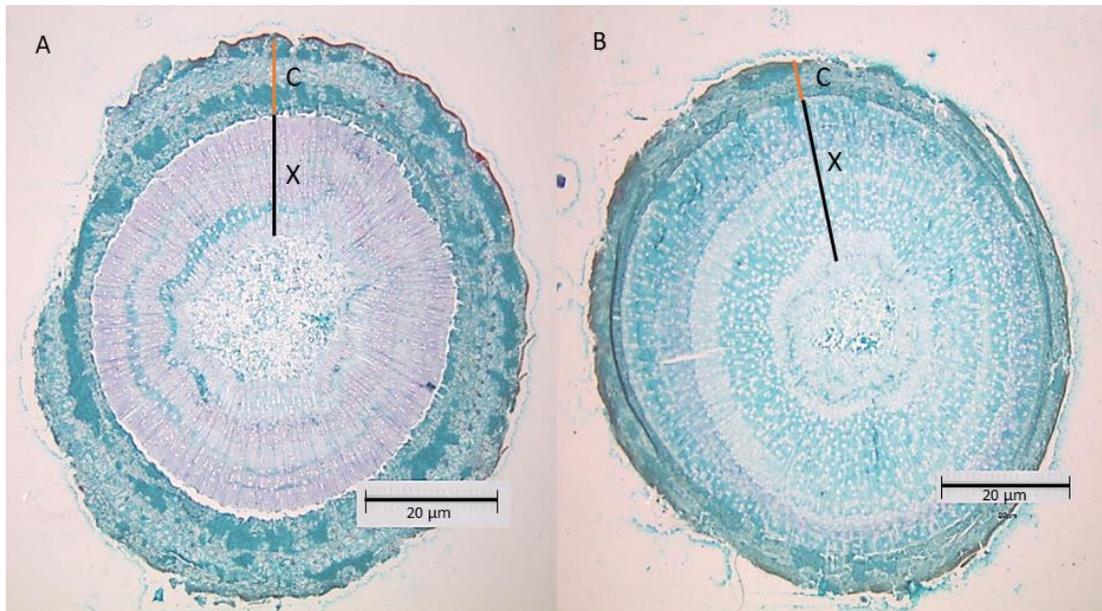


Figura 1. Corte transversal mostrando grosor de corteza y área transversal del área de xilema. A: Injerto de 'Hass', B: Portainjerto (varios). C: Corteza, X: Xilema.

Se encontró de manera general que existieron diferencias contrastantes entre el injerto ('Hass' y el portainjerto respecto a las dimensiones de los elementos de vaso y su densidad (Figura 3). La variación respecto a dimensiones de los elementos de vaso y densidad ya ha sido indicada con anterioridad donde su coeficiente de variación se encontró entre 16 y 26 %, sin embargo, aún con estos coeficientes se indicaron como contrastantes (Useche-Carrillo et al., 2021).

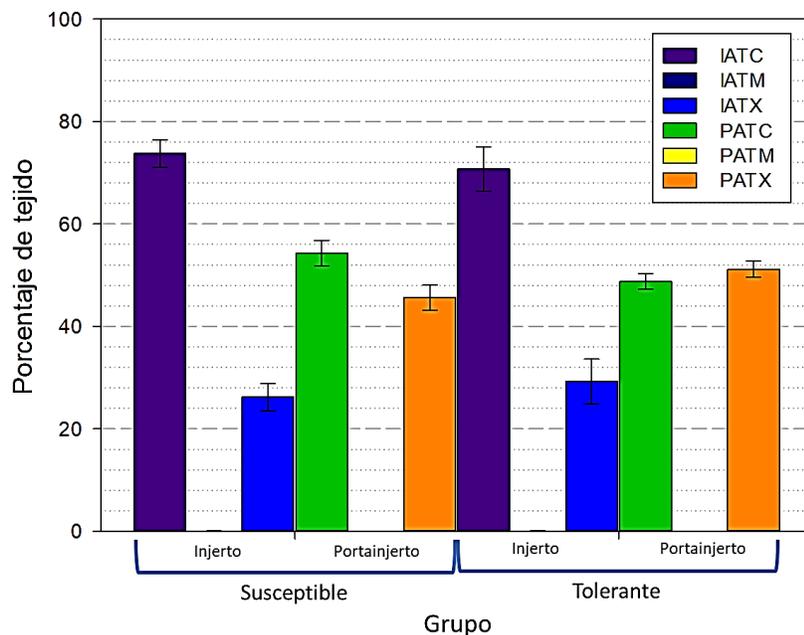


Figura 2. Porcentaje de tejidos en corte transversal de tallo respecto a tolerancia a falta de humedad del suelo evaluado en el injerto y portainjerto de aguacate. I: Injerto de 'Hass', P: Portainjerto (varios), ATC: Área trasversal de corteza, ATM: Área trasversal de médula, ATX: Área trasversal de xilema.

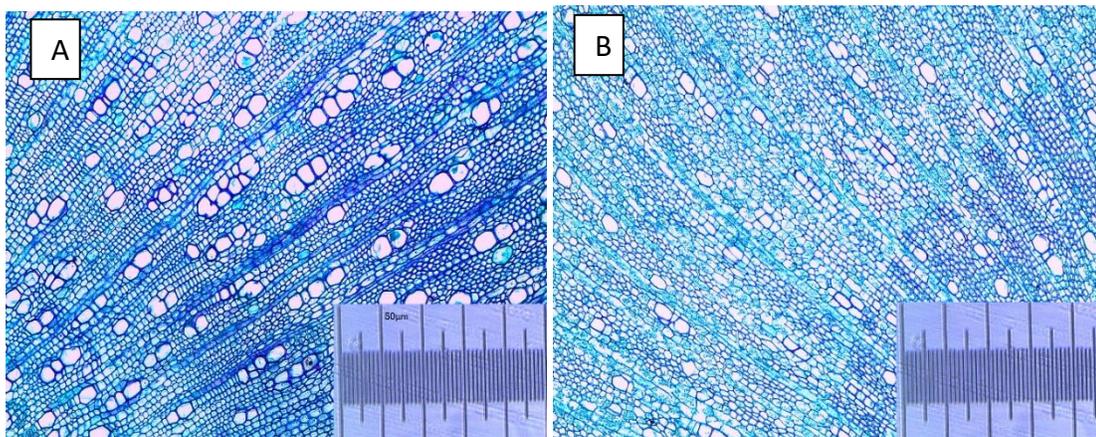


Figura 3. Corte transversal de xilema donde se destaca las dimensiones de los elementos de vaso. A: Injerto ('Hass'), B: Portainjerto. Intervalo delimitado por líneas grandes en la escala es de 50 µm.

Respecto a los elementos de vaso de xilema se encontró que el área total en forma trasversal encontrada en un área de 12330.56 µm², mostró que no hay diferencia en portainjertos (Figura 4), sin embargo, se denota una tendencia no significativa en el injerto de 'Hass' de ser mayor en las plantas tolerantes, por lo que es probable que, con el aumento de repeticiones, de acuerdo con la circunstancia indicada anteriormente, se pueda detectar diferencias. Esto abre la posibilidad de que hay una modificación en el injerto por parte del portainjerto mejorando la

cantidad de área de conducción de agua y que probablemente esté mejorando el flujo de agua y así tolerar el déficit hídrico del suelo (Figura 4). Dicha modificación al injerto ha sido indicada en la anatomía de xilema de la hoja por efecto de injertos intermedios (Ayala-Arreola et al., 2010).

Respecto al diámetro Feret que es un parámetro que indica el diámetro ajustado de un elemento de vaso de xilema en su vista transversal, se observó una diferencia en el injerto de 'Hass' donde los elementos de vaso de plantas tolerantes contaron con menor diámetro (Figura 4), y se puede suponer que al contar con menor dimensiones pudo presentar mayor presión en la conducción de agua y son menos susceptibles a embolismo (Reyes-Santamaría et al., 2002). Lo cual puede explicar en parte porqué son más tolerantes a la falta de humedad del suelo, lo interesante es que no se tuvo diferencias entre portainjertos susceptibles y tolerantes, pero si indicios que modificaron al injerto. Esto en contraste por lo indicado por Fassio et al. (2009) para el caso de aguacate donde en tallos de 'Duke 7' ($1248.7 \mu\text{m}^2$) presentó elementos de vaso de xilema más estrechos que 'Toro Caynon' ($1536.1 \mu\text{m}^2$), donde 'Duke 7' mostró mayor flujo de savia (2.8 kg día^{-1}) comparado con 'Toro Caynon' (2.0 kg día^{-1}) injertado con 'Hass'.

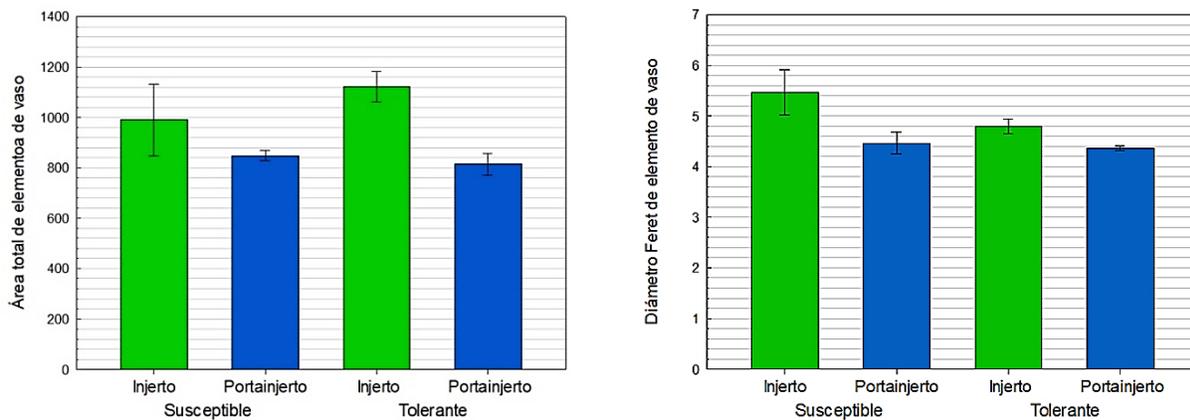


Figura 4. Área total de elementos de vaso de xilema de tallo en forma trasversal encontrada en un área de $12330.56 \mu\text{m}^2$ (izquierda) y diámetro Feret de elementos de vaso (derecha) en injertos de aguacate 'Hass' y su respectivo portainjerto, clasificados como susceptibles y tolerantes.

Referente al grosor de pared intercelular de elementos de vaso de xilema se encontró que en las plantas susceptibles no hay diferencias, mientras que en las plantas tolerantes es evidente la diferencia entre el portainjerto y el injerto donde sobresale mayor grosor de pared en el injerto (Figura 5). Además, hay una leve diferencia entre el portainjerto susceptible y el tolerante. Se sabe que en durazno un mayor grosor de pared intercelular de elementos de vaso de xilema del

tallo está asociado a menor posibilidad de colapso del sistema de conducción y que lo hace más resistente (Cochard et al., 2008).

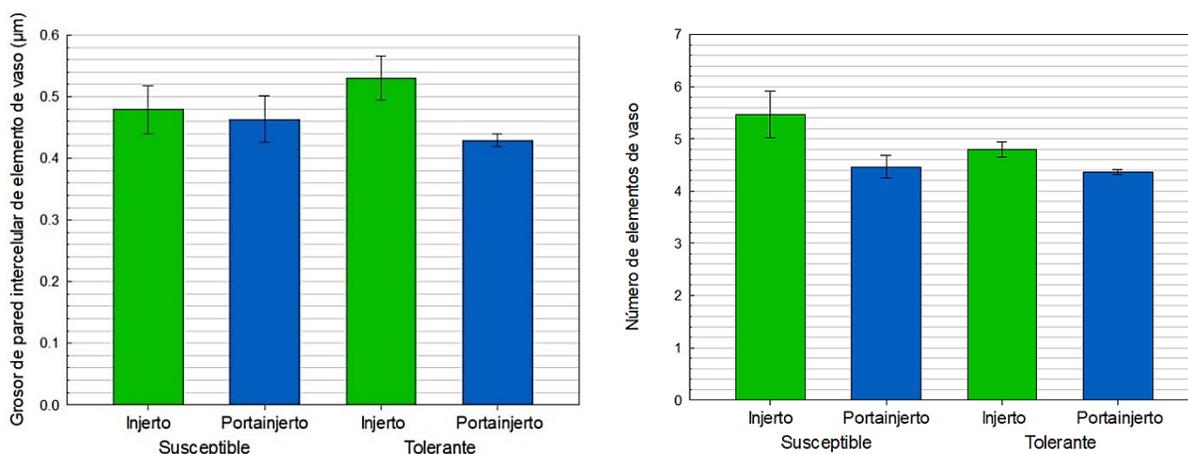


Figura 5. Grosor de pared intercelular de elemento de vaso de xilema de tallo en forma transversal (izquierda) y número de elementos de vaso en injertos de aguacate 'Hass' y sus respectivos portainjertos, clasificados como susceptibles y tolerantes.

El número de elementos de vaso en cierta área dada mostró diferencias entre portainjerto e injerto en plantas susceptibles y tolerantes (Figura 5), donde fueron mayores en el injerto de las susceptibles que las tolerantes y sin diferencias entre portainjertos en ambos tipos de planta. Esto hace pensar que, frente a una menor presencia de elementos de vaso por área, la planta es capaz de ahorrar más agua y por su menor dimensión como se mencionó anteriormente puede que tenga mejor eficiencia en transporte y manejo de agua (Vasconcellos y Castle, 1994; Reyes-Santamaría et al., 2002).

Al realizar el cálculo en porcentaje de área ocupada por el lumen de los elementos de vaso en cierta área se encontró una tendencia a ser mayor en el injerto de 'Hass' (Figura 6) y esto a pesar de que los elementos de vaso son de menor dimensión (ver diámetro Feret). Esto hace indicar de modificaciones en el injerto por efecto del portainjerto, a pesar de que no hay diferencia entre portainjertos en ambas condiciones, lo que abre la posibilidad de que existan otras explicaciones inherentes a la posible modificación por el portainjerto al injerto entre las cuales pueden estar involucradas el balance hormonal AIA/ABA que se ha visto que en aguacate es diferente al usar combinaciones injerto, con y sin interinjerto (Barrientos-Villaseñor et al., 1999). Cabe indicar que el tratamiento de sequía aplicado no fue mayor de 25 días por lo que se piensa que el sistema de conducción de xilema ya estaba preformado y que no sufrió modificaciones durante este tiempo.

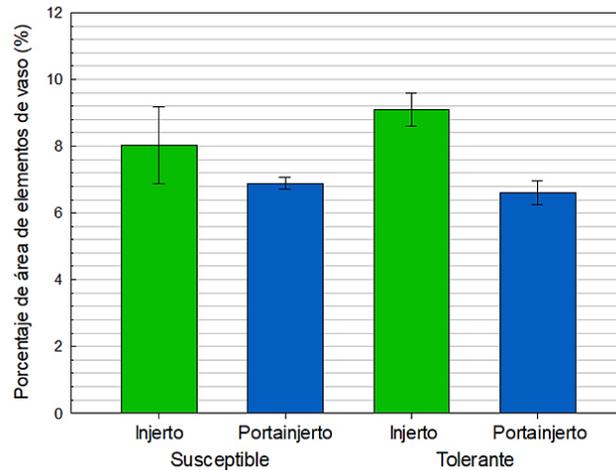


Figura 6. Porcentaje de área de elementos de vaso ocupado en tejido de xilema en forma transversal de tallos de injerto de aguacate 'Hass' y sus respectivos portainjertos, clasificados como susceptibles y tolerantes.

Literatura Citada

- Ayala-Arreola J., A. F. Barrientos-Priego, M. T. Colinas-León, J. Sahagún-Castellanos, y J. C. Reyes-Alemán. 2010. Relaciones injerto-interinjerto y características anatómicas y fisiológicas de la hoja de cuatro genotipos de aguacate. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 16(2):147-154.
- Barrientos Priego, A. F. 1998. Algunos aspectos de la fisiología de plantas de aguacatero bajo condiciones de sequía. Tesis de Doctorado en Ciencias en Fisiología Vegetal, IREGEP, Colegio de Posgraduados, México.
- Barrientos-Priego, A. F. 2017. Presente y futuro de los portainjertos y variedades de aguacate en el mundo y México. Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate, Salazar-García, S. y A. F. Barrientos-Priego (Eds.). Asociación de Productores y Exportadores de Jalisco, A.C. (APEAJAL). Ciudad Guzmán, Jalisco, México 4-7 de septiembre 2017. pp. 2-15.
- Barrientos Priego, A. F., y J. L. Rodríguez Ontiveros. 1994. Respuesta de plantas de aguacate cv. Hass bajo condiciones de sequía. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 1(2):191-198.
- Barrientos-Villaseñor. A., A. F. Barrientos-Priego, J. E. Rodríguez-Pérez, A. Peña-Lomelí, y R. Muñoz-Pérez. 1999. Influencia del interinjerto 'Colín V-33' sobre algunos aspectos fisiológicos en aguacatero (*Persea americana* Mill.). *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 5:103-116.
- Cochard, H., S. T. Barigah, M. Kleinhentz, and A. Eshel. 2008. Is xylem cavitation resistance a relevant criterion for screening drought resistance among *Prunus* species? *J. Plant Physiol.* 165(9):976-982.
- Ernst, A. A. 1999. Micro cloning: A multiple cloning technique for avocados using micro containers. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 5:217-220.
- Fassio, C., R. Heath, M. L. Arpaia, and M. Castro. 2009. Sap flow in 'Hass' avocado trees on two clonal rootstocks in relation to xylem anatomy. *Sci. Hortic.* 120(1):8-13.
- Fernández Noguera, C., Z. Van Rooyen, and S. Köhne. 2011. Reasons for the use of clonal avocado rootstocks around the world. *Proceedings VII World Avocado Congress 2011*. Cairns, Australia. 5-9 September 2011.

- Gallegos Espinosa, R. 1983. Algunos aspectos de la producción del aguacate en el Estado de Michoacán. Grupo Editorial Gaceta, S.A., México. 317 p.
- Jiménez López, A., M. W. Borys, y J. L. Macías González. 1984. Comportamiento de plantas jóvenes de aguacate en condiciones de sequía progresiva. *Rev. Chapingo* 45-46:246.
- López Jiménez, A., and A. F. Barrientos Priego. 1987. Selection of dwarfing rootstocks of avocado (*Persea americana* Mill.). I. Studies of bark:xylem relationship in trunks of cv. Colín V-33 seedlings. *Calif. Avocado Soc. Yearb.* 71:225-234.
- Macías G., J.L., M. W. Borys, A. Muñoz O., y A. García V. 1981. Respuesta de plantas de aguacate *Persea americana* Mill. a tres regímenes de humedad. I. Comparación de dos razas. Resúmenes del XXIX Congreso de la American Society for Horticultural Science, Región Tropical. Campinas, Brasil. Resume 6.
- Meza-Castillo, E., A. F. Barrientos-Priego, J. E. Rodríguez-Pérez, y M. I. Reyes-Santamaría. 2010. Determinación de tamaño de muestra mediante remuestreo de características del xilema de brote de aguacate. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 45(12):1531-1535.
- Reyes Santamaría, M. I. 2002. Anatomía del sistema de conducción de agua y respuesta fisiológica de aguacatero (*Persea americana* Mill.) en condiciones limitantes de humedad. Doctorado en Ciencias en Fisiología Vegetal, IREGEP, Colegio de Posgraduados, México.
- Reyes-Santamaría, I., T. Terrazas, A. F. Barrientos-Priego, and C. Trejo. 2002. Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. *Sci. Hort.*, 92(2):97-105.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2020). Anuario estadístico de producción agrícola, cierre de la producción agrícola por cultivo. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/Consulta> 26 de marzo 2021.
- Solares, F. 1976. Cultivo moderno y rentable del aguacate. Editores Mexicanos Unidos, S.A., México.
- Useche-Carrillo, N. V., A. F. Barrientos-Priego, C. A. Núñez-Colín, E. Campos-Rojas, and J. Ayala-Arreola. 2021. Stem and leaf anatomical and physiological characteristics of 'Colín V-33' avocado seedlings. *Adv. Hortic. Sci.* 35(2):183-194.
- Vasconcellos, L. A. B., and W. S. Castle. 1994. Trunk xylem anatomy of mature healthy and blighted grapefruit trees on several rootstocks. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 119:185-194.