



Universidad Autónoma Chapingo

ENSEÑAR LA EXPLOTACION DE LA TIERRA, NO LA DEL HOMBRE



**Departamento de Fitotecnia
Instituto de Horticultura**

**VARIABILIDAD GENÉTICA, MORFOLÓGICA Y
FISIOLÓGICA DEL GUAYABO
(*Psidium guajava* L.) 'MEDIA CHINA'
SOMETIDO A DEFICIENCIAS NUTRIMENTALES**

José Luis Domínguez Álvarez

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE:**

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Chapingo, Edo. de Méx., agosto del 2004.



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



Instituto de Horticultura

La presente tesis titulada: Variabilidad genética, morfología y fisiología del guayabo (*Psidium guajava* L.) 'Media China' sometido a deficiencias nutrimentales, realizada por el alumno: José Luis Domínguez Álvarez, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTOR EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

CONSEJO PARTICULAR:

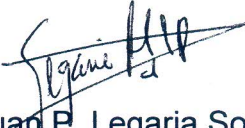
Presidente


Dr. Raúl Nieto Ángel

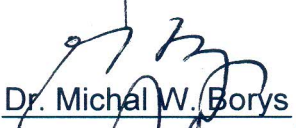
Asesor


Dr. Alejandro F. Barrientos Priego

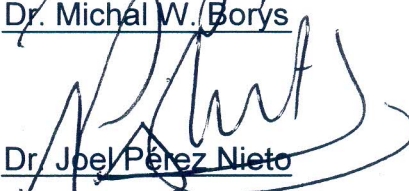
Asesor


Dr. Juan P. Legaria Solano

Asesor


Dr. Michal W. Borys

Asesor


Dr. Joel Pérez Nieto

Asesor
Externo


Dr. Fernando González Andrés

Chapingo, Edo., de México a 27 de Junio del 2004

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Chapingo, con respeto y satisfacción.

Al personal del Departamento de Fitotecnia y del programa de Horticultura.

A la Fundación Produce, Zacatecas, A. C., por el financiamiento parcial a esta investigación.

A la Asociación de Productores de Guayaba del Sur de Zacatecas.

Al Dr. Raúl Nieto Ángel, Dr. Alejandro F. Barrientos Priego, Dr. Juan P. Legaria Solano, Dr. Michal W. Borys y Dr. Joel Pérez Nieto, integrantes de mi Consejo Particular, por su gran apoyo incondicional.

DEDICATORIA

A mi esposa:

Blanca Margarita

A mis hijos:

Tony y Dany

Por su apoyo, comprensión y paciencia durante todo el tiempo que duró este trabajo de investigación.

CONTENIDO

	Página
Nota.....	XIV
Resumen general.....	XV
Capítulo I.....	1
Introducción general.....	1
Importancia del guayabo en México.....	1
Variabilidad del guayabo 'Media China'.....	1
Efecto de los nutrimentos sobre la variabilidad del guayabo.....	3
Función de los nutrimentos en guayabo.....	3
Nitrógeno.....	3
Fósforo.....	3
Potasio.....	3
Calcio.....	3
Magnesio.....	4
Azufre.....	4
Boro	4
Cobre	4
Hierro.....	4
Manganeso	4
Zinc	4
Efecto de algunos factores ambientales sobre la disponibilidad de elementos minerales	4
Revisión de literatura	6
Origen	6
Clasificación taxonómica	6
Usos	6
Composición química	6
Importancia económica	7
Sobre marcadores RAPD's	7
Sobre caracteres morfológicos en estudios de variabilidad	8
El papel de algunos minerales sobre los caracteres morfológicos de la planta	9
Efectos de las deficiencias nutrimentales en la función y metabolismo de las plantas	10
Diagnóstico de las deficiencias nutrimentales	10
Búsqueda de equilibrio entre los nutrimentos del suelo con los nutrimentos de la planta	11
Efecto de las condiciones ambientales en las deficiencias de elementos minerales	12
Literatura citada.....	14

Capítulo II.....	21
Variabilidad genética de árboles de guayabo 'Media China' procedentes de cuatro plantaciones y su respuesta morfológica a baja disponibilidad de nutrimentos.....	21
Resumen y abstract.....	21
Introducción.....	22
Objetivo	24
Materiales y Métodos.....	24
Resultados y discusión.....	31
Conclusiones.....	46
Literatura citada.....	47
Capítulo III.....	50
Evaluación morfológica de síntomas de deficiencia nutrimental en guayabo (<i>Psidium guajava</i> L.) 'Media China', sometido a baja concentración de N, P, K, Ca, Mg, S y Fe	51
Resumen.....	51
Introducción.....	52
Objetivo.....	62
Materiales y métodos.....	62
Resultados y discusión.....	67
Conclusiones.....	91
Literatura citada.....	92
Conclusiones generales.....	97

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Página

Capítulo II.....	21
Variabilidad genética de árboles de guayabo 'Media China' procedentes de cuatro plantaciones y su respuesta morfológica a baja disponibilidad de nutrimentos.....	21
CUADRO 1. Análisis químico de agua utilizada para riego en almacigo de plantas de guayabo 'Media China', hasta los diez meses de edad.....	25
CUADRO 2. Concentraciones de la solución nutritiva de los tratamientos aplicados a plantas de guayabo 'Media China' para la inducción de deficiencias nutrimentales en condiciones de hidroponía utilizando arena sílica y en invernadero	25
CUADRO 3. Reactivos utilizados en la preparación de los amortiguadores CTAB al 4 % y STE. Para la determinación de ADN en hojas con y sin síntomas de deficiencias de hierro y zinc en guayabo.....	27
CUADRO 4. Número de ciclos, temperatura y tiempo de duración por ciclo, bajo los cuales se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimeraza para la amplificación del ADN en el termociclador, para la obtención de los patrones RAPD.....	27
CUADRO 5. Componentes de la mezcla de la reacción en cadena de la polimeraza, para la obtención de los patrones RAPD	28
CUADRO 6. Caracteres morfológicos evaluados en plantas provenientes de semilla de guayabo 'Media China' en condiciones de hidroponía e invernadero.....	29
CUADRO 7. Índices obtenidos de combinaciones de los caracteres de peso fresco y seco de raíz, tallo y hojas de plantas de guayabo 'Media China' provenientes de semilla en hidroponía e invernadero.....	30
CUADRO 8. Frecuencia de las bandas OPA20-4, OPA20-2, OPA20-1 y OPA03-3, cuya presencia hacen posible la diferencia entre genotipos de guayabo 'Media China' provenientes de semilla, en hojas con y sin síntomas de deficiencia de Fe y Zn.....	36

CUADRO 9. Valores de Eigen-valor y varianza acumulada obtenida del análisis de componentes principales procedente de patrones de bandas RAPD's de hoja de 82 genotipos de guayabo 'Media China' derivados de semilla.....	38
CUADRO 10. Valores de Eigen-vector en los primeros cuatro ejes del análisis de componentes principales procedente de patrones de bandas RAPD's de hoja de 82 genotipos de guayabo 'Media China' derivados de semilla	39
CUADRO 11. Valores de Eigen-valor y varianza acumulada del análisis de componentes principales de 72 individuos obtenidos de caracteres morfológicos de hoja de guayabo 'Media China', derivados de semilla, con deficiencia nutrimental inducida bajo hidroponía e invernadero.....	42
CUADRO 12. Valores de Eigen-vector en los primeros cuatro ejes del análisis de componentes principales de 72 individuos obtenidos de 17 caracteres morfológicos de hoja de guayabo 'Media China', con inducción a deficiencia nutrimental en hidroponía e invernadero.....	43
FIGURA 1. Patrones de bandas RAPD's obtenidos usando el iniciador OPA19. A. Genotipos sin síntomas foliares de deficiencia nutrimental. B. Genotipos con síntomas foliares, en 82 genotipos provenientes de semilla de guayabo 'Media China' separados en gel de agarosa 1.2 %. La letra S delante del número se refiere a plantas con síntomas y sin la letra S plantas sin síntomas de deficiencia nutrimental.....	32
FIGURA 2. Dendrograma construido mediante el coeficiente Jaccard con los patrones de bandas RAPD's obtenidos de hojas de 82 genotipos de guayabo y separados por electroforesis en gel de agarosa 1.2 %. La letra S delante del número de la accesión denota plantas con síntomas y sin la letra S se refiere a plantas sin síntomas de deficiencia nutrimental, todas ellas provenientes de semilla de guayabo 'Media China'.....	34
FIGURA 3. Dendrograma construido a partir de 1000 combinaciones de remuestreo obtenida de los productos RAPD's de 82 genotipos de las hoja de guayabo 'Media China' provenientes de semilla, mediante el coeficiente de Jaccard. Los números en las ramas indican el número de veces en porcentaje en que la topología de una rama particular se repite.....	35

FIGURA 4. Dendrograma obtenido del análisis de 17 caracteres morfológicos de hojas de plantas de guayabo 'Media China' derivadas de semilla, con deficiencia nutrimental inducida en hidroponía e invernadero, procedentes de 72 genotipos. Utilizando el coeficiente χ^2 y agrupados por el método UPGMA. La letra S delante del número de accesión denota plantas con síntomas y sin la letra S indica plantas sin síntomas de deficiencia nutrimental	41
FIGURA 5. Dendrograma construido, utilizando el coeficiente χ^2 a partir de productos RAPD's y caracteres morfológicos conjuntamente procedentes de 46 genotipos de guayabo 'Media China' derivados de semilla, con deficiencia nutrimental inducida en hidroponía e invernadero. La letra S delante del número del genotipo indica plantas con síntomas y sin la letra S denota plantas sin síntomas de deficiencia nutrimental	45
Capítulo III.....	51
Evaluación morfológica de síntomas de deficiencia nutrimental en guayabo (<i>Psidium guajava</i> L.) 'Media China', sometido a baja concentración de N, P, K, Ca, Mg, S y Fe	51
CUADRO 1. Concentración de nutrimentos en la solución nutritiva para los tratamientos aplicados a plantas de guayabo 'Media China' derivadas de semilla durante la inducción de deficiencias nutrimentales en condiciones de hidroponía, utilizando arena sílica y en condiciones de invernadero.....	64
CUADRO 2. Caracteres morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China' provenientes de semilla, desarrolladas en invernadero e hidroponía.....	65
CUADRO 3. Índices de biomasa en plantas de guayabo 'Media China' provenientes de semilla y desarrolladas en invernadero e hidroponía.	65
CUADRO 4. Efecto de la solución nutritiva completa y deficiente sobre algunos caracteres morfológicos evaluados en plantas de guayabo "Media China", derivadas de semillas.....	69
CUADRO 5. Efecto de la solución nutritiva completa y deficiente sobre la producción de biomasa e índices morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China' derivados de semillas.....	71
CUADRO 6. Interacción entre tratamientos y bloques, por efecto de las deficiencias de elementos minerales sobre algunos caracteres morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China', derivadas de semillas	72

CUADRO 7. Interacción entre tratamiento y bloques, por efecto de las deficiencias de elementos minerales sobre la producción de biomasa e índices morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China' derivados de semillas dentro de los tres bloques.....	72
CUADRO 8. Coeficientes de correlación entre variables morfológicas de plantas de guayabo 'Media China' y factores ambientales registrados en invernadero.....	73
CUADRO 9. Variables micro ambientales registradas en el invernadero (medias, máximas y mínimas), donde se llevó a cabo la inducción de deficiencias nutrimentales en plantas de guayabo 'Media China' derivadas de semilla.....	74
Cuadro 10. Efecto de solución nutritiva completa y deficiente sobre la luminosidad, índice de saturación y ángulo de tono de hojas de guayabo 'Media China'.....	78
Cuadro 11. Efecto de bloques sobre la luminosidad, índice de saturación y ángulo de tono en hojas de guayabo 'Media China'.....	79
Figura 1. Efecto de los tratamientos con deficiencia nutrimental sobre la presión hídrica en hojas de guayabo 'Media China'.....	76
Figura 2. Efecto de los tratamientos con deficiencias nutrimentales y estrés hídrico sobre el potencial hídrico en plantas de guayabo 'Media China'.....	77
FIGURA 3. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' regadas con la solución nutritiva completa de Hoagland y Arnon (1938) (testigo); A, después de 227 días de iniciado el tratamiento, en los bordes de hojas maduras del genotipo 137R, aparecieron manchas cloróticas típicas de carencia de N; B, a los 24 días, las manchas cloróticas se unieron y se distribuyeron en la parte superior del limbo, como se observa en el genotipo 45R; C, después de 288 días, los bordes de las hojas del genotipo 134S se tornaron amarillos, lo que pudo asociarse con una deficiencia de N; D, a los 245 días, las hojas jóvenes situadas en los brotes del año, mostraron una clorosis presumiblemente por carencia de S.	80

FIGURA 4. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de nitrógeno; A, después de 163 días de iniciado el riego de las plantas con la solución nutritiva deficiente en N, el primer par de hojas situado en brotes del año del genotipo 22S, presentaron una coloración rojiza en los espacios venales; B, a los 240 días, las hojas maduras del genotipo 18S presentaron en sus bordes una coloración de violeta a rojiza; C, una vez transcurridos 285 días, en la parte superior de las hojas maduras del genotipo 161R se observó un amarillamiento casi total, quedando de color verde solo pequeñas porciones a cada lado de la nervadura central; D, el amarillamiento de las hojas es total y solo en algunos casos permanece la coloración rojiza, en este estado se inició la caída de hojas..... 82

FIGURA 5. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de fósforo; A, una vez transcurridos 163 días de estar regando con la solución nutritiva deficiente en P, en algunas hojas maduras del genotipo 152S se observó una coloración violeta ubicada en la parte superior del limbo; B, después de 223 días, en los bordes de las hojas del genotipo 55R se observaron pequeños puntos de color rojizo; C, días más tarde los puntos del genotipo 55R parecieron unirse y dieron paso a manchas de color rojizo sobre una superficie clorótica de la hoja; D, a los 285 días, las hojas del genotipo 75R empezaron a secarse por los bordes y ápice..... 83

FIGURA 6. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de potasio; A, transcurridos días de iniciado el riego con solución nutritiva deficiente en K, las hojas jóvenes del genotipo 2S se observaron cloróticas en sus bordes y presentaron una forma más estrecha y alargada que las normales; B, a los 191 días, en las hojas maduras del genotipo 50S surgieron una serie de manchas cloróticas venales que avanzaron desde los bordes hacia la vena central, C, después de 252 días, la clorosis se acentuó, notándose un cierto abultamiento de las venas en las hojas del genotipo 50S; D, la clorosis de bordes aparece en hojas más viejas..... 85

FIGURA 7. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de calcio; A, transcurridos 221 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en calcio, las hojas más jóvenes del genotipo 35R aparecieron cloróticas, mientras que en el segundo y tercer par de hojas situadas en brotes del año se observaron manchas de color café a lo largo de los bordes, las hojas presentaron una reacción de una hiponastia; B, a los 221 días, en las hojas maduras del genotipo 159R se registraron manchas de color café a rojizo las cuales se observaron en los bordes de la parte apical de las mismas; C, a los 236 días, las hojas del genotipo 109R presentaron manchas de color café rojizo, de mayor tamaño y de forma irregular; además empezaron a perder su color verde; D, a los 274 días, los bordes y ápices de las hojas del genotipo 72R empezaron a necrosarse, dando la apariencia de estar aserrados..... 86

FIGURA 8. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de magnesio; A, una vez transcurridos 162 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en Mg, las hojas maduras del genotipo 97R presentaron manchas cloróticas en ambos lados de la nervadura central; B, a los 274 días, las manchas cloróticas se observaron también en hojas jóvenes del genotipo 30R, distribuidas en todo el limbo, dando la apariencia moteada de las hojas; C, las manchas cloróticas se unieron y apareció una clorosis continua en los espacios venales de las hojas del genotipo 95R; D a los 274 días, se observó una clorosis general de las hojas del genotipo 95R donde solo las venas permanecieron verdes..... 87

FIGURA 9. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media china' mostrando síntomas de deficiencia de azufre; A, después de los 162 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en S, en las hojas más jóvenes situadas en los brotes del año se observó una clorosis completa; B, a los 282 días, la clorosis (incluyendo a las venas) se observó en todo el limbo de la hojas del genotipo 65R; C, a los 289 días, la clorosis también se observó en algunas hojas adultas del genotipo 60S, principalmente en los bordes de las mismas, apareciendo una reacción de epinastia; D, a los 281 días, en las hojas del genotipo 99R, se observaron síntomas que se confunden con una deficiencia presumiblemente, de N sin embargo, la presencia de puntos rojizos, pudo tratarse de una deficiencia de azufre. 89

FIGURA 10. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de hierro; A, transcurridos 162 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en Fe, en las hojas jóvenes del genotipo 17R, apareció una clorosis entre las venas; B, a los 221 días, esta clorosis también se observó en hojas de mayor edad (segundo par de hojas de brotes del año) del genotipo 17R; C, después de 294 días, en las hojas maduras ubicadas en el tercer y cuarto nudos, del genotipo 64R, además de la clorosis ubicada entre las venas, aparecieron puntos rojizos; D, a los 294 días, las hojas maduras de la base de las ramas del genotipo 17R, presentó síntomas cloróticos y junto con ellos aparecieron también puntos rojizos.....

