

Study of avocado (*Persea americana* Mill.)
physiological responses to different soil water-to-
air ratios and the transmission of root-to-shoot
electrical signals in response of soil water deficit
and root hypoxia.

Pilar Macarena Gil Montenegro

2008



Pontificia Universidad Católica de Chile

Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal

Study of avocado (*Persea americana* Mill.) physiological responses to different soil water-to-air ratios and the transmission of root-to-shoot electrical signals in response of soil water deficit and root hypoxia.

Pilar Macarena Gil Montenegro

Tesis

para optar al grado de

Doctor en Ciencias de la Agricultura

Santiago, Chile, Junio 2008

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de
Doctor en Ciencias de la Agricultura, aprobada por el

Comité de Tesis

Prof. Guía, Dr. Luis Gurovich

Prof. Dr. José Antonio Alcalde

Prof. Dr. Gabriel Sellés

Santiago, 16 de junio de 2008.

No hay que confundir nunca el conocimiento con la sabiduría... el primero nos sirve para ganarnos la vida, la sabiduría nos ayuda a vivir

Sorcha Carey

*Le dedico esta tesis con todo mi corazón
a mi esposo Andrés, a mis padres...*

y especialmente a mi hijito Alfonso y todos los hijos que vengan, ya que en gran parte son la razón de haber realizado este doctorado.

Agradecimientos

Es difícil agradecer en esta instancia a todas las personas e instituciones que me ayudaron en esta tesis de doctorado, sin olvidarme de alguien, pues fueron muchas las ayudas que recibí. Trataré de que nadie quede fuera.

En primer lugar, debo agradecer a la Dirección de Investigación y Postgrado de la Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal de la Pontificia Universidad Católica de Chile, por darme la posibilidad de entrar al programa de Doctorado en Ciencias de la Agricultura; a la Comisión Nacional Científica y Tecnológica (CONICYT) por su ayuda financiera mediante la beca de Doctorado que me otorgaran desde el año 2005 al 2008; a la Vicerrectoría Adjunta de Investigación y Postgrado de la Pontificia Universidad Católica de Chile (VRAID, ex DIPUC) por su Beca de Ayudante Becario que financió mi primer año en el programa, y al Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA), mi institución de origen, en la cual realicé gran parte de esta tesis de Doctorado.

Ahora viene la parte difícil, y es nombrar a todas las personas que con su amistad, conocimiento y buena voluntad apoyaron mi paso por este Doctorado, y especialmente por mi tesis. Debo agradecer a mi

profesor guía Dr. Luis Gurovich, por su apoyo y tutoría durante todo el programa, así como también por la confianza y fe que él depositó en mí desde el principio hasta hoy. También debo agradecer a los profesores que son parte de mi comité de Tesis, José Antonio Alcalde y Gabriel Sellés, por su siempre buena disposición a conversar y estar presente en todas las instancias que les pedí; a mi colega, amigo y primer jefe en INIA, Raúl Ferreyra, por permitirme realizar gran parte de mi tesis en uno de sus proyectos financiado por INNOVA-CORFO, junto con enseñarme gran parte de la metodología y conceptos utilizados en varios ensayos de esta tesis; a los profesores Rodrigo Iturriaga de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica de Chile y Julio Alcayaga de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, por orientarme en el tema de la neurobiología y permitirme trabajar en sus laboratorios. Al Dr. Bruce Schaffer, de la Universidad de Florida, EEUU, hoy mi gran amigo, quien a poco tiempo de conocer en una pasantía que realicé en Florida, me demostró que el trabajo duro es una virtud que permite crear amigos en otros lugares del mundo, sin importar en qué lugar de la pirámide del conocimiento éstos se encuentren; él ha sido sin duda mi gran apoyo en esta última etapa de mi tesis, y le debo gran parte estar en estas últimas instancias.

En el largo paso por la tesis de doctorado recibí la ayuda desinteresada de muchos amigos, entre los cuales debo nombrar a

Patricio Maldonado, José Miguel Celedón, Cristián Barrera y Carlitos Zúñiga, todos colegas y ex colegas de INIA, con quienes pasamos muchas tediosas mediciones a medio día, muchas veces en compañía de una bebida y un santuchito para matar el hambre. También debo nombrar a aquellos colegas que me ayudaron facilitándome el uso de los laboratorios que tienen a cargo, como fueron Reinaldo Campos y Bruno Defilippi, ambos colegas de INIA La Platina, y Eduardo Oyanedel, de la Facultad de Agronomía de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Junto con el uso de laboratorios ajenos, aparecieron otras manos ayudantes a las cuales debo agradecer: ellos son Paulina Arias del Laboratorio de Neurobiología de la PUC, Marisol Pérez del laboratorio de Postcosecha de INIA La Platina, Paulina Naranjo y Claudio López del laboratorio de Postcosecha de la PUC, Raúl Eguiluz del laboratorio de suelo de INIA La Platina, Chunfang Li y Michael Gutiérrez del laboratorio de Ecofisiología, TREC, Universidad de Florida.

También debo mi agradecimiento a muchas personas que me ofrecieron una mano en mediciones, instalaciones, etc, entre los que debo nombrar a don Vernie, José Montenegro, Renato Rojas y Jorge Alfaro, todos técnicos de INIA La Cruz; también a Cristóbal Gentina, María José Pino, Tomás Gallardo y Nicolás García, tesisistas, practicantes y estudiantes de pregrado que me ayudaron en muchas mediciones.

Debo mi agradecimiento también a amigos especiales que me dieron su ayuda en algún momento de mi tesis y/o también su apoyo moral en los momentos complicados que nunca faltan al cursar un Doctorado; entre estos amigos puedo nombrar a Ximena Álvarez, Claudia Bonomelli, Cecilia Norambuena, Daniel Villegas, José Tomás Matus, Isauro Aguilera, Denise Donnay, Paulina Sabbagh, Claudia Fassio, Fiona Ramella.

Por último, agradezco a mi esposo, mis padres, mi abuelita Lidia, mis tías Teresa y Lucía y mi prima Natalia, quienes me apoyaron en esta etapa de mi vida, admitiéndome en sus casas de Santiago, en el caso de mi abuela, tías y prima, y dándome el enorme apoyo moral y emocional que involucra estudiar de nuevo, en el caso de mi esposo y mis padres.

A todos quienes nombré, y a los que olvidé nombrar quiero decir de todo corazón:

¡¡Muchas Gracias!!

Content Index

Chapter 1

Introduction.....1

Chapter 2

Original article. Effect of the soil water-to-air ratio on water status, net CO₂ assimilation, biomass and vascular anatomy of avocado trees.....14

Chapter 3

Research note. Effect of waterlogging on plant water status, leaf gas exchange and biomass of avocado.....80

Chapter 4

Original article. Effect of hydrogen peroxide injection into heavy loam clay soil on plant water status, net CO₂ assimilation, biomass and vascular anatomy of avocado trees.....100

Chapter 5

Original article. Root to leaf electrical signaling in avocado in response to light and soil water content.....135

Chapter 6

Original article. Electrical signaling, stomatal conductance, ABA and ACC content in avocado trees in response to drought or root hypoxia.....165

Chapter 7

Concluding remarks.....210

Attachments.....214

Figure Index

Chapter 2

Figure 1. Illustration of a treatment block showing the different soil water-to-air ratio of each soil.....	66
Figure 2. Volumetric soil water content at a 30-cm soil depth.....	68
Figure 3. Relationship between the soil water – to – air ratio and the oxygen diffusion rate in the soil.....	69
Figure 4. Avocado tissue dry weight at the end of the experiment.....	70
Figure 5. Avocado root density at the end of the experiment.....	71
Figure 6. Avocado leaf area index at the end of the 2005/2006 season.....	72
Figure 7. Avocado leaf area and leaf area index at the end of the 2006/2007 season.....	73
Figure 8. Average leaf size at the end of the 2006/2007 season.....	74
Figure 9. Length of spring shoots in December, January and March of season 2006/2007.....	75
Figure 10. Number of leaves remaining on autumn shoots in December, January and February of 2006/2007.....	76
Figure 11. Number of flowers and fruit per tree at the end of the 2006/2007 season.....	77
Figure 12. Vascular anatomy of root and shoot tissue.....	79

Figure 13. Vapor pressure deficit during the 2005/2006 and 2006/2007 seasons.....	79
---	----

Chapter 3

Figure 1. Effect of flooding in stomatal conductance (gs), transpiration (T), net CO ₂ assimilation (A), stem water potential (SWP) and soil redox potential of 'Beta' avocado trees and vapor pressure deficit (VPD) during the experiment.....	95
---	----

Figure 2. Effect of flooding in stomatal gs, T, A, SWP of 'Hass' avocado trees and soil redox potential and vapor pressure deficit (VPD) during the experiment.....	96
---	----

Figure 3. The effect of flooding on leaf dry weight of 'Beta' and 'Hass' avocado.....	97
---	----

Figure 4. The effect of flooding on root dry weight of 'Beta' and 'Hass' avocado.....	97
---	----

Figure 5. Relationship between stomatal conductance (gs) and the percentage of open stomata.....	98
--	----

Figure 6. View of stomatas impressions after gs measurement (400 x).....	98
--	----

Figure 7. Relationship between SWP and gs of flooded plants.....	99
--	----

Chapter 4

Figure 1. Experimental set up to test the effects of H ₂ O ₂ injection into the soil on avocado trees.....	128
Figure 2. Volumetric soil water content at a soil depth of 30 cm during the experimental period.....	129
Figure 3. A) Oxygen diffusion rate averaged from 3 measurement dates and B) CO ₂ and O ₂ soil content averaged from 2 measurement dates.....	130
Figure 4. Avocado plant dry weight at the end of the experiment.....	131
Figure 5. Leaf area at the end of the experiment.....	132
Figure 6. Water use efficiency obtained from total biomass.....	133
Figure 7. Anatomical differences in root and shoot vascular tissue.....	134

Chapter 5

Figure 1. Schematic diagram of the setup for the digital acquisition of the recorded extracellular voltage difference between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}).....	158
Figure 2. Voltage difference recorded between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}) in 8 control plants during 80 min.....	159
Figure 3. Voltage difference recorded between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}) in 8 plants in darkness for 20 min, and in 8 plants in artificial light for 20 min.....	160

Figure 4. Voltage difference recorded between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}) in 8 plants after irrigation for 72 min and in 8 plants subjected to root desiccation for 72 min161

Figure 5. Effects of different treatments on the voltage difference recorded between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}).....162

Figure 6. Linear correlation between ΔV_{L-S} maximum difference (ΔmV) and stomatal conductance difference (Δgs) in the soil drying treatment.....163

Figure 7. Comparison of ΔV_{L-S} differences in irrigated girdled plants and irrigated non-girdled plants.....164

Chapter 6

Figure 1. A: Experiment 1: Schematic diagram of the digital acquisition system for recording extra-cellular voltage difference between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}) in 'Mexicola' avocado trees. B: Experiment 2 and 3: Schematic diagram of the digital acquisition system for recording voltage differences between the base of the trunk and the leaf zone (ΔV_{I-b}) in 'Hass' avocado trees.....202

Figure 2. Experiment 1. A: Voltage difference (ΔV_{L-S}) (Raw value) at 10 min intervals from treatments impose. B: Voltage difference (ΔV_{L-S}) (Absolute value) at 10 min intervals from treatments impose.....203

Figure 3. Experiment 1. A: Voltage difference between the leaf petiole and the base of the stem (ΔV_{L-S}) of 5 control

plants for 90 min. B: ΔV_{L-S} of 5 plants in the hypoxia treatment from 5 to 90 minutes. C: ΔV_{L-S} of 5 plants in the drought treatment from 15 to 90 minutes.....204

Figure 4. Experiment 1. Voltage (ΔV_{L-S}) and oxygen partial pressure (KPa) in the control and hypoxia treatments.....205

Figure 5. Experiment 2. A: Voltage difference between the base of the trunk and the canopy of the tree (ΔV_{I-b}) in 5 plants in the control treatment and B: 5 plants in the drought treatment for 68.5 h.....206

Figure 6. Experiment 2. A: Robust linear regression between ΔV_{I-b} Maximum Difference (ΔV_{I-b} Difference) and the change in stomatal conductance from the beginning to end of the treatment period (Δg_s) of plants in the drought treatment. B: Robust linear regression between absolute value of ΔV_{I-b} Maximum Difference (Abs ΔV_{I-b} Difference) and Δg_s of plants in the drought treatment.....207

Figure 7. Experiment 3. A: ΔV_{I-b} in 5 control plants and B: ΔV_{I-b} in 5 plants in the hypoxia treatment for 14 days.....208

Figure 8. Experiment 3. A: Soil Oxygen Diffusion Rate (ODR) during the experimental period. B: Leaf ethylene concentration ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), C: the number of abscised leaves, and, D: Stomatal conductance of plants in the hypoxia and control treatments measured at 3-day intervals during the experimental period.....209

Table Index

Chapter 2

Table 1. Texture class and composition of five soil treatments.....	61
Table 2. Physical characteristics of five different soil treatments.....	61
Table 3. Average soil water content, air content and water/air ratio of five different soils.....	61
Table 4. Average soil water content, soil air content and water/air (W/A) ratio of five different soil treatments (Tmt) during the entire experimental period.....	62
Table 5. Effect of treatments on soil oxygen diffusion and CO ₂ and O ₂ concentrations.....	62
Table 6. Percentage of days with soil air content below the critical level (<17%).....	62
Table 7. Effect of treatments on water relations of avocado plants during 2005/2006.....	63
Table 8. Effect of treatments on water relations of avocado plants during 2006/2007.....	63
Table 9. Effect of treatments on CO ₂ assimilation and instantaneous plant water use efficiency.....	64
Table 10. Effect of treatments on plant water use efficiency expressed as total plant matter produced in relation to the amount of water applied.....	64

Table 11. Effect of treatments on root and shoot vascular anatomy.....64

Table 12. Effect of treatments on leaf xylem sap ABA and root ACC content.....65

Table 13. Effect of treatments on macronutrients, Mn content and C content.....65

Chapter 4

Table 1. Physical characteristics of heavy loam clay soil.....127

Table 2. Effect of H₂O₂ injection into heavy clay loam soil at field capacity on water relations and physiological variables of avocado plants.....127

Table 3. Effect of the H₂O₂ injection to heavy clay loam soil at field capacity on root and shoot vascular anatomy.....127

Chapter 5

Table 1. Effect of dark, light, soil drying and soil wetting on the root to leaf voltage difference in avocado plants.....157

Table 2. Stomatal conductance difference after treatments were imposed.....157

Chapter 6

Table 1. Experiment 1. Effects of root hypoxia and drought on the absolute maximum voltage difference between the leaf petiole and the base of the stem (Abs ΔV_{L-S}), the change in stomatal conductance from the beginning to the end of the treatment period (Δg_s) and root ACC concentration.....199

Table 2. Experiment 2. Effect of drought on maximum voltage difference between the leaf zone and the base of the trunk (ΔV_{l-b} Maximum Difference), absolute value of maximum voltage difference between the leaf zone and the base of the trunk (Abs ΔV_{l-b} Maximum Difference) and the change in stomatal conductance from the beginning to the end of the treatment period (Δg_s).....200

Table 3. Experiment 3. Effect of root hypoxia treatment on maximum voltage difference between the leaf zone and the base of the trunk (ΔV_{l-b} Maximum Difference), absolute value of maximum voltage difference between the leaf zone and the base of the trunk (Abs ΔV_{l-b} Maximum Difference (mV)) and the change in stomatal conductance from the beginning to the end of the treatment period (Δg_s).....201