90

NOTA

El documento de tesis lo conforman dos artículos, correspondientes a los capítulos II y III, ambos artículos se apegaron a las normas establecidas por la revista Chapingo, serie horticultura.

Por la estructuración del documento de tesis en forma de artículos, algunas veces fue necesario repetir parte de la información para mayor una mayor claridad de ciertos temas.

RESUMEN GENERAL

Se evaluó la variabilidad morfológica y molecular de 82 plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.) tipo 'Media China' derivadas de semilla y sometidas a estrés por baja disponibilidad de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro, utilizando marcadores tipo RAPD (polimorfismo en el ADN Amplificado al Azar). En la evaluación morfológica se utilizaron 17 caracteres. Se establecieron asociaciones entre 49 loci RAPD's con todos los caracteres morfológicos y la respuesta de las plantas al estrés nutrimental, mediante un análisis de agrupamiento empleando los programas NTSYST, DARwin y el coeficiente de distancia χ^2 . El análisis de los patrones RAPD obtenidos de una muestra de 82 plantas indicó la existencia de variabilidad genética entre las mismas. De un total de 49 loci evaluados el 96 % fueron polimórficos, con un índice de diversidad promedio igual a 0.744. El análisis comparativo de la eficiencia de los marcadores RAPD derivados de 82 plantas vs marcadores morfológicos obtenidos de una muestra al azar de 72 plantas para definir y diferenciar grupos de plantas con síntomas y sin síntomas, por efecto del estrés nutrimental debidas a las deficiencias de N , P, K, Ca, Ma, S Y Fe. indicó que los marcadores RAPD son más eficientes para tal propósito. Los grupos de plantas sin síntomas asociaron con la presencia de los loci RAPD A20-4, A20-2 y A20-1, con un peso molecular de 0.85, 1.4 y 1.6 kb y una frecuencia de 86.5, 78 y 89 %, respectivamente; mientras que la característica común para las plantas con síntomas fue la presencia de una banda A03-3, de 1.3 kb y una frecuencia de 74 %. Dada la asociación de más de un loci con la característica ausencia de síntomas, se infiere que dicha característica es poligénica ya que es necesaria la combinación de los tres loci mencionados para la definición de los grupos sin síntomas por deficiencia de Fe y Zn. Al calcular la correlación cofenética entre la matriz de similitud obtenida mediante marcadores RAPD y la matriz obtenida con caracteres morfológicos de 46 plantas, se encontró una asociación no significativa, con una $r = 0.05743$. Cuando el análisis se realizó integrando los dos tipos de marcadores en una sola matriz y utilizando el coeficiente de χ^2 , no se encontró separación entre los grupos con y sin

síntomas de deficiencia y el promedio de distancias para los RAPD fue de 8.09, con una varianza de 3.87; mientras que para los caracteres morfológicos la distancia promedio fue de 0.15 y la varianza de 0.4. Lo anterior confirma la eficiencia mayor de los marcadores RAPD para detectar variabilidad genética en relación a los marcadores morfológicos; también sugiere que los cambios que ocurren al nivel del genoma no siempre se corresponden con cambios en el fenotipo de la planta y es posible plantear que aún cuando la correlación detectada entre ambos tipos de marcadores es baja, es recomendable su evaluación simultánea dado que son complementarios: los marcadores RAPD son buenos descriptores de la variabilidad a nivel del genoma, mientras que la variabilidad morfológica permite explicar mejor el proceso de selección del material y presenta la ventaja de una mayor accesibilidad. Se evaluó el efecto que producen bajas concentraciones, 14, 5, 60, 40, 24, 15 y 0.25 mg·L⁻¹ de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro, respectivamente, en el follaje de guayabo 'Media China' en condiciones de invernadero. Los síntomas de deficiencia visibles que aparecieron en las hojas de las plantas son característicos para cada nutriente, los de nitrógeno, se caracterizan por presentarse en el segundo o tercer par de hojas de brotes tiernos, los cuales presentan clorosis o coloración rojiza en todo el borde de la hoja, con el tiempo las hojas adultas se tornan cloróticas y las jóvenes toman tonalidades de verde oscuro o rojizo en todo el limbo. La carencia de fósforo aparece en hojas basales de las ramas, tornándose de color púrpura y en sus bordes aparecen manchas de color café. Los síntomas por deficiencia de potasio aparecen en el segundo y el tercer par de hojas de ramas jóvenes, las cuales se tornan cloróticas en los espacios venales, posteriormente aparecen manchas cloróticas a lo largo del borde de la hoja que avanza del ápice y bordes hacia la nervadura central, y apareciendo un carácter de hiponastia. Los síntomas de deficiencia de calcio se manifiestan en hojas jóvenes (segundo o tercer par de hojas) como puntitos rojizos en todo el borde de la hoja y que se transforman en manchas de color rojizo que se van secando dando la apariencia que los bordes están aserrados. La deficiencia de magnesio aparece en hojas basales como manchas cloróticas a cada lado y a lo largo de la nervadura

central o también como manchas cloróticas dispersas en el limbo, dando la apariencia de moteado a la hoja. Concentraciones bajas de azufre se asociaron con clorosis generalizada de las hojas más jóvenes de la rama, las cuales son pequeñas y presentaron aspectos de epinastia. Una deficiencia de hierro provoca clorosis en los espacios venales de hojas jóvenes y posteriormente surjieron manchas rojizas en todo el limbo de la hoja. Las deficiencias nutrimentales también afectaron la producción de biomasa, el tratamiento dos (deficiente en N) presentó un índice de rendimiento mayor de biomasa radical y aérea, comparado con el testigo, pero fue significativamente superior al efecto que produjeron los tratamientos cuatro y cinco; ambos tratamientos redujeron el índice de producción de biomasa radical y aérea, pero sin ser significativamente diferente a la producción del testigo. No se encontró correlación entre las variables morfológicas medidas y los factores de clima, como temperatura del sustrato, del ambiente, humedad relativa e intensidad luminosa registrados en el invernadero; pero si hubo asociación positiva entre temperatura del ambiente con la intensidad luminosa y temperatura del sustrato (0.63 y 0.74 respectivamente) y negativa con la humedad relativa (-0.77), lo que pudo incidir de forma indirecta en la reducción de biomasa en los tratamientos deficientes en potasio y calcio, y favorecer la producción de biomasa en el tratamiento dos.

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN GENERAL

Importancia del guayabo en México

México es el segundo país productor de guayaba a nivel mundial, después de la India. En el año 2000 se produjeron 250,000 toneladas en las 19,722 hectáreas (SAGARPA, 2001); de esta superficie, aproximadamente el 93 % se concentra en los Estados de Aguascalientes, Michoacán y Zacatecas, con 6,885; 5,384 y 6,197 hectáreas plantadas, con rendimientos promedio de 15.36, 8.45 y 10.48 t·ha⁻¹, respectivamente (González Gaona *et al.*, 2002). El tipo de guayabo predominante en las plantaciones es criollo, conocido regionalmente como 'Media China' (Padilla Ramírez *et al.*, 2002) y obtenido mediante propagación sexual y asexual (hijuelos de raíz) (Lakshminarayana y Moreno Rivera, 1978; Tong *et al.*, 1991).

Variabilidad del guayabo 'Media China'

La gran variabilidad que presenta el guayabo (*Psidium guajava* L.) (Lakshminarayana y Moreno Rivera, 1978; Tong *et al.*, 1991), puede ser de dos tipos: la que se expresa en caracteres visibles, y la que no se expresa en características visibles. La primera también conocida como variabilidad fenotípica, se divide en: botánicos-taxonómicos (caracteres morfológicos que describen e identifican a la especie; de alta heredabilidad y poca variabilidad); morfoagronómicos (relevantes en la utilización de las especies cultivadas, aceptable heredabilidad y son afectados por el ambiente) y evolutivos (se expresan en características cualitativas debido a estímulos ambientales: presencia de plagas, enfermedades, estrés a temperatura, agua, nutrimentos y otros). La segunda es la variabilidad genética, que no se expresa en características visibles, para su identificación, se requiere del uso de técnicas especiales de laboratorio, tales como los marcadores moleculares (Hidalgo, 2003; Chávez, 2003).

En guayabo, se han hecho varias investigaciones que dan cuenta de la variabilidad expresada en caracteres visibles, entre ellas se pueden citar la de Padilla Ramírez *et*

al. (2002), quienes evaluaron 12 selecciones de guayabo 'Media China' y encontraron diferencias entre ellas en la composición mineral de las hojas, el largo y el ancho de las mismas, diámetro polar y ecuatorial de fruto, etc.; no obstante, estas variaciones no obtuvieron diferencias estadísticas entre las selecciones estudiadas, lo que los condujo a la conclusión de que el guayabo 'Media China' tiene una reducida variabilidad fenotípica.

Por otro lado, Hernández Delgado *et al.* (2003) observaron una amplia variabilidad fenotípica de la planta de guayabo entre y dentro de los 12 árboles seleccionados, de cada una de las cuatro plantaciones estudiadas. Por su parte, Perales de la Cruz y Silguero (1995) evaluando diferentes características morfológicas en 17 cultivares provenientes del Estado de Zacatecas, encontraron variabilidad en la forma, color de la epidermis y contenido de sólidos solubles totales de los frutos.

Entre los estudios realizados en guayabo que documentan la variabilidad genética, utilizando marcadores moleculares, se puede citar el de Prakash *et al.* (2002) quienes analizando la diversidad molecular en cuatro genotipos de guayabo usando marcadores RAPD's, encontraron una distancia genética máxima de 54 % entre *Psidium guajava* y *Psidium quadrangulare* y una distancia mínima de 11 % entre las selecciones SWY-1 y GR-1 de *P. guajava*, lo que ellos consideraron como una variabilidad baja o moderada. Padilla Ramírez *et al.* (2002) utilizando RAPD's y doce selecciones de guayaba 'Media China' en México, observaron una similitud genética del 88 al 96 % entre las selecciones, lo que clasificaron como una reducida variabilidad genotípica en las plantas. Contrario a lo anterior, Hernández Delgado *et al.* (2003) en un estudio de variabilidad de guayabo empleando marcadores RAPD's y AFLP's observaron amplia variabilidad genética entre árboles de guayabo dentro y entre plantaciones de Calvillo, Aguascalientes, México. Por su parte Giancola *et al.* (2002) en un intento por asociar la variabilidad fenotípica y la genotípica, utilizando varias características morfológicas y otras genéticas, obtenidas a través del uso de marcadores moleculares como RAPD's, AFLP's y SSR en soya, mediante la generación de dendrogramas, encontraron una afinidad entre los coeficientes de los

marcadores de 0.216 en promedio, lo cual confirma la utilidad de los marcadores en estudios de la variabilidad no visible.

Efecto de los nutrimentos en la variabilidad del guayabo

Los elementos minerales, al igual que el cultivar, edad, procedencia sexual o asexual de la planta, así como la adaptación a suelos con pH elevado, son factores que contribuyen a la variabilidad tanto morfológica como de los rendimientos del guayabo (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 2000; Cakmak y Braun, 2001; González Gaona, 2002). Por ejemplo, aplicaciones de nitrógeno, fósforo y potasio al suelo y la aspersión de zinc, hierro, cobre, manganeso y magnesio al follaje, contribuyeron al incremento en cantidad y calidad de la fruta, en altura de planta, número de hojas, diámetro de vástago, longitud y número de raíces (Singh y Ram, 1984; Ghosh, 1986; Rajput y Chand, 1976; Singh y Singh, 1984; Singh *et al.*, 1982). También, la necesidad de nutrimentos por la planta varía según la edad y el órgano de la planta; las hojas en sus primeras etapas de desarrollo acumulan 62 % de nitrógeno, 56 % de fósforo y potasio, 55 % de calcio y 51 % de magnesio; mientras que, del total acumulado en ramas, hojas y tallo; trasloca a frutos, el 32 % de nitrógeno, 37 % de fósforo y potasio y 0.4 % de calcio.

Función de los nutrimentos en guayabo

Según Natale y Môro (1997) la función de los elementos minerales es específica dentro del metabolismo del guayabo, a continuación se indica las funciones importantes en que participan cada elemento:

Nitrógeno. Funciones estructurales y metabolismo celular.

Fósforo. Almacenamiento y transferencia de energía.

Potasio. Síntesis y estabilidad de proteínas, síntesis de carbohidratos, osmoregulación y turgencia celular.

Calcio. Activador enzimático, permeabilidad de la membrana celular y formador de pared celular.

Magnesio. Activador enzimático, estabilizador de ribosomas y procesos fotosintéticos.

Azufre. Activador de enzimas y coenzimas.

Boro. Procesos de elongación celular, transporte de carbohidratos y metabolismo de ácidos nucleicos.

Cobre. Activador enzimático y procesos fotosintéticos.

Hierro. Actúa como transportador de electrones y activador enzimático.

Manganeso. Participa en metabolismo de ácidos orgánicos y en fotosíntesis.

Zinc. Activador enzimático y en la reducción de nitratos.

Efecto de algunos factores ambientales sobre la disponibilidad de elementos minerales

La función de cada elemento mineral y los compuestos en que participan pueden modificarse con variaciones externas de: temperaturas del aire y del suelo; intensidad de luz, humedad relativa, etc. Por ejemplo, el guayabo prospera bien en un rango de temperaturas óptimas, que oscilan entre los 18 a 30 °C; una precipitación anual de 500 a 2000 mm y con invierno bien definido (Gonzaga y Monteiro, 1994; Tong y Khay, 1990); un pH en el rango de 4.5 a 9.4 (Morton, 1987) y niveles de fertilización balanceados. Entre las fórmulas que mejores resultados han dado están: 90-80-80 de N P K (Mosqueda Vázquez, 1981), 122-65-61 mas microelementos al follaje (Nieto Ángel, 1996) y 10-10-10, 50-40-50 de N P K (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 1990). Sin embargo, a temperaturas, precipitaciones e intensidad luminosa por debajo de las óptimas (particularmente en la estación invernal), el contenido de ácido ascórbico se triplicó de 92.7 a 329.28 mg por 100 g de peso seco, mientras que la concentración de elementos minerales en la hoja fue menor, con excepción del cobre que fue más alto, (Chauhan *et al.*, 1986). La presencia de la enfermedad decline del guayabo se asoció con un pH alto en el suelo; la peca de la fruta del guayabo estuvo correlacionada con un desbalance nutrimental entre zinc, cobre y manganeso (Domínguez Álvarez, 1993) y el bronceado de la hoja se relacionó con deficiencias de nitrógeno, fósforo y zinc en el suelo (Gowda y Sulladmath, 1985).

Con base en lo anterior y considerando el efecto que la variabilidad genética y una deficiente nutrición del guayabo 'Media China' puede tener sobre los rendimientos de materia seca, los síntomas visibles y otras características morfológicas, la presente investigación se planteó como objetivos los siguientes:

1. Determinar la variabilidad genotípica y fenotípica de plantas de guayabo 'Media China' procedentes de semillas, utilizando algunas características genéticas obtenidas mediante el empleo de marcadores RAPD, así como algunas características morfológicas y establecer el grado de asociación entre ellas, al someter las plantas a estrés nutrimental.
2. Inducción de síntomas de deficiencia de N, P, K, Ca, Mg, S y Fe en plantas de guayabo 'Media China' y evaluar su efecto sobre características morfológicas, bajo condiciones de invernadero e hidroponía.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen. El guayabo (*Psidium guajava* L.) probablemente tiene su origen en el trópico americano (Bourke, 1975), de donde se distribuyó a todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo (Pennington y Sarukán, 1968). Las más de 140 especies del género *Psidium* presentes, principalmente en América parecen confirmar esta hipótesis. México por la gran variabilidad de tipos de guayabo existentes, es considerado como uno de los centros de origen (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 1990; Hayes, 1960; Popenoe, 1974).

Clasificación taxonómica. El guayabo pertenece al Reino Vegetal, subreino Fanerógamas, clase angiosperma, subclase dicotiledónea, subdivisión Lignosae, orden Myrtales, familia Myrtaceae, género *Psidium*, especie *guajava* (Campbell, 1977). La familia Myrtaceae cuenta con alrededor de 80 géneros y cerca de 3,000 especies.

Usos. Además del consumo en fresco y uso industrial, en la fabricación de dulces, jugos, néctares, pastas, etc., sus hojas, corteza, raíz y tallos se emplean en la medicina natural, para el tratamiento de diarreas, disentería, trastornos estomacales, vértigo, pasta dental, regulación de los periodos menstruales, sordera, hinchazón y úlceras (Padilla Ramírez *et al.*, 2002).

Composición química. El guayabo presenta variaciones entre cultivares y localidades, según datos de la USDA (2001), una porción comestible de 100 g contiene: 86.10 g de agua, 51 kcal, 0.82 g de proteína, 11.88 g de carbohidratos, 5.4 de fibra, 10 mg de Mg, 25 mg de P, 284 mg de K, 0.23 mg de Zn, 0.103 mg de Cu, 0.144 de Mn, 183.5 mg de vitamina C, 792 UI de vitamina A, 1.120 mg de vitamina E y cantidades menores de otras vitaminas.

Importancia económica. México es el segundo productor de guayaba, después de la India; de las 250,000 toneladas producidas en el año 2000, el 39 % provinieron de Aguascalientes, 38 % de Michoacán y 23 % de Zacatecas y el resto se produjo en los Estados de México, Jalisco, Querétaro, Guanajuato, Guerrero, Nayarit, Colima y Tabasco (SAGARPA, 2001); además de recolectarse en 27 estados del país, donde crece en forma silvestre (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 2000).

Sobre marcadores RAPD's (Polimorfismo en el ADN amplificado al azar)

En términos generales se acepta que aproximadamente la mitad de los incrementos en la producción de las plantas cultivadas, obtenidos en el pasado siglo, se deben a la Mejora Genética Vegetal (MGV). Actualmente la MGV comienza a utilizar los resultados obtenidos en Biología Molecular y entre ellos, la transformación genética y los marcadores moleculares, son los más inmediatos. La primera como un procedimiento adicional para incrementar la variabilidad genética y los segundos, con aplicaciones diversas en la caracterización de la variación genética y la generación de mapas genéticos de alta densidad genómica (Martín, 2002; Cubero, 2003). Los marcadores moleculares basados en ADN, son una técnica que permite detectar variaciones en la secuencia de ADN al cobarrar distintos individuos, entre las ventajas de éstos, cobarrados con los marcadores morfológicos e isoenzimas, destacan: a) detectan mayor variabilidad, por lo que es más fácil encontrar diferencias, b) no están afectados por el ambiente, c) permiten mayor objetividad en el análisis, d) la posibilidad de obtener ADN de cualquier tejido de la planta (Torres Lamas, 2001). Existen marcadores basados en ADN, entre los más utilizados se encuentran los RFLP's (Polimorfismos en la Longitud de los Fragmentos de Restricción), RAPD's (Polimorfismo de Productos Amplificados al Azar), AFLP's (Polimorfismo de Fragmentos Amplificados Aleatoriamente), Minisatélites o VNTR (Número Variable de Repeticiones Conjuntos), Microsatélites o SSR's (Secuencia Simple Repetidos). Los marcadores RAPD's, tienen ventaja de ser los más sencillos de analizar, y se generan por la amplificación del ADN con un cebador de secuencia corta ($10^{\pm}12$ pb) y aleatoria (Welsh *et al.*, 1991; Williams *et al.*, 1990, citados por Martín, 2002), no es necesario un conocimiento previo de las secuencias

y utiliza como sustrato poco ADN y de baja pureza; la desventaja es que son de herencia dominante, baja reproducibilidad entre laboratorios, no marcan necesariamente el mismo punto (no son transferibles) y dan lugar a una sola banda en el gel (Torres Lamas, 2001; Martín, 2002). Investigaciones relacionadas con el uso de marcadores RAPD's dan cuenta de su utilidad y eficiencia en estudios de variabilidad como es el caso de Zhebentyayeva y Sivolap (2000) quienes, utilizando isoenzimas y marcadores RAPD's encontraron una amplia heterogeneidad genética dentro del chabacano, esto les permitió concluir que el cultivar se desarrolló principalmente de la planta silvestre *Prunus armeniaca*. También Botta *et al.* (1996) en un estudio en vid y usando marcadores microsatélites, RAPD's e isoenzimas lograron distinguir cuatro cultivares y sus clones; mientras que Sharifani y Jackson (2000) en un estudio de caracterización entre especies y cultivares de pera, utilizando marcadores RAPD's, lograron separar de la progenie las características de los padres.

Sobre caracteres morfológicos en estudios de variabilidad

Según Torres Lamas (2001), dentro de los marcadores moleculares, son las isoenzimas y los RAPD's, los más utilizados para estimar la variabilidad de especies vegetales amenazadas y especies silvestres ebarrentadas con cultivares debido a su sencillez y bajo costo; además requieren pequeñas cantidades de material vegetal. Sin embargo, señalan Konopka y Hanson (1985, citados por González-Andrés, 2001), el estudio de los caracteres morfológicos, base de la sistemática tradicional, siguen siendo insustituibles a la hora de caracterizar el material vegetal. No obstante, que se acepta la importancia de los caracteres morfológicos en estudios de variabilidad y caracterización, Royo Díaz *et al.* (1994) reconocen que su exclusiva utilización presenta una serie de limitaciones, tales como: a) exigencias de disponer de un conjunto de variedades de referencia bastante amplio a fin de cobarrar en similares condiciones ambientales, b) exigencia de observar necesariamente flores y frutos, lo cual retrasa considerablemente el proceso de identificación, y por tanto, el proceso de registro, c) los caracteres fenotípicos en los que se basa, a veces, son excesivamente afectados por el medio o por las circunstancias en las que se

desarrolla la planta, d) en algunas ocasiones, diferencias agronómicas de mucho interés no se corresponden con diferencias fenotípicas suficientes como para poder distinguirlas con seguridad. Con el propósito de disminuir el efecto limitativo de algunos caracteres morfológicos se han adoptado caracteres más estables, como las medidas relativas o índices en lugar de las absolutas, propuestos por González-Andrés (2001) quien considera que los índices son menos susceptibles de ser afectados por el ambiente; es más estable la relación anchura/longitud de la hoja que cualquiera de las dos consideradas aisladamente. Por su parte Giancola *et al.* (2002) recomendaron el uso conjunto de métodos moleculares y morfológicos en la clasificación del material biológico, toda vez que los primeros funcionan como buenos descriptores de la evolución genética y los segundos explican mejor el proceso de selección del material estudiado.

El papel de algunos elementos minerales sobre los caracteres morfológicos de la planta

La velocidad en el crecimiento de las plantas y el incremento en los rendimientos dependen de factores externos como la luz, CO₂, el agua y el suministro y/o disponibilidad de elementos minerales (Marschner, 1986). Un suelo puede ser improductivo, desde el punto de vista agrícola, por ausencia exclusiva de un elemento esencial (Boguslawski, 1958, citado por Marschner, 1986). Para el desarrollo normal de las plantas superiores está bien definida la necesidad de 17 elementos minerales, como esenciales (Bonilla, 2000); sin embargo, la concentración de cada elemento puede variar en función de la especie, la edad de la planta y la concentración mineral de otros elementos. Hoagland y Arnon (1938) fueron de los pioneros en proponer una solución nutritiva general para el crecimiento en hidroponia en la mayoría de las plantas, que contiene: 210, 31, 234, 160, 48, 64, 2.5, 0.5, 0.5, 0.2, 0.05 y 0.02 mg/litro⁻¹ de N, P, K, Ca, Mg, S, Fe, Mn, B, Cu, Zn y Mo, respectivamente.

Efecto de las deficiencias nutrimentales en la función y metabolismo de las plantas

La producción de biomasa total o peso total de la planta (índice biológico) está directamente relacionada con el contenido de nutrimentos, en agricultura la cosecha se determina por la producción de materia seca de determinados órganos o tejidos (índice de cosecha), cuando el órgano de interés económico de una planta es la raíz, un índice biológico elevado puede afectar el índice de cosecha (rendimiento agrícola) ya que un gran desarrollo foliar puede restar peso y riqueza a la raíz. Entre los factores que pueden afectar el contenido de nutrimentos esenciales en los tejidos vegetales se encuentran: a) la característica genética de la planta, b) la disponibilidad de nutrimentos en el suelo o medio de cultivo, y c) etapa fenológica o edad de la planta y el órgano o tejido vegetal de interés económico (Gárate y Bonilla, 2000). La capacidad de la planta para obtener nutrimentos del suelo también está determinada genéticamente, pero además está limitada por la forma disponible o asimilable del elemento mineral en el medio y por otros factores, como la movilidad, función y el papel del elemento mineral en la planta; la interacción conjunta de estos factores finalmente pueden provocar una insuficiencia del elemento esencial en la planta. Atendiendo a la movilidad del elemento esencial, los síntomas de deficiencia puede presentarse en las hojas más viejas si los nutrimentos son móviles como nitrógeno, potasio, magnesio, fósforo, cloro y zinc (ordenados de mayor a menor movilidad) o presentarse en las hojas jóvenes si los elementos minerales son inmóviles como calcio, azufre, hierro, boro y cobre (Taiz y Zeiger, 2002).

Diagnóstico de las deficiencias nutrimentales

Según Gárate y Bonilla (2000), los métodos de diagnóstico pueden ser cualitativos, por observación de los síntomas visibles de alteraciones nutrimentales, o cuantitativos, basados en los resultados del análisis químico del material vegetal.

Los síntomas visibles se hacen patentes cuando la deficiencia nutrimental es aguda y el ritmo de crecimiento y la producción se reducen significativamente. El síntoma de deficiencia causado por deficiencias de elementos minerales, se diferencia de cualquier otro, en que, éste tiene un patrón de distribución simétrico; es decir que las

hojas en una planta con la posición igual o similar y con la misma edad fisiológica, presentarán una distribución de síntomas casi idéntica. Marschner (1986) establece una relación entre la parte de la planta que experimenta la deficiencia y el elemento nutritivo, de la forma siguiente: las hojas adultas que presentan clorosis uniforme, se les relaciona con deficiencias de N y S; si la clorosis es en los espacios intervenales o en manchas, estarán asociados con deficiencias de Mg o Mn; en cambio cuando esas mismas hojas adultas presentan necrosis de borde y puntas, seguro que será una deficiencia de K, pero si la necrosis es intervenal se tratará de una deficiencia de Mg y Mn. Cuando las hojas jóvenes presentan clorosis uniforme, se relaciona con deficiencias de Fe y S; pero si la clorosis es intervenal o en manchas las deficiencias serán de Zn y Mn, pero si esas hojas presentan necrosis, la deficiencia puede ser de Ca, B o Cu; en cambio si el síntoma aparece como deformación, los responsables de la deficiencia son Mo, Zn o B.

Con el propósito de cuantificar el grado de pérdida del color verde de la hoja por efecto de la deficiencia de algún elemento mineral, se puede recurrir al uso de colorímetros como el "Hunter-Lab" que se basa en el principio de registrar la intensidad de la luz absorbida por el color negro o la reflejada por el color blanco, así como la descomposición de la luz en los colores básicos: rojo, azul, amarillo y las mezclas de ellos: morado, verde y naranja (McGuire, 1992).

Búsqueda del equilibrio entre los nutrientes del suelo, con los nutrientes de la planta

En los países desarrollados el uso excesivo de elementos minerales ha generado graves problemas de contaminación, sin embargo, en países en vías de desarrollo, el uso deficiente de dichos elementos son una de las causas de la baja producción de alimentos, por lo que se busca el uso equilibrado en la adición de fertilizantes al suelo con la demanda nutricional por los cultivos, y cuya práctica derive en un bajo costo. Junto con ello buscar cultivarse con alta eficiencia de nutrientes para suelos con deficiencias, de donde se desprende la necesidad de estudiar la genética de las plantas cultivadas, a fin de poder clasificarlas en plantas ineficientes y eficientes en la

utilización de los elementos minerales y con base en ello iniciar procesos de selección.

Efecto de las condiciones ambientales en las deficiencias de elementos minerales

El crecimiento de las plantas depende de varios factores, que van desde la regulación genética hasta los factores edafoclimáticos. Para una especie vegetal y en un ambiente determinado, los factores de crecimiento más importantes son la luz, el agua, el CO₂ y los elementos minerales (Gárate y Bonilla, 2000). Para una condición de invernadero cerrado y con humedad relativa próximo al 100 %, las plantas pueden alcanzar temperaturas letales, debido a la reducción de la transpiración y a la mínima capacidad térmica de la hoja. Un incremento de temperatura influye directamente en una mayor absorción de elementos minerales del suelo como fósforo y azufre, favorece un mayor desarrollo foliar en detrimento del crecimiento del sistema radical y su facilidad para acumular ácidos y la fijación del CO₂, aumentando también la tasa de respiración y la producción de CO₂ lo que provoca una hidrólisis de los glúcidos y una pérdida de hasta el 50 % de la materia seca (Baeyens, 1970; Wild y Jones, 1992). La intensidad luminosa alta estimula una reducción rápida de nitratos a nitritos, incrementa la absorción y asimilación del calcio y hierro e influye en el metabolismo de hidratos de carbono, lípidos y proteínas. Por el contrario con una reducción en la intensidad luminosa, la planta reduce la demanda por nitrógeno y magnesio, pero aumenta la absorción de potasio. Además, incrementos de CO₂ en el ambiente estimulan el metabolismo de hidratos de carbono, de lípidos y proteínas (Wild y Jones, 1992).

De todos los factores que influyen en el crecimiento y desarrollo de la planta, el agua es el más importante y limitante (Tadeo, 2000). Las plantas están continuamente absorbiendo agua por la raíz y perdiéndola por las hojas, gracias a que su potencial hídrico tiene un valor superior (es más negativo) al potencial que posee el suelo.

Cuando el potencial hídrico interno se iguala con el externo, se suspende la absorción de agua y la planta se deshidrata o se marchita. Según Sánchez-Díaz y Aguirreolea (2000), la marchitez es la respuesta típica de la planta a la deshidratación en el aire en condiciones naturales. Este fenómeno genera una extrema tensión superficial, en donde el agua de los pequeños poros de la pared celular ofrece resistencia a la entrada de aire y el protoplasto mantiene el contacto con la pared, lo cual tiende a originar elevadas presiones negativas a nivel de la pared. El potencial hídrico de las células marchitas se hace aún más negativo, ya que representa la suma del potencial osmótico y del potencial de presión (ambos negativos). El potencial hídrico de la planta consta de: potencial de presión (ψ_p) o turgencia, normalmente es positivo y representa la presión ejercida por el protoplasto contra la pared celular; Potencial osmótico (ψ_s), es negativo y expresa el efecto de los solutos en la disolución celular; y el potencial mátrico (ψ_m) que es negativo, pero debido a su escasa contribución a la matriz no se considera ($\psi_m=0$).

A pesar de la complejidad que representa estudiar el efecto producto de la interacción de factores ambientales, genéticos, morfológicos y de los elementos minerales, es importante considerar la factibilidad práctica en investigaciones posteriores, dada la eficacia que puede representar en programas de mejoramiento genético a futuro.

LITERATURA CITADA

- BAEYENS, J. 1970. Nutrición de las plantas de cultivo. Traducido por MATEO BOX, J. M. y URBANO TERRON, P. Editorial LEMOS. Madrid, España. p.631.
- BONILLA, D. 2000. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. pp. 83-97. *In*: Fundamentos de fisiología vegetal. Azcón B. J.; Talón. M. (eds). Editorial. McGraw-Hill. Madrid, España.
- BOTTA, R.; VALLANIA R.; THOMAS M.; SCOTT S.; AKKAK, A.; MIAJA, M.; VERGANO G. 1996. Characterization of the "Brachetto" grapevine cultivars using molecular markers. *In*: Proceedings of the Eucarpia Sympium on Fruit Breeding and Genetics. Tobutt, K.; Alston, F. (Eds) Acta Horticulturae. 484: 347-353
- BOURKE, O. D. D. 1975. *Psidium guajava* L. guava. commonwealth bureau of horticulture and plantation crops. New York, USA. p. 530-553.
- CAMPBELL, C. W. 1977. Cultivation of tropical fruits of the Mirtaceae in Southern Florida. HortScience 21:3-7.
- CAKMAK, J.; BRAUN H, J. 2001. Genotypic variation for zinc efficiency, pp. 183-199. *In*: Application of physiology in wheat breeding. REYNOLDS, M. P.; ORTIZ-MONASTERIO, J. I; MENAB A. (eds). Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. D. F., México. 240 p.
- CHAUHAN, R.; KAPOOR. A. C.; GUPTA O.P. 1986. Note on the effect of cultivar and season on the chemical composition of guava fruit. Haryana Journal of Horticultural Sciences 15 (3-4): 228-230.

- SHARIFANI, M.; JACKSON, J. 2000. Characterization of pear species and cultivars using RAPD primers. *In*: Proceedings of the Eucarpia Sympium on Fruit Breeding and Genetics. Geibel, Fischer M. and Fischer C (Eds) Acta Horticulturae 538:499-509.
- CHÁVEZ, J. L. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica, pp. 72-77. *In*: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Franco, T. L. y Hidalgo, R. (eds.). Boletín técnico, Núm. 8, Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Columbia. 89 p.
- CUBERO J. I. 2003. Introducción a la mejora genética vegetal. Segunda Edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. 567 p.
- DOMÍNGUEZ ALVAREZ, J. L. 1993. Búsqueda de firmeza y disminución de peca en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) en Jalapa, Zacatecas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autonoma Chapingo, Chapingo, México. 65 p.
- GÁRATE, A.; BONILLA, D. 2000. nutrición mineral y producción vegetal. pp. 83-97. *In*: Fundamentos de fisiología vegetal. Azcón B. J.; Talón. M. (eds). Editorial. McGraw-Hill. Madrid, España.
- GIANCOLA, S.; MARCUCCI, P. S.; LACAZE. P.; HOPP, M. E. 2002. Feasibility of integration of molecular markers and morphological descriptors in a real case study of a plant variety protection system for soybean. Euphytica 127: 95-113.
- GOHSH, S. N. 1986. Effect of magnesium, zinc and manganese in yield and fruit quality of guajava cv. Lucknow-49. South Indian Horticulture 34(5): 327-330.

- GONZÁLEZ GAONA, E.; PADILLA-RAMÍREZ, J. S.; REYES-MURO, L.; PERALES DE LA CRUZ, M. A.; ESQUIVEL-VILLAGRANA, F. 2002. Guayaba: su cultivo en México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Alimentación, INIFAP, Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental Pabellón; Aguascalientes, México. 182 p.
- GONZAGA, N.; MONTEIRO, S. J. 1994. Goiaba par exportação: aspectos técnicos da produção. Ministerio da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agraria, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortalicas, Flores e Plantas Ornamentais. EMBRAPASPI. D. F., Brasilia, Brazil. 49 p.
- GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. 2001. Caracterización morfológica. pp. 199-217. In: Conservación y caracterización de recursos fitogenéticos. GONZÁLEZ-ANDRÉS, F.; PITA-VILLAMIL, J. M. (eds.). Ed. Publicaciones I. N. E. A. Valladolid, España. pp. 279.
- GOWDA, P. H. R.; SULLADMATH U. V. 1985. Studies on bronzing disorder in guava. South Indian Horticulturae. 33(6):349-353.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. 1938. The water-culture method for growing plants without soil, California Agric. Ext. Publi. 347, 35-37.
- HAYES, W. B. 1960. The guava and its relatives. Fruit growing in India 3^{ra} Edition, Kitabistan, Allahabad, India. pp. 283-299.
- HERNÁNDEZ DELGADO, S.; MARTÍNEZ DE LARA, J.; PADILLA RAMÍREZ, J. S.; MAYER PÉREZ, N. 2003. Avances en la diversidad genética de *Psidium* sp. en la región Calvillo-Cañones, México. Programa y Resúmenes del Primer Simposio Internacional de la Guayaba. Aguascalientes, México. pp. 71-83.

- HIDALGO, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales, pp. 2-26. *In*: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Hidalgo, R. (ed.). Boletín técnico, Número 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- LAKSHMINARAYANA, S.; MORENO RIVERA, M. A. 1978. Estudio preliminar para determinar la existencia de las variaciones en guayaba mexicana. *Revista Chapingo, Nueva Época* 10: 37-46.
- MARTÍN ANTONIO. 2002. Los marcadores genéticos en la mejora vegetal. *In*: Genómica y mejora vegetal. Nuez, F.; Carrillo, J. Y Lozano, R. (Eds). 39-63pp.
- MARSCHNER, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants, 2nd ed. Academic Press. London, San Diego, California. 673 p.
- MATA BELTRÁN, I.; RODRÍGUEZ MENDOZA, A. 2000. Cultivo y producción del guayabo. Ed. Trillas, D. F., México. 160 p.
- McGuire Raymond, G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience*, 27(12): 1254-1255.
- MOSQUEDA VÁZQUEZ, R. 1981. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el cultivo de frutales tropicales y subtropicales. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Instituto Nacional de Investigación Agrícola. D. F., México. pp. 46-48.
- MORTON, J. 1987. Guava. pp. 356-363. *In*: Fruits of warm climates. Miami, Florida, USA.

- NATALE, W.; MÔRO, F. V. 1997. Influencia das características morfológicas das folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L), na eficiencia de pulverizações foliares de nutrientes. In: 1^o Simposio Brasileiro Sobre a Cultura da Goiabeira, Jaboticabal, UNESP-FUNEP, Jaboticabal, Brasil. 168 p.p.
- NIETO ÁNGEL, D. 1996. Fisiología, bioquímica y patógenos en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). Tesis de Doctor en Ciencias. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 111 p.
- PADILLA RAMÍREZ, J. S.; GONZÁLEZ GAONA, E.; ESQUIVEL VILLAGRANA, F.; MERCADO SILVA, E.; HERNÁNDEZ DELGADO, S.; MAYER PÉREZ, N. 2002. Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la región Calvillo- Cañones, México. Revista Fitotecnia Mexicana 25(4): 393-399.
- PENNINGTON, T. D.; SARUKAN, J. 1968. Manual para la identificación de campo de los principales árboles tropicales en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. D. F., México. 413 p.
- PERALES DE LA CRUZ, M.; SILGUERO, J. F. 1995. Caracterización de colectas de guayaba, *Psidium guajava* L. de la región Calvillo-Cañones por forma y componentes del fruto. Agricultura Técnica en México 21(2): 195-203.
- POPENOE, W. 1974. Manual of tropical and subtropical fruits: excluding the banana, coconut, pineapple, citrus fruits, olive and fig. Reimpretion. Ed. Por Hafner Press. New York, USA. 474 p.
- PRAKASH, D. P.; NARAYANASWAMY, P.; SONDUR SURESH, N. 2002. Analysis of molecular diversity in guava using RAPD markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77(3): 287-293.

- RAJPUT, C. B. S.; CHAND, S. 1976. Effects of boron and zinc on the physico-chemical composition of guava fruits (*Psidium guajava* L.). Journal of the National Agricultural Society of Ceylan 13: 49-54.
- ROYO DÍAZ, J. B.; MIRANDA ORELLA, S.; CHOCARRO, A.; GONZÁLEZ LA TORRE, J. 1994. Identificación varietal en árboles frutales. Métodos aplicables. Fruticultura Profesional No 65: 30-37.
- SAGARPA. 2001. Reunión nacional sistema producto guayaba. Coatepec de Harinas, Estado de México. 49 p.
- SÁNCHEZ, S.; AGUIRREOLEA J. 2000. El agua en la planta. pp 17-30. *In*: Fundamentos de fisiología vegetal. Azcón B.; Talón M. (Eds). Primera edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- SINGH, S. P.; SINGH, B. P. 1984. Effect of magnesium and season on physico-chemical attributes of guava (*Psidium guajava* L.) fruits. Haryana Journal of Horticultural Sciences 11(1/2): 33-38.
- SINGH, S. P.; SINGH, B. P.; RAM, M. A. 1982. Effect of magnesium and season on growth, flowering, fruiting and yield of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad safeda. Haryana Journal of Horticultural Sciences 11(3/4): 188-191.
- TADEO, R. F. 2000. Fisiología de la plantas y el estrés. pp 481-498. *In*: Fundamentos de fisiología vegetal. Azcón B.; Talón M. (Eds). Primera edición. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2002. Plant physiology. Third edition. Sinauer Associates, Inc., publishers. Sunderland, Massachusetts. pp.690

- TONG, F.; MEDINA, D.; ESPARZA, D. 1991. Variabilidad en poblaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.) del municipio de Mara del Estado de Zulia. *Revista de Agronomía de la Universidad de Zulia* 8(1): 15-27.
- TONG, K. L.; KHAY, Ch. K. 1990. Guava in Malaysia, production, pests and diseases. Ed. Tropical Press SDN. BHD. Kuala Lumpur, Malaysia. 260 p.
- TORRES LAMAS, M. E.; MORENO VÁZQUEZ S. 2001. Caracterización mediante marcadores moleculares basados en ADN. *In: Conservación y caracterización de recursos fitogenéticos*. GONZÁLEZ-ANDRÉS, F.; PITA-VILLAMIL, J. M. (eds.). Ed. Publicaciones I. N. E. A. Valladolid, España. pp. 279.
- USDA. 2001. Nutrient database for standard reference, release. NDB No. 09139
- WILD, A.; JONES, L. P. H. 1992. Nutrición mineral de las plantas cultivadas. pp. 73-119. *In: Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas Según Russell, Wild y Jones. A. (ed). Traducido por URBANO T., P.; ROJO H., C. Ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp.1045.*
- ZHEBENTYAYEVA, T.; SIVOLAP, Y. M. 2000. Genetic diversity of apricot determined by isozyme and RAPD analyses. *In: Proceedings of the Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics*. Geibel, Fischer M. y Fischer C (Eds) *Acta Horticulturae* 538: 525-529.

CAPITULO II

VARIABILIDAD GENÉTICA DE ÁRBOLES DE GUAYABO 'MEDIA CHINA' PROCEDENTES DE CUATRO PLANTACIONES Y SU RESPUESTA MORFOLÓGICA A BAJA DISPONIBILIDAD DE NUTRIMENTOS

¹J. L. Domínguez Álvarez, ¹J. P. Legaria-Solano, ¹R. Nieto-Ángel, ¹A. F. Barrientos-Priego, ²M. W. BORYS

¹Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. CP. 56230. MÉXICO.

²Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla.

José Luis Domínguez Álvarez¹ y Raúl Nieto Ángel²

RESÚMEN

En la presente investigación se evaluó la variabilidad molecular y morfológica mediante marcadores tipo RAPD's (Polimorfismos en el ADN Amplificados al Azar), de plantas de guayabo (*Psidium guajava* L.) 'Media China' derivadas de semilla y sometidas a baja disponibilidad de Fe y Zn. Se establecieron asociaciones entre diecisiete caracteres morfológicos y 49 loci RAPD's y la respuesta de las plantas al estrés nutrimental, mediante análisis de agrupamiento empleando el NTSYS, DARwin y χ^2 . El análisis de los patrones RAPD's obtenidos de una muestra de 82 plantas indicó la existencia de variabilidad genética entre las mismas. De un total de 49 loci evaluados el 96 % fueron polimórficos, con un índice de diversidad promedio igual a 0.744. El análisis cobarrativo de la eficiencia de los marcadores RAPD's derivados de 82 plantas contra marcadores morfológicos obtenidos de 72 plantas para definir y diferenciar grupos de genotipos con y sin síntomas de deficiencia de Fe y Zn, indicó que los marcadores RAPD's son más eficientes para tal propósito. Los grupos de plantas sin síntomas asociaron con la presencia de los loci RAPD's A20-4, A20-2 y A20-1, con un peso molecular de 0.85, 1.4 y 1.6 kb y una frecuencia de 86.5, 78 y 89 %, respectivamente; mientras que la característica común para las plantas con síntomas fue la presencia de una banda A03-3, de 1.3 kb y una frecuencia de 74 %. Dada la asociación de más de un loci con la característica ausencia de síntomas, se infiere que dicha característica es poligénica es necesaria la combinación de los tres loci mencionados para la definición de los grupos sin síntomas por deficiencia de Fe y Zn. Al calcular la correlación, se encontró una asociación no significativa, con una $r = 0.05743$. Cuando el análisis se realizó integrando los dos tipos de marcadores en una sola matriz y utilizando el coeficiente χ^2 , no se encontró separación entre los grupos con y sin síntomas de deficiencia y el promedio de distancias para los RAPD's fue de 8.09, con una varianza de 3.87; mientras que para los caracteres morfológicos la distancia promedio fue de 0.15 y la varianza de 0.4. Lo anterior confirma la eficiencia mayor de los marcadores RAPD's para detectar variabilidad genética en relación a los marcadores morfológicos; también sugiere que los cambios que ocurren al nivel del genoma no siempre se corresponden con cambios en el fenotipo de la planta y es posible plantear que aún cuando la correlación detectada entre ambos tipos de marcadores es baja, es recomendable su evaluación simultánea dado que son complementarios: los marcadores RAPD's son buenos descriptores de la variabilidad a nivel del genoma, mientras que la variabilidad morfológica permite explicar mejor el proceso de selección del material y presenta la ventaja de una mayor accesibilidad.

Palabras Calve: *Psidium guajava* L., variabilidad fenotípica, evaluación morfológica, análisis RAPD's.

ABSTRACT

The molecular and morphological variability according to RAPD's markers (Random Amplified Polymorphisms in the DNA) of guava plants (*Psidium guajava* L.) "Media China" derived from seeds and subjected to low availability of Fe and Zn was evaluated. The associations among seventeen morphological characteristics and 49 loci RAPD's and the plant response to nutrimental stress were established through an analysis of grouping using the NTSYS, DARwin and χ^2 . The analysis of RAPD's patterns obtained from a sample of 82 plants showed the existence of genetic variability among them. From a total of 49 loci evaluated, 96% were polymorphous, with a average diversity rate of 0.744. The cobarrative analysis of the efficiency of RAPD's markers, derived from 82 plants versus morphologic markers obtained from 72 plants to define and to differentiate groups of genotypes with and without symptoms of Fe and Zn deficiency, showed that the RAPD's markers are more efficient for that purpose. The groups of plants without symptoms were associated with the presence of loci A20-4, A20-2 and A20-1 RAPD's, with a molecular weight of 0.85, 1.4 and 1.6 kb and a frequency of 86.5%, 78% and 89%, respectively, while the common characteristic for the plants with symptoms was the presence of an A03-3 band of 1.3 kb and a frequency of 74%. Due to the association of more than one loci with the characteristic absence of symptoms, it can be inferred that such a characteristic is polygenic and that the combination of the three mentioned loci is necessary for the definition of the groups without symptoms of Fe and Zn deficiency. An insignificant association, with an $r = 0.05743$ was found when calculating the correlation. When an analysis was made by integrating the two types of markers in one single matrix and using the coefficient χ^2 , no separation was found between the groups with or without deficiency symptoms, and the average of distances for the RAPD's was 8.09, with a range of 3.8, while for the morphological characteristics, the average distance was 0.15 and the range was 0.4. This confirms the greater efficiency of the RAPD's markers in detecting genetic variability in relation to the morphologic markers; it also suggests that the changes which occur at the genome level do not always have a relationship to the changes in the phenotype of the plant. It is therefore possible to assert that even when the correlation detected between both types of markers is low, their simultaneous evaluation is advisable because they are complementary: the RAPD's markers are good describers of the variability at the genome level, while the morphological variability permits a better explanation of the selection process of the material and presents the advantage of better accessibility.

Key words: *Psidium guajava* L., phenotype variability, morphological evaluation, RAPD's analysis.

1 Tesista
2 Director

INTRODUCCIÓN

El guayabo (*Psidium guajava* L.) probablemente tiene su origen en el trópico americano (Bourke, 1975), de donde se distribuyó a todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo (Pennington y Sarukan, 1968). Las más de 140 especies del género *Psidium* presentes, principalmente en América parecen confirmar esta hipótesis. México, considerado como uno de los centros de origen (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 1990; Hayes, 1960; Popenoe, 1974), el guayabo presenta una gran variabilidad fenotípica (Lakshminarayana y Moreno Rivera, 1978; Tong *et al.*, 1991). La variabilidad fenotípica, es aquella que se expresa en caracteres visibles, que pueden ser de tres tipos: botánicos-taxonómicos (caracteres morfológicos que describen e identifican a la especie; de alta heredabilidad y poca variabilidad); morfoagronómicos (relevantes en la utilización de las especies cultivadas, aceptable heredabilidad y son afectados por el ambiente) y evolutivos (se expresan en características cualitativas debido a estímulos ambientales: presencia de plagas, enfermedades, estrés a temperatura, agua, nutrimentos y otros). El otro tipo de variabilidad es la que no se expresa en características visibles y para su identificación, se requiere del uso de técnicas especiales de laboratorio, tales como los marcadores moleculares, (Hidalgo, 2003; Chavez, 2003).

En guayabo, se han hecho varias investigaciones que dan cuenta de la variabilidad expresada en caracteres visibles, entre ellas se pueden citar la de Padilla Ramírez *et al.* (2002), quienes evaluaron 12 selecciones de guayabo 'Media China' y encontraron diferencias entre ellas en la composición mineral de las hojas, el largo y el ancho de las mismas, diámetro polar y ecuatorial de fruto, etc.; no obstante, estas variaciones no obtuvieron diferencias estadísticas entre las selecciones estudiadas, lo que los condujo a la conclusión de que el guayabo 'Media China' tiene una reducida variabilidad fenotípica.

También, Hernández Delgado *et al.* (2003) observaron una amplia variabilidad fenotípica de la planta de guayabo entre y dentro de los 12 árboles seleccionados de cada una de las cuatro plantaciones estudiadas. Por su parte, Perales de la Cruz y Silguero (1995) evaluando diferentes características morfológicas en 17 cultivares

provenientes del Estado de Zacatecas, encontraron variabilidad en la forma, color de la epidermis y contenido de sólidos solubles totales de los frutos.

Además, la respuesta heterogénea en rendimientos del guayabo está asociada principalmente: al cultivar, edad, origen (sexual y asexual) de la planta (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 2000) y a la adaptación a altos niveles de pH en los suelos (Cakmak y Braun, 2001); así como a las fuentes y niveles de fertilización (González Gaona, 2002). Todas las características anteriores son factores que hacen posible la expresión de la variabilidad visible presente en este frutal; por ejemplo, Mosqueda Vázquez (1981) en un experimento en Veracruz, en plantaciones de guayabo, utilizando la fórmula 90-80-80 obtuvo rendimientos de hasta 31.9 t ha^{-1} , mientras que Nieto Ángel (1996) en un trabajo experimental con plantas de guayabo 'Media China' en la que utilizó la fórmula 122-65-61 y otros nutrimentos al follaje como, Zn, Fe, Cu, Mn, Mg y K a cantidades de 15, 22.5, 15, 15, 6 y 15 ml/litro⁻¹ respectivamente, encontró un incremento del 75 % del rendimiento, mientras que González Gaona *et al.* (1997) utilizando el mismo cultivar y la fórmula 60-60-60, obtuvieron rendimientos cercanos a las 30 t ha^{-1} .

Entre los estudios realizados en guayabo que documentan la variabilidad genética que no siempre se expresa en características visibles, mediante el uso de marcadores moleculares, se puede citar el de Prakash *et al.* (2002) quienes analizando la diversidad molecular en cuatro genotipos de guayaba usando marcadores RAPD's, encontraron una distancia genética máxima de 54 % entre *Psidium guajava* y *Psidium quadrangulare* y una distancia mínima de 11 % entre las selecciones SWY-1 y GR-1 de *P. guajava*, lo que ellos consideraron como una variabilidad baja o moderada. Padilla Ramírez *et al.* (2002) utilizando RAPD's y doce selecciones de guayaba 'Media China' en México, observaron una similitud genética del 88 al 96 % entre las selecciones, lo que indicó una reducida variabilidad genotípica en las plantas. Contrario a lo anterior, Hernández Delgado *et al.* (2003) en un estudio de variabilidad de guayabo utilizando marcadores RAPD's y AFLP's observaron amplia variabilidad genética entre árboles de guayabo dentro y entre plantaciones de Calvillo, Aguascalientes, México. Por su parte Giancola *et al.* (2002) en un intento por asociar la variabilidad fenotípica y la genotípica, utilizando varias

características morfológicas y otras genéticas, obtenidas a través del uso de marcadores moleculares como RAPD's, AFLP's y SSR en soya, mediante la generación de dendrogramas, encontraron una afinidad entre los coeficientes de los marcadores de 0.216 en promedio, lo cual confirma la utilidad de los marcadores en estudios de la variabilidad no visible.

Por los antecedentes anteriores se planteó como objetivo en la presente investigación, determinar la variabilidad genotípica y fenotípica de plantas de guayabo 'Media China', procedentes de semilla, utilizando algunas características genéticas obtenidas mediante el empleo de marcadores RAPD's, así como algunas características morfológicas y, establecer el grado de asociación entre ellas, al someter las plantas a estrés nutrimental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fase experimental en campo e invernadero

De tres plantaciones de guayabo del Municipio de Benito Juárez y de una plantación más en Zitácuaro, Michoacán, México; localizados a los 19°17' 00" de LN, y 100° 26' 30" de LO; 19° 26' 00", y 100° 22' 00" de latitud norte y de longitud oeste, respectivamente, se seleccionaron de cada sitio uno de los árboles vigorosos y de alto rendimiento de donde se seleccionó un fruto; se extrajeron sus semillas, se lavaron y se secaron a la sombra por cuatro días. Las semillas de los cuatro frutos se mezclaron y se sometieron a un tratamiento de escarificación para acelerar su germinación, colocándose en agua caliente a una temperatura de 50 °C durante un minuto; para la germinación de las semillas, éstas se colocaron en agrolita en condiciones de invernadero de 22 a 30 días.

Una vez que las plantas desarrollaron cuatro pares de hojas, se seleccionaron al azar 200 de ellas y se transplantaron en bolsas que contenían suelo tipo feozem, permaneciendo en él durante seis meses, alcanzando un desarrollo de 40 y 50 cm (12 a 14 pares de hojas). Después de esto, se lavaron y transplantaron a raíz desnuda en macetas de 25 x 25 con sustrato de arena sílica de 20 a 30 mallas (0.086 a 0.129 centímetros). Los riegos en almácigo y en las bolsas se dieron con

agua corriente cuyo contenido mineral se presenta en el Cuadro 1. Desde la germinación y durante todo el desarrollo de la planta, al interior del invernadero se registraron temperaturas de 25.22, 35.80 y 12.04 °C; humedad relativa de 64.24, 92.75 y 27.02 %; intensidad luminosa de 12 076.73, 36 206.45 y 1 317.67 $\mu\text{mol s}^{-1}\text{m}^{-2}$ (PAR); media general, máxima promedio y mínima promedio, respectivamente, y una temperatura promedio del sustrato de 21.00 °C.

CUADRO 1. Análisis químico de agua utilizada para riego en almacigo de plantas de guayaba "Media China", hasta los diez meses de edad².

pH	CE	Ca	Mg	K	Na	RAS	N _{Inorg.}	P	B	Fe	Cu	Mn	Zn	Pb	Cd
	(d S ⁻¹)			(meq litro ⁻¹)				(mg litro ⁻¹)				(mg litro ⁻¹)			
6.90	0.48	2.00	2.00	0.28	1.00	1.00	3.1	0.16	0.018	ND	ND	ND	ND	ND	ND

²Análisis procesados en el Laboratorio de Fertilidad del Departamento de Suelos de la Universidad Autónoma Chapingo.

ND: No detectado; CE: conductividad eléctrica; RAS: relación de adsorción de sodio.

Las concentraciones y fuentes usadas en la solución nutritiva por tratamiento, se indican en el Cuadro 2. Los tratamientos se distribuyeron en tres bloques con dirección norte-sur; cada tratamiento consistió en 18 repeticiones (seis por bloque, sumando un total de 144 plantas) y la unidad experimental fue una maceta. El diseño experimental usado fue el de bloques al azar generalizado.

CUADRO 2. Concentraciones de la solución nutritiva de los tratamientos aplicados a plantas de guayaba 'Media China' para la inducción de deficiencias nutrimentales en condiciones de hidroponía utilizando arena sílica y en invernadero, 2003².

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	B	Cu	Zn	Mo
	(mg litro ⁻¹)											
Testigo (1)	210	31	234	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
2	14	31	234	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
3	210	5	234	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
4	210	31	60	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
5	210	31	234	40	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
6	210	31	234	160	24	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
7	210	31	234	160	48	15	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
8	210	31	234	160	48	64	0.25	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02

²Las fuentes de fertilizantes utilizados fueron: KNO₃, Ca (NO₃)₂ 4H₂O, MgSO₄ 7H₂O, H₃PO₄, (NH₄)₂ SO₄, K₂SO₄, KH₂PO₄, KOH, CaCl₂, CaO, MgO, KNO₃, NH₄ NO₃, Mg (NO₃)₂ 6H₂O y Fe-EDHTA (Etilendiamina dihidroxifenil ácido acético), ZnSO₄, CuSO₄, MnSO₄·(NH₄)₆ Mo₇O₂₄ 4H₂O, H₃BO₄.

La solución nutritiva completa (testigo) empleada en fertirrigación de las macetas fue la propuesta por Hoagland y Arnon (1938). De esta solución se aplicaron 150 ml diariamente por maceta, en dos recipientes (con tres perforaciones de 1 mm de diámetro en el fondo), y se colocaron para este fin en la superficie del sustrato y a cada lado del tallo de la planta.

Después de cuatro meses de aplicación de la solución nutritiva, se empezó a observar síntomas de deficiencias de hierro y zinc en las hojas, por lo que dentro de cada tratamiento se clasificaron las plantas en con y sin síntomas de deficiencias; dentro de las primeras, se ubicaron a todas aquellas plantas de aspecto normal sin alteraciones visibles, en tanto que dentro de las segundas se ubicaron aquellas que presentaban hojas pequeñas y cloróticas. Debido a la sintomatología de deficiencia, la concentración de zinc se incrementó de 0.05 a 0.85 mg·litro⁻¹, y se sustituyó al sulfato de hierro y de zinc por un quelato comercial que contenía 6 y 2 % de ambos elementos respectivamente (Fe-EDHTA). La solución nutritiva se cambió cada diez días y antes de iniciar el riego con la nueva solución se drenó el sustrato con agua corriente, dejando cuatro días a la planta sin aplicar solución nutritiva. Con la clasificación inicial de las plantas, con presencia y ausencia de síntomas inducidos por la baja disponibilidad de hierro y zinc, se obtuvieron los patrones RAPD's.

Obtención de patrones RAPD en el laboratorio

Se tomaron al azar 82 plantas de guayabo de las 144 de que constituía la investigación, de las cuales, 43 genotipos no habían presentado síntomas visuales de deficiencia y 39 sí los habían manifestado. La purificación del ADN se realizó según protocolos propuestos por De la Cruz *et al.* (1997). A partir de hojas jóvenes (tercer par de hojas de brotes del año) se tomó 1.0 g de tejido, se maceró en un mortero con nitrógeno líquido adicionando primero, 390 µl de amortiguador CTAB (Cuadro 3) al 4 % y a los 2 minutos de maceración se agregaron 1.5 ml del amortiguador STE (Cuadro 3). El macerado se continuó hasta obtener una consistencia líquida, después, el líquido se transfirió a tres tubos eppendorf, estos tubos permanecieron en hielo el tiempo que duró la maceración de todas las muestras del día, donde se agregaron 50 µl de SDS (Dodecil Sulfato de Sodio) al 20 % (p:v) y 170 µl de acetato de potasio 5 Molar, se centrifugó durante 5 minutos a

16,000 rpm, se separó el sobrenadante y se colocó en tubos eppendorf nuevos. Después se adicionaron 150 µl de isopropanol, lavándose en tres ocasiones con 200 µl de etanol al 70 % (v:v). Finalmente, el ADN se resuspendió en 100 µl de TE (Tris-10 Mm + Acido tetracético diamina etileno 1 Mm) y se guardó a 4 °C. Posteriormente se verificó la integridad del ADN en un gel de agarosa al 0.8 % y se cuantificó en un espectrómetro Perkin Elmer Lambda Bio 120 V. Para la cuantificación se mezclaron en un tubo eppendorf 2 µl de ADN con 60 µl de agua bidestilada el que se colocó en el espectrómetro y la absorvancia obtenida se calculó en ng/µl de ADN.

CUADRO 3. Reactivos utilizados en la preparación de los amortiguadores CTAB al 4 % y STE. Para la determinación de ADN en hojas con y sin síntomas de deficiencias de hierro y zinc en guayabo.

Reactivos	Amortiguador	
	CTAB al 4 %	STE
Tris-HCl 1 M pH 8.0	5 ml	5 ml
EDHTA 0.5 M pH 8.0	2 ml	5 ml
CTAB 10 % (p:v)	20 ml	
NaCl 5 M	15 ml	1 ml
PVP40 10 % (p:v)	10 ml	
Ácido ascórbico	25 mg	
β-mercaptoetanol	35 µl	35 µl

Para la obtención de los patrones RAPD se emplearon 20 iniciadores de la serie A de Operon, de la cobarña Bioselec, S. de R. L. MI. para de ahí realizar la electroforesis en geles de agarosa al 1.2 %, de donde se seleccionaron los iniciadores A01, A02, A03, A04, A09, A15, A17, A19 y A20, para realizar las reacciones (Cuadro 4) los cuales mostraron el más claro patrón de bandas.

CUADRO 4. Número de ciclos, temperatura y tiempo de duración por ciclo, bajo los cuales se llevó a cabo la reacción en cadena de la polimerasa para la amplificación del ADN en el termociclador, para la obtención de los patrones RAPD.

Ciclos	Temperatura (°C)	Tiempo de duración
1	94	2 minutos
38	94, 40 y 72	30, 30 seg y 1:30 min respectivamente
1	72	3 minutos

La mezcla de sustancias y compuestos químicos para la reacción en cadena del ADN polimerasa (PCR) se llevó a cabo en un volumen de 25 μl de solución (Cuadro 5). Los productos se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.2 % más amortiguador TAE (Trisma base 40 mM Ph 7.8, Acetato de sodio 20 mM y EDTA 2 mM pH 8.0), durante 3 h a 85 V. Finalmente, los geles se tiñeron con bromuro de etidio ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{ml}^{-1}$) y se fotografiaron en luz ultravioleta (UV). La cobarración entre los genotipos se hizo mediante la similitud y diferencia de los patrones de bandas, asignándose el valor 0 a la ausencia y 1 a la presencia de una banda. Se cuantificó el número de bandas de la amplificación generada para cada iniciador, asignándose un número de acuerdo con su migración en el gel. A la banda de mayor peso molecular se le asignó el número uno y así sucesivamente hasta la banda con menor peso molecular. Se realizó el registro de los patrones RAPD's obtenidos con los nueve iniciadores para los 82 genotipos y con esta información se construyó la matriz básica de datos (MBD).

CUADRO 5. Componentes de la mezcla de la reacción en cadena de la polimerasa, para la obtención de los patrones RAPD.

Componentes de la mezcla	Volumen en μl
Agua bidestilada estéril	3.0
Amortiguador de PCR 10x	2.5
Oligonucleótidos $10 \text{ pmol}\cdot\mu\text{l}^{-1}$	3.0
ADN genómico $20 \text{ ng}\cdot\mu\text{l}^{-1}$	2.0
DNTP's	10.0
MgCl_2 50 mM	1.0
Taq ADN Polimerasa	3.5

Evaluación de los caracteres morfológicos.

De las seis plantas por bloque de que constaba el experimento, solo se eligieron tres, dando un total de 72 plantas y de éstas, solo a 46 se les purificó ADN, por lo tanto fueron 46 genotipos a los cuales se les evaluó tanto caracteres morfológicos como la obtención de patrones RAPD's. Los caracteres evaluados de las 72 plantas fueron 16 (Cuadro 6), mientras que los índices calculados con los pesos fresco y seco de raíz, tallo y hojas fueron 12 (Cuadro 7). Con la obtención de índices se buscó reducir el efecto del ambiente sobre las variables medidas. Al respecto González-Andrés

(2002) señala que contribuye más la relación anchura/longitud de la hoja que los caracteres por separado.

Análisis Estadístico

Patrones RAPD's. Con la codificación de presencia: ausencia, producto de los patrones de las bandas se construyó una matriz básica de datos (MBD), donde en las columnas se colocaron los 82 genotipos y en las filas, las 49 bandas producto de los nueve iniciadores. A partir de la MBD se calculó una matriz de similitud utilizando el coeficiente de Jaccard (1908, citado por Sokal y Sneath, 1963), para de ahí construir un dendrograma utilizando el programa NTSYS-Pc versión 2.1 y el programa DARwin versión 3.6. A partir de la MBD con la que se construyó este dendrograma, se realizó un remuestreo ("bootstrap") de 1000 combinaciones entre los 82 genotipos con el programa FreeTree (Hampel *et al.*, 2001) hasta llegar a obtener un dendrograma de mayor representación para lo cual, se utilizó el programa TreeView.

CUADRO 6. Caracteres morfológicos evaluados en plantas provenientes de semilla de guayabo 'Media China' en condiciones de hidroponía e invernadero.

CARACTER (unidad)	SIMBOLOGÍA
Diámetro de tallo (cm)	DIÁMTALLO
Altura total de planta (cm)	A. TOTAL
Altura parcial de planta (cm) (crecimiento por efecto del tratamiento)	APP
Número de hojas	NH
Total de brotes	TB
Longitud de brotes (cm)	LB
Nudos por brote	NB
Peso fresco de raíz (g)	PFR
Peso fresco de hojas (g)	PFH
Peso fresco de tallos (g)	PFT
Peso fresco de vástago (g) (suma de hojas y tallos)	PFV
Peso de ápices radicales (g)	PAP
Ápices radicales	NAP
Área foliar (cm ²)	AF

CUADRO 7. Índices obtenidos de combinaciones de los caracteres de peso fresco y seco de raíz, tallo y hojas de plantas de guayabo 'Media China' provenientes de semilla en hidroponía e invernadero.

RELACIÓN DE VARIABLES	SIMBOLOGÍA
Peso seco de hojas/Peso fresco de hojas	PSH/PFT
Peso fresco de hojas/Peso fresco de raíz	PFH/PFR
Peso fresco de tallo/Peso fresco de hojas	PFT/PFH
Peso fresco de raíz/Peso fresco de tallo	PFR/PFT
Peso fresco de raíz/Peso fresco de vástago	PFR/PFV
Peso fresco de vástago/Peso fresco de raíz	PFV/PFR
Peso seco de tallo/Peso fresco de tallo	PST/PFT
Peso fresco de hojas/Peso seco de hojas	PFH/PSH
Peso fresco de raíz/Peso seco de raíz	PFR/PSR
Peso fresco de tallo/Peso seco de tallo	PFT/PST
Peso seco de raíz/Peso seco de vástago	PSR/PSV
Peso seco de raíz/Peso fresco de raíz	PSR/PFR

Finalmente y con el objetivo de conocer el aporte de cada caracter en la variabilidad existente entre los genotipos analizados, se calcularon los componentes principales utilizando la MBD.

Datos Morfológicos

Medidas absolutas y relativas. Con el propósito de eliminar aquellos caracteres con un nivel de asociación mayor o igual al 80 %, se realizó un análisis de correlación entre los dieciséis caracteres absolutos y doce relativos derivado de los índices, dejando aquellos caracteres con el mayor coeficiente de variación, quedando diecisiete caracteres en total. Estos datos se estandarizaron utilizando el programa NTSYS, con el fin de lograr continuidad entre ellos y homogeneizar las unidades de medida; posteriormente se construyó una matriz básica de datos (MBD) cuantitativa, en columnas se colocaron 72 genotipos y en las filas los 17 caracteres; de ahí se construyó una matriz de disimilitud y posteriormente se obtuvo un dendrograma, utilizando el coeficiente χ^2 (Sneat y Sokal, 1973) y el método jerárquico aglomerativo de UPGMA "Unweighted Pair-group method using arithmetic averages". Por último se hizo un análisis de componentes principales para conocer el aporte de cada uno de los caracteres en la variabilidad entre los genotipos.

Análisis de agrupamientos

Para conocer la precisión y nivel de ajuste, así como para obtener los estimadores de la magnitud de las diferencias entre los dendrogramas obtenidos por cada uno de los métodos, se construyó la matriz cofenética, utilizando la matriz Sahn de características morfológicas, cobarrándose con la matriz de similitud de los RAPD's. La cobarración se llevó a cabo utilizando la prueba matriz-correspondencia de Mantel (1967, citado por Giancola *et al.*, 2002). La significancia de Z se determinó por cobarración con el valor observado de Z y el valor crítico obtenido de Z de esta distribución permutable del Programa NTSYS-Pc versión 2.1 (Exetec Software, USA). Posteriormente se construyó otra matriz básica de datos, utilizando el coeficiente χ^2 y el programa NTSYS versión 2.1, para construir el dendrograma, colocando los productos o bandas obtenidos con la técnica del ADN amplificado al azar (RAPD) y los caracteres morfológicos en las filas y 46 genotipos en las columnas, estos 46 genotipos forman parte tanto de las 82 plantas a las que se les purificó ADN, así como de las 72 que se les midieron caracteres morfológicos. El Índice de Diversidad (ID) o polimorfismo para los marcadores RAPD, se estimó mediante la fórmula $ID = 1 - \sum_i P_i^2$, donde P_i es la frecuencia iésima del alelo i, considerándose cada alelo individual como un locus simple.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis de los patrones de marcadores RAPD

De los nueve iniciadores analizados, solo dos de ellos expresaron polimorfismo menor al 100 %, OPA01 y OPA04, con 80 y 86 % de polimorfismo, respectivamente. De un total de 49 bandas presentadas, el 96 % fueron polimórficas. Se pudo apreciar la presencia de polimorfismo entre los diferentes genotipos (Figura 1), lo que sugiere la existencia de variabilidad genética entre las plantas procedentes de semilla de frutos colectados en diferentes plantaciones, pero del mismo tipo 'Media China'.

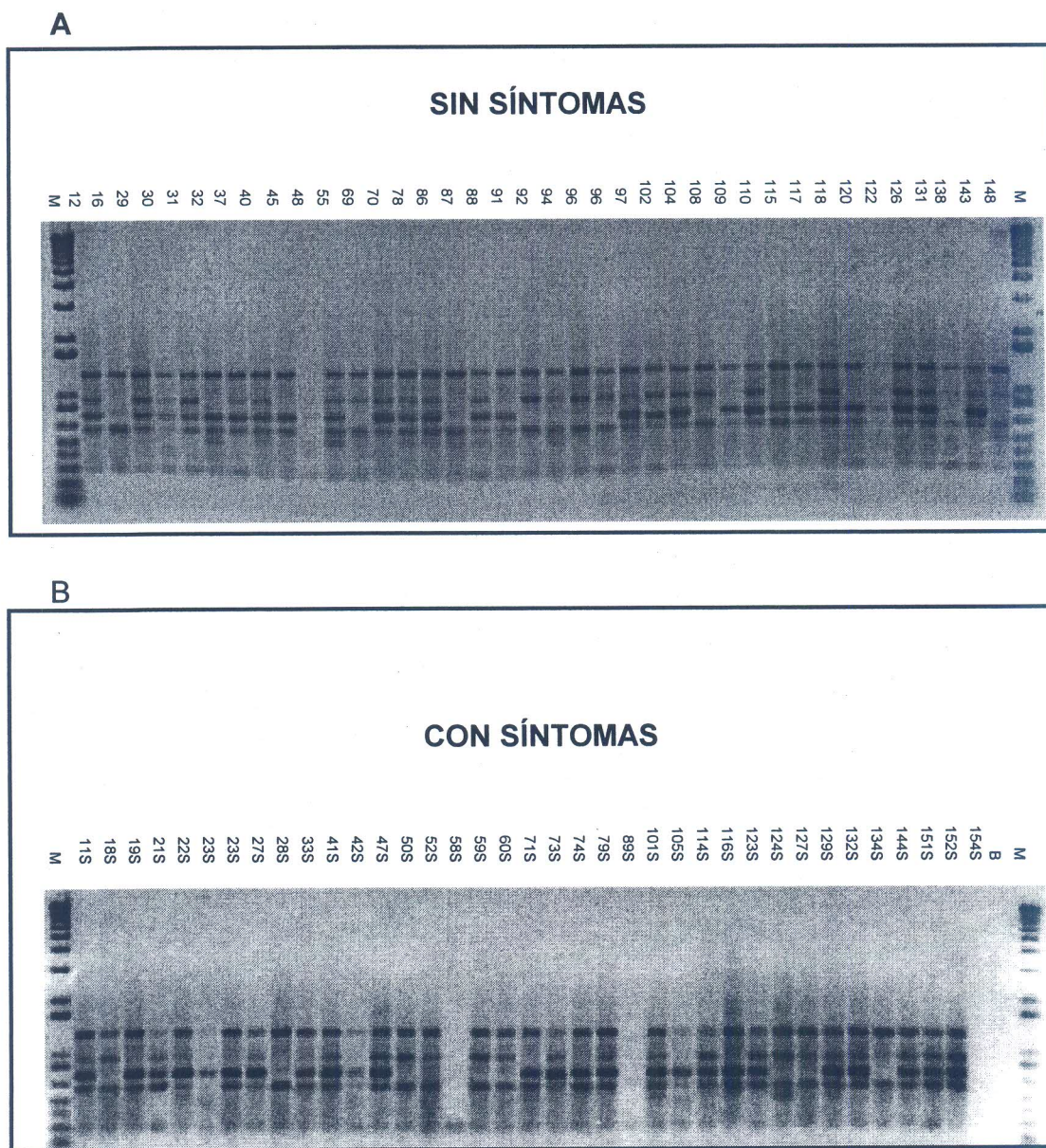


FIGURA 1. Patrones de bandas RAPD's obtenidos usando el iniciador OPA19. A. Genotipos sin síntomas foliares de deficiencia nutrimental. B. Genotipos con síntomas foliares, en 82 genotipos provenientes de semilla de guayabo 'Media China' separados en gel de agarosa 1.2 %. La letra S delante del número se refiere a plantas con síntomas y sin la letra S plantas sin síntomas de deficiencia nutrimental.

En el dendrograma pueden apreciarse cuatro grupos bien definidos (Figura 2). El grupo I se formó con los genotipos 73S, 42S, 27S, 129S, 33S, 134S, 105S, 74S, 23S, 79S, 41S, 21S, 18S, 132S, 28S, 151S, 71S, 60S, 89S, 108, 101S, 159, 123S, 116S,

58S, 19S, 52S, 155, 22S, 11S y 127S, la mayoría de ellos con síntomas visibles de deficiencias nutrimentales de micronutrientes (Zn y Fe, principalmente). Después de un análisis de remuestreo que dió origen a un dendrograma (Figura 3), donde los genotipos 96, 59S, 3S y 50S, que se ubicaban en el grupo II, pasan a formar un grupo independiente, muy cercano a este grupo I, excepto cuatro genotipos que no tienen la letra S, la característica es la alta frecuencia en todos ellos (74 %) con que se presenta el loci o banda A03-3 con un peso de 1.3 kb, producto de la amplificación, usando un iniciador con secuencia 5'-AGTCAGCCAC-3', la cual se relaciona más con aquellos genotipos que presentan síntomas de deficiencias visibles a bajos niveles de concentración de hierro (Fe) y zinc (Zn) (Cuadro 8). En el grupo II se ubicaron los genotipos 94, 69, 96, 88, 37, 31, 55, 138, 30, 148, 120, 109, 48, 23S, 122, 114S, 47S, 152S, 124S, 154S, 115, 16, 96, 59S, 3S, 144S y 92. En un análisis de remuestreo los genotipos 96, 59S, 3S, y 50S están fuera de este grupo, por lo que exceptuando a seis genotipos que presentan la letra S, el resto no presentan síntomas de deficiencia, a pesar de que los agrupamientos son a diferentes distancias respecto al punto de origen (Figuras 2 y 3). Considerando el mismo análisis de remuestreo y sus valores de distancia entre las ramas del subgrupo que forman los genotipos con síntomas 114S, 47S y las ramas de los genotipos sin síntomas 122 y 48, sugieren una diferencia y una separación muy marcada de estas cuatro plantas con el resto de los genotipos, debido probablemente al 30 % de alogamia de la especie. Al grupo III lo constituyen los genotipos 104, 97, 143, 158, 78, 126, 110, 157, 91, 86, 87, 118, 117, 12, 156, 70, 40, 29, 45, 32, 2S, 131 y 102, todos ellos sin síntomas de deficiencia visible en sus hojas, a excepción del genotipo 2S.

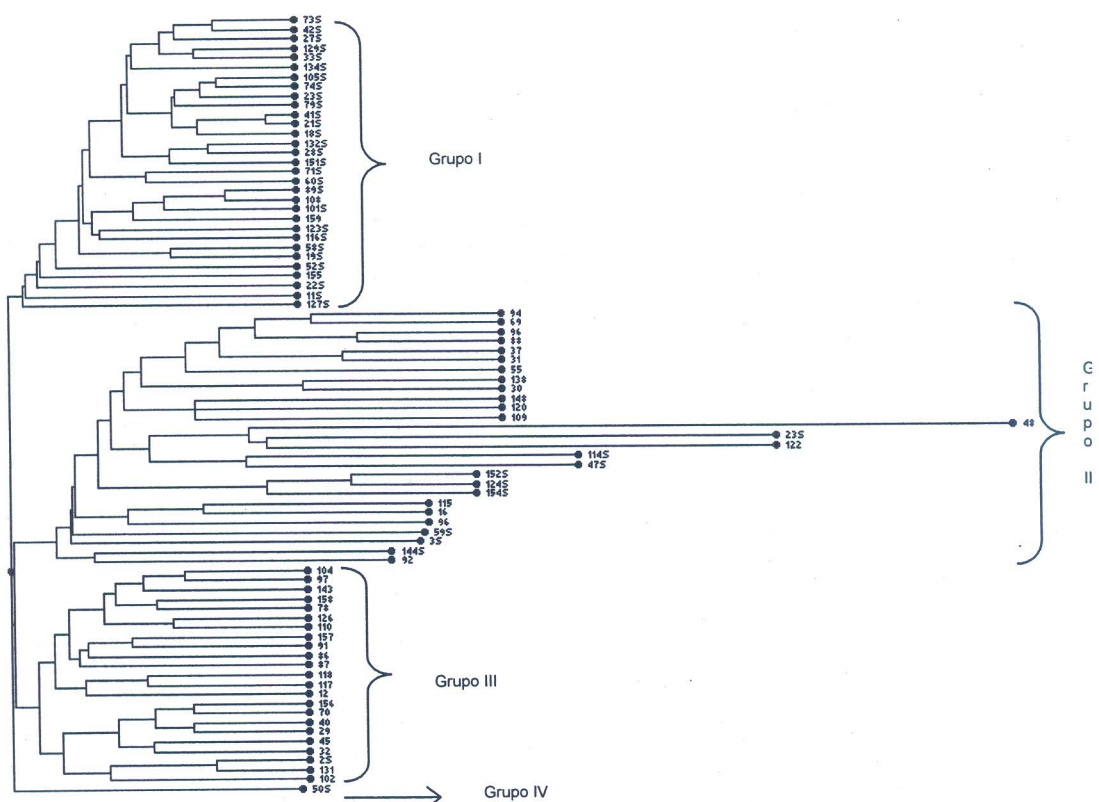


FIGURA 2. Dendrograma construido mediante el coeficiente Jaccard con los patrones de bandas RAPD's obtenido de hojas de 82 genotipos de guayabo y separados por electroforesis en gel de agarosa 1.2 %. La letra S delante del número de la accesión denota plantas con síntomas y sin la letra S se refiere a plantas sin síntomas de deficiencia nutrimental, todas ellas provenientes de semilla de guayabo 'Media China'.

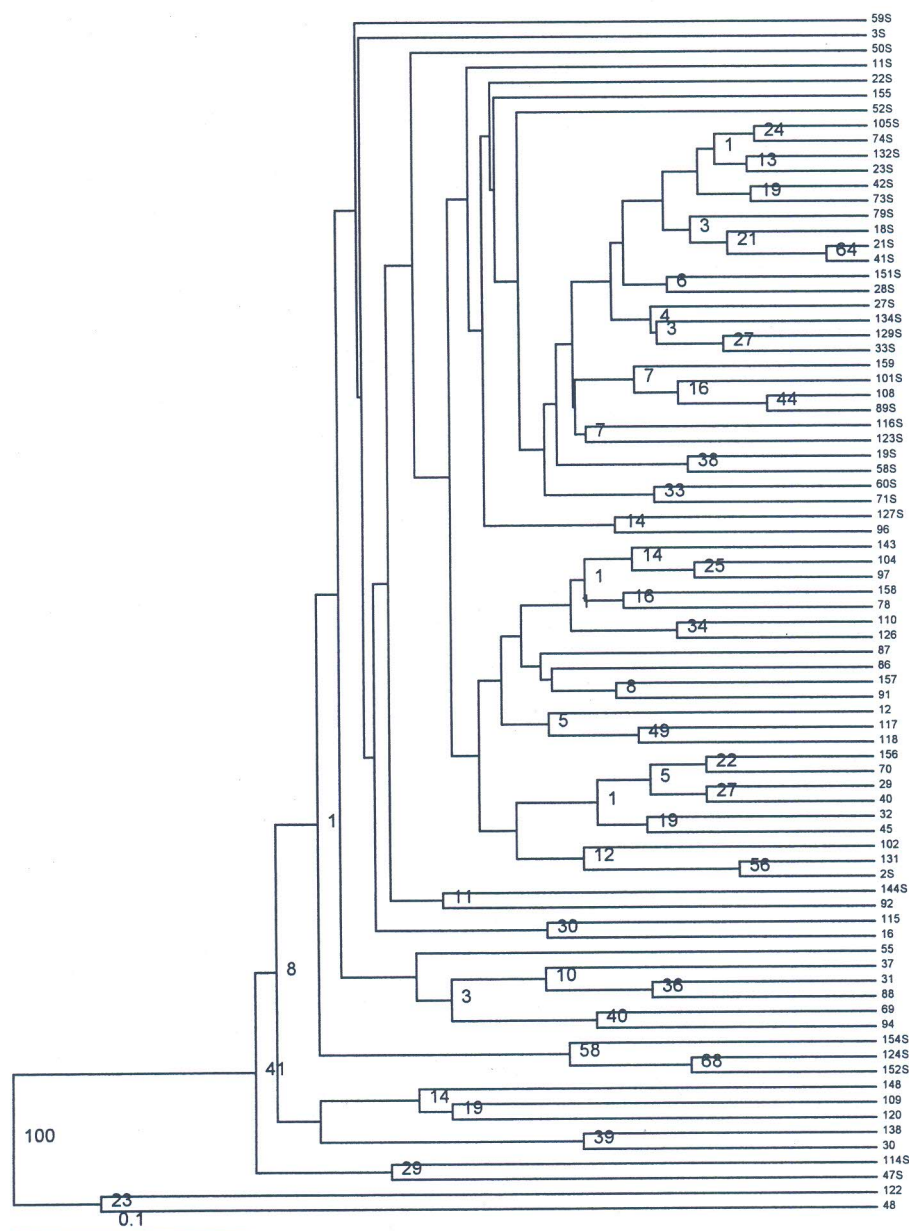


FIGURA 3. Dendrograma construido a partir de 1000 combinaciones de remuestreo obtenida de los productos RAPD's de 82 genotipos de hoja de guayabo provenientes de semilla 'Media China', mediante el coeficiente de Jaccard. Los números en las ramas indican el número de veces en porcentaje en que la topología de una rama particular se repite.

Una característica común que cobarrrten estos genotipos es la presencia de los loci o bandas denominadas A20-4, A20-2 y A20-1 cuya frecuencia es de 86.5, 78 y 89 %, con un peso molecular de 0.85, 1.4 y 1.6 kb, respectivamente (Cuadro 8), obtenidos usando un iniciador con secuencia 5'-GTTGCGATCC-3', asociado con aquellos genotipos que no presentaron síntomas de deficiencia en sus hojas a bajas concentraciones de Fe y Zn. En el grupo IV se encuentra el genotipo 50S, el cual, una vez hecho el análisis de remuestreo, pasa a formar parte de otro grupo muy cercano a los grupos I y II (Figuras 2 y 3).

CUADRO 8. Frecuencia de las bandas OPA20-4, OPA20-2, OPA20-1 y OPA03-3, cuya presencia hacen posible la diferencia entre genotipos de guayabo 'Media China' provenientes de semilla, en hojas con y sin síntomas de deficiencia de Fe y Zn.

Genotipo	Banda (%)			
	A20-4	A20-2	A20-1	A03-3
Sin síntoma	86.5	78	89	46
Con síntoma	41.0	18	64	74

Estos resultados indican que el método utilizado es eficiente para separar y clasificar los genotipos sin y con síntomas de deficiencia nutrimental visible en hojas, a partir de características genéticas determinadas a través de los patrones de marcadores RAPD's. Ello permite establecer una asociación entre el genotipo de las plantas con la ausencia o presencia de síntomas inducidos por bajos niveles nutrimentales. Dicho de otra manera, los resultados sugieren que la ausencia o presencia de síntomas en las plantas a bajas concentraciones de hierro y zinc, está determinada genéticamente. Por lo que se les puede agrupar como genotipos con síntomas (grupo I), sin síntomas (grupo III) y mixtos (grupo II). La formación que aportan este sistema de agrupamientos es el resultado de la combinación que ocurre entre las diferentes bandas obtenidas con el análisis RAPD's.

Por la combinación de bandas que se presenta y la respuesta de las plantas, se infiere que la respuesta a la baja fertilidad es poligénica (Hidalgo *et al.*, 2003; Giancola *et al.*, 2002; Thomas *et al.*, 2001) ya que un solo marcador no es capaz de definir la presencia o ausencia de síntoma de deficiencia; se requiere una combinación frecuente de las mismas para determinarlas mediante asociación.

La cantidad de bandas probablemente se refiera a un alto grado de polimorfismo a nivel genético detectado por los marcadores RAPD's, como consecuencia de la alta variabilidad genética (Hidalgo, 2003; Chávez, 2003) dentro del guayabo tipo 'Media China', lo que puede asociarse con el 30 % de alogamia que presenta la especie (Mata Beltrán y Rodríguez Mendoza, 1990). Estos resultados contrastan con los obtenidos por Padilla Ramírez *et al.* (2002) quien en un análisis con RAPD's en 12 genotipos del tipo 'Media China', encontraron una reducida variabilidad genotípica, debido posiblemente a que las plantas utilizadas en el estudio provenían de estacas enraizadas y en nuestro caso las plantas provinieron de semilla o probablemente por el tipo de iniciadores utilizados.

El índice de diversidad promedio para los RAPD's detectado en el presente estudio fue de 0.744, muy superior al encontrado por Giancola *et al.* (2002) para soya, este alto índice de polimorfismo permite ubicar al método de marcadores RAPD's utilizado, como una técnica eficiente para el agrupamiento de genotipos sin y con síntomas visibles como una respuesta a los bajos niveles de elementos disponibles en la solución nutritiva. Este resultado concuerda con lo citado por Chávez (2003); Prakash *et al.* (2002); Hernández Delgado *et al.* (2003); Legaria Solano (2003); Weber (2003), quienes trabajando con diferentes especies, concluyeron que los marcadores RAPD's son una técnica valiosa, eficiente, útil y actual para los estudios de variabilidad intra e inter poblacional, dado que son genéticamente neutros a los procesos de selección y no son influenciados por el ambiente. Dichos marcadores también permiten detectar altos niveles de polimorfismo, aunque dicho polimorfismo no siempre se refleja en el fenotipo de los organismos. Este nivel alto de variabilidad se ve reforzado con los resultados obtenidos del análisis de componentes principales (ACP), donde se encontró que son diez componentes principales los que explican conjuntamente apenas el 59 % de la variabilidad y de éstos (Cuadro 9), los cuatro primeros explicaron tan solo el 35 % de la misma.

CUADRO 9. Valores de Eigen-valor y varianza acumulada obtenida del análisis de componentes principales procedente de patrones de bandas RAPD's de hoja de 82 genotipos de guayabo 'Media China' derivados de semilla.

Componente	Eigen-valor	Porcentaje (%)	
		Individual	Acumulada
1	6.36891976	13.5509	13.5509
2	4.47055561	9.5118	23.0627
3	3.44786036	7.3359	30.3986
4	2.54734887	5.4199	35.8185
5	2.25465631	4.7971	40.6156
6	1.97976167	4.2123	44.8279
7	1.92851846	4.1032	48.9311
8	1.74548907	3.7138	52.6449
9	1.59297648	3.3893	56.0342
10	1.49356129	3.1778	59.2120
11	1.43667415	3.0568	62.2688
12	1.31792228	2.8041	65.0729
13	1.23924027	2.6367	67.7095
14	1.15067235	2.4482	70.1578
15	1.12107089	2.3853	72.5430
16	1.06846933	2.2733	74.8164
17	1.01681374	2.1634	76.9798
18	0.89736824	1.9093	78.8891
19	0.88631527	1.8858	80.7749
20	0.79036966	1.6816	82.4565
21	0.76833185	1.6347	84.0913
22	0.70466309	1.4993	85.5906
23	0.60730084	1.2921	86.8827
24	0.57935505	1.2327	88.1154
25	0.53251919	1.1330	89.2484
26	0.50712871	1.0790	90.3274
27	0.45130627	0.9602	91.2876
28	0.42035493	0.8944	92.1820
29	0.39654101	0.8437	93.0257
30	0.37252428	0.7926	93.8183
31	0.35509970	0.7555	94.5738
32	0.32484075	0.6912	95.2650
33	0.30635547	0.6518	95.9168
34	0.26161225	0.5566	96.4734
35	0.24106756	0.5129	96.9863
36	0.20651517	0.4394	97.4257
37	0.19517224	0.4153	97.8410
38	0.18560705	0.3949	98.2359
39	0.15455034	0.3288	98.5647
40	0.14250688	0.3032	98.8679
41	0.13330618	0.2836	99.1515
42	0.11970590	0.2547	99.4062
43	0.09560789	0.2034	99.6097
44	0.08524466	0.1814	99.7910
45	0.06210175	0.1321	99.9232
46	0.03611695	0.0768	100.0000

La presencia de las bandas A17-3, A17-4, A15-4, A17-1, obtenidas con los iniciadores OPA15 y OPA17, se asocian a genotipos sin y con síntomas visibles en las hojas y, son las que mayor contribución aportaron a la separación entre los genotipos para el componente 1. En el componente 2 lo hacen las bandas A20-2, A20-4 y A04-1, obtenidas con los iniciadores OPA20 y OPA04, bandas con una asociación más frecuente con genotipos con ausencia de síntomas de deficiencia a Fe y Zn. Para el componente 3 las bandas de mayor contribución son A03-2, A03-3 y

A02-1, producto de los iniciadores OPA03 y OPA02, la mayor frecuencia de las dos primeras bandas se asocian con genotipos que presentan síntomas de deficiencia; mientras que para el componente 4 son: A04-4, A19-5 y A15-5, obtenidas con los iniciadores OPA04, OPA15 y OPA19 (Cuadro 10).

CUADRO 10. Valores de Eigen-vector en los primeros cuatro ejes del análisis de componentes principales procedente de patrones de bandas RAPD's de hoja de 82 genotipos de guayabo 'Media China' derivados de semilla.

Caracter	Componente Principal			
	1	2	3	4
A20-2	0.0829	0.7564	0.1461	0.1160
A17-2	0.5735	-0.3513	0.1806	0.1881
A09-4	-0.2313	-0.0234	0.0370	0.3918
A02-1	0.1801	0.1531	0.5251	0.1732
A03-3	0.1797	-0.2854	0.5626	0.0471
A15-4	0.6437	-0.3875	-0.0278	-0.1498
A19-2	0.2652	0.3114	-0.1612	-0.2077
A04-6	0.4299	-0.4290	0.510	0.1715
A15-1	0.2977	0.4838	0.3236	-0.1319
A20-4	-0.1756	0.5147	0.3062	0.2452
A04-3	-0.1451	0.2462	0.2777	0.2681
A17-5	0.6002	-0.3648	0.1311	-0.1877
A17-4	0.6841	-0.2225	0.2627	-0.0383
A02-4	0.3359	-0.4708	-0.3044	-0.0995
A19-3	0.1915	0.1779	-0.0041	-0.2323
A17-1	0.6388	-0.3408	0.0232	-0.0710
A03-2	0.1749	0.1403	0.6032	-0.1286
A20-1	0.1820	0.4740	0.0584	0.3256
A02-6	0.5596	-0.0884	0.1510	-0.0894
A17-3	0.7482	-0.0640	-0.0126	-0.0955
A15-3	0.4041	0.2807	0.0474	0.0975
A19-4	0.6150	0.2100	-0.3616	-0.0310
A03-1	0.1824	-0.0625	0.4589	-0.1362
A20-3	0.3583	0.4780	0.0546	0.3824
A09-3	0.1924	0.2877	0.2265	0.3493
A04-5	0.1640	0.4112	0.1400	-0.4003
A15-2	0.5353	0.0094	-0.1321	-0.0966
A19-1	0.4633	0.4197	-0.3859	0.0277
A04-1	0.1880	0.5065	0.2447	-0.4235
A01-4	0.0505	-0.0494	0.2995	0.4065
A02-3	0.3416	-0.1597	0.2961	0.1722
A02-9	-0.0723	-0.4408	0.3021	0.0065
A09-2	0.5114	0.2294	-0.2071	0.1604
A01-1	0.3092	-0.2910	-0.0571	0.1822
A02-2	0.4689	0.2967	-0.3363	0.0734
A04-2	0.1683	0.2428	0.3786	-0.3269
A15-5	0.3024	-0.1565	0.0414	0.4308
A04-4	0.2704	-0.2030	0.0177	0.4599
A01-3	0.3463	0.1481	0.0471	0.1367
A19-5	0.0310	0.1291	-0.2301	0.4325
A20-5	0.1561	0.3169	0.2356	-0.3047
A02-5	0.2553	-0.0053	0.1583	-0.0918
A02-7	0.1688	0.0701	0.1382	0.2340
A01-5	0.0939	-0.0019	0.0433	0.1294
A09-1	-0.4093	-0.2204	0.4989	0.0216
A09-5	-0.0414	0.1305	-0.2324	0.1901
A02-8	-0.4093	-0.2204	0.4989	0.0216
A01-2	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
A04-7	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Respuesta de los caracteres morfológicos

Se encontró que las diferencias o polimorfismo se reflejó mediante la formación de cuatro grupos de genotipos: el grupo I incluyó al 27S, 28S, 86, 44S, 43S, 96, 129S, 25S, 13S, 101S, 105S, 134S, 2S, 17S, 59S, 124S, 23S, 132S, 137 y 118; con excepción de cuatro genotipos todos los demás presentan síntomas de deficiencia nutrimental en el follaje de Fe y Zn. Este grupo es el más distante, respecto al punto de origen de la rama central; los tres últimos genotipos, pero sobre todo el último, son los que marcan la mayor diferencia dentro y entre los otros grupos. El grupo II formado con los genotipos 55, 143, 65 y 122, ninguno presenta síntomas de deficiencia. Al grupo III lo constituyen los genotipos 89S, 111S, 17, 108, 33S, 110, 48, 60S, 94, 42S, 85, 45, 161, 34, 70, 72, 56S, 142, 138, 78, 18S, 87, 76S, 62, 64, 104, 99, 120, 74S, 50S, 16, 32, 38, 83, 102, 90, 19S, 106, 116S, 114S, 103, 109, 49, 98, 95, 40 y 52S, donde catorce de ellos presentaron síntomas de deficiencia y treinta y tres no. En el grupo IV solo se encuentra el genotipo 30 que no presenta síntomas. Los resultados sugieren la formación de tres grandes agrupamientos clasificado como: genotipos con síntomas (grupo I), sin síntomas (grupos II y IV) y mixto (grupo III), agrupamientos muy parecidos al obtenido con marcadores RAPD's, sin embargo por la cantidad de genotipos mezclados con y sin síntomas ubicados en el grupo III y por el escaso número de genotipos sin síntomas presentes en los grupos II y IV, puede decirse que la utilización de datos provenientes de características morfológicas para su construcción no fue muy eficiente para lograr la separación de los genotipos con síntomas de deficiencia de aquellos que no los presentaron, como lo fueron los marcadores RAPD's. La baja eficiencia para formar grupos suficientemente definidos utilizando caracteres morfológicos, en contraste con los marcadores RAPD, puede deberse a que los primeros son fuertemente influenciados por el ambiente, por lo que no siempre son los mejores descriptores de la evolución genética y su mayor utilidad radica en que permiten explicar mejor el proceso de selección del material estudiado, mientras que los segundos no lo son y permiten trabajar directamente sobre el genotipo de la planta (Chávez, 2003; Giancola *et al.*, 2002).

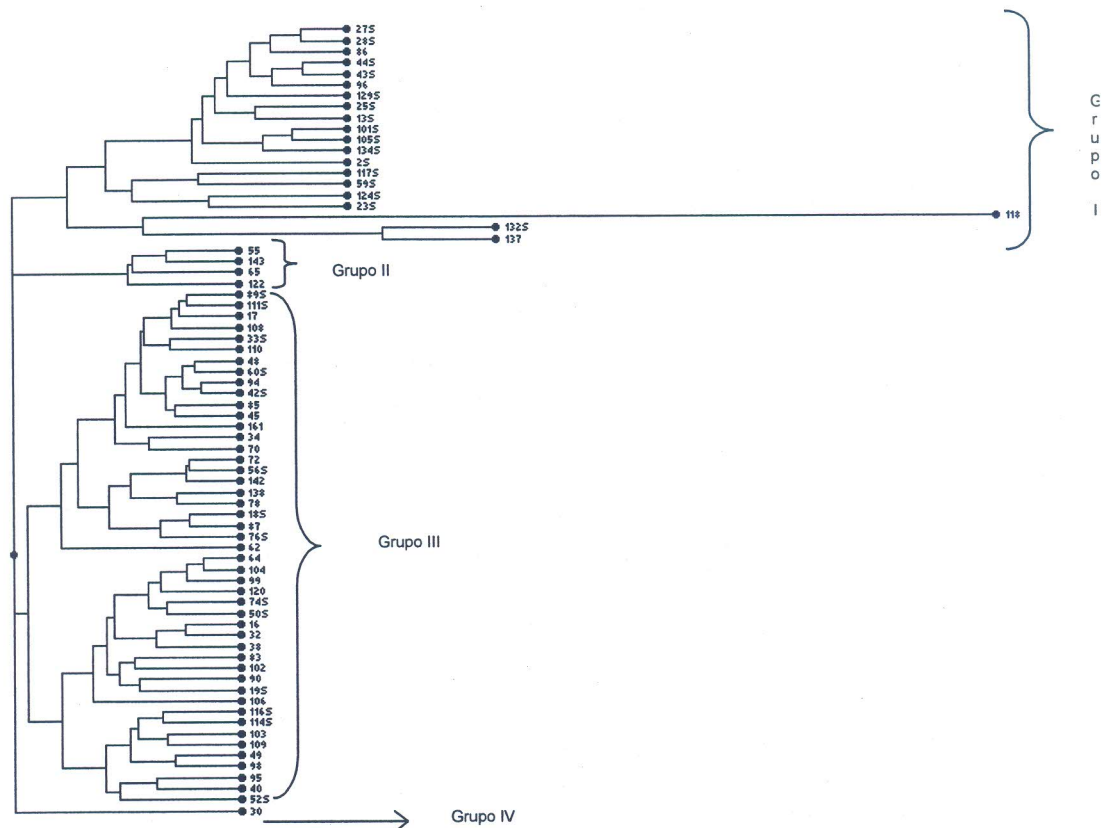


FIGURA 4. Dendrograma obtenido del análisis de 17 caracteres morfológicos de hojas de plantas de guayabo 'Media China' derivadas de semilla, con deficiencia nutricional inducida en hidroponía e invernadero, procedentes de 72 genotipos. Utilizando el coeficiente χ^2 y agrupados por el método UPGMA. La letra S delante del número de accesión denota plantas con síntomas y sin la letra S indica plantas sin síntomas de deficiencia nutricional.

Estos resultados coinciden con la respuesta de las plantas en campo, donde a pesar de que los árboles se someten al mismo manejo, responden de forma diferente, posiblemente por el efecto que ejerce el pH alto en el suelo sobre la baja disponibilidad de nutrimentos como el Fe y Zn, tal como lo señaló Cakmak y Braun (2001) para el caso del Zn, donde las deficiencias de este elemento ocurren en plantas de cultivo que crecen en suelos alcalinos, ya sea por los bajos contenidos de Zn en el suelo o porque aún estando en cantidad suficiente en el mismo no está disponible para la planta. Además, el efecto del ambiente sobre los caracteres morfológicos concuerda con la fluctuación de los rendimientos de guayaba 'Media China' reportados por Mosqueda Vázquez (1981); Nieto Ángel (1996); González

Gaóna *et al.* (1997); Ghosh (1986); Rajput y Chand (1976); Singh y Singh (1984); Singh *et al.* (1982); González Gaóna *et al.* (2002). Esto puede estar asociado con el bajo nivel de domesticación de la planta, la influencia que ejerce el ambiente físico y por la respuesta poligénica de los caracteres morfológicos evaluados. La presencia de un reducido número de grupos formados podría interpretarse como una escasa variabilidad entre los genotipos detectada por los caracteres morfológicos, lo cual coincide con lo reportado por Padilla Ramírez *et al.* (2003) quienes evaluando 12 selecciones de guayabo del tipo 'Media China' encontraron una reducida variabilidad fenotípica, pero contrario a lo observado por Hernández Delgado *et al.* (2003) quienes hallaron una amplia variabilidad fenotípica de la planta de guayabo entre y dentro de las plantaciones estudiadas. También, Perales de la Cruz y Silguero (1995) evaluando diferentes características morfológicas de 17 cultivares provenientes del Estado de Zacatecas, encontraron variabilidad en la forma, color epidermis y contenido de sólidos solubles totales en fruto de guayabo tipo 'Media China'. La reducida variabilidad morfológica encontrada con los agrupamientos, se establece con el análisis de los componentes principales (ACP) (Cuadro 11).

CUADRO 11. Valores de Eigen-valor y varianza acumulada del análisis de componentes principales de 72 individuos obtenidos de caracteres morfológicos de hoja de guayabo 'Media China', derivados de semilla, con deficiencia nutrimental inducida bajo hidroponía e invernadero.

Componente Principal	Eigen-valor	Porcentaje (%)	
		Individual	Acumulada
1	4.26021476	25.0601	25.0601
2	3.27849034	19.2852	44.3453
3	2.43047537	14.2969	58.6422
4	1.99216747	11.7186	70.3609
5	1.46598949	8.6235	78.9843
6	1.05101553	6.1824	85.1668
7	0.87998721	5.1764	90.3432
8	0.63466692	3.7333	94.0765
9	0.40644725	2.3909	96.4674
10	0.29793131	1.7525	98.2199
11	0.16826927	0.9898	99.2097
12	0.08347297	0.4910	99.7008
13	0.02304251	0.1355	99.8363
14	0.01419510	0.0835	99.9198
15	0.00685668	0.0403	99.9601
16	0.00459245	0.0270	99.9871
17	0.00218537	0.0129	100.00

El análisis de β - α , indican que los cuatro primeros componentes principales acumulan más del 70 % de la variabilidad. Las relaciones PFV/ PFR, PFH/ PFR,

PFR/ PFT y PSR/ PSV son las que mayor contribución aportan a la separación de los genotipos en el componente 1; para el componente 2 lo hacen las relaciones PSH/ PFH, PFH/ PSH y PFT/ PST; mientras que en los componentes 3 y 4 el mayor aporte lo dan PFR/ PSR, PSR/ PFR, PFT/ PFH y PFR/ PSR, PSR/ PFR y el número de hojas, respectivamente (Cuadro 12). Estos resultados apoyan la hipótesis planteada por González-Andrés (2001) en el sentido de que son las medidas relativas los caracteres más estables y por tanto, los que más contribuyen a la diferenciación entre accesiones, porque la influencia del ambiente afecta por igual a los caracteres relacionados y su valor permanece casi invariable, lo que puede explicar el reducido número de grupos formados y la escasa variabilidad detectada. Normalmente los caracteres morfológicos son fuertemente influenciados por el ambiente y tienden a ser muy variables, es posible que el uso de medidas relativas o índices haya permitido reducir los efectos del ambiente. Los resultados discordantes con otros anteriores pueden deberse a que no evaluaron las mismas variables que en esta investigación, y solo consideraron medidas absolutas y no las relativas (índices).

CUADRO 12. Valores de Eigen-vector en los primeros cuatro ejes del análisis de componentes principales de 72 individuos obtenidos de 17 caracteres morfológicos de hoja de guayabo 'Media China', con inducción a deficiencia nutricional en hidroponía e invernadero.

Carácter (Relaciones)	Componente Principal			
	1	2	3	4
PAP	0.4865	0.1705	0.1956	0.0877
PSR/PSV	0.8346	-0.2130	-0.1231	0.4225
PFR/PFT	0.8744	-0.0774	0.3115	0.2617
No. BROTES	-0.4628	0.1240	0.0060	0.3673
PFV/PFR	-0.9183	0.0662	-0.2017	-0.1183
PFH/PFR	-0.8847	0.1780	0.1440	0.1251
AF	-0.3175	0.4452	0.5277	0.4414
PFT/PFH	-0.0966	-0.1844	-0.7526	-0.4384
PSR/PFR	0.0601	0.1007	-0.7721	0.5914
PFR/PSR	-0.0074	-0.1311	0.7881	-0.5649
A. TOTAL	-0.1158	0.2233	-0.2548	-0.3804
PST/PFT	0.3151	0.7885	-0.0303	-0.1460
DIÁMETRO	0.2380	0.2687	-0.1920	-0.0602
PFT/PST	-0.3092	-0.7957	0.0592	0.1365
PFH/PSH	-0.1135	-0.8373	0.0694	0.1164
No. HOJAS	-0.5638	0.2983	0.1999	0.5446
PSH/PFH	0.1123	0.8485	-0.0743	-0.1365

Claves: peso de ápices radicales (PAP), peso seco de raíz/peso seco de vástago (PSR/PSV), peso fresco de raíz/peso fresco de tallo (PFR/PFT), número de brotes (No. BROTES), peso fresco de vástago/peso fresco de raíz (PFV/PFR), peso fresco de hoja/peso fresco de raíz (PFH/PFR), área foliar (AF), peso fresco de tallo/peso fresco de hoja (PFT/PFH), peso seco de raíz/peso fresco de raíz (PSR/PFR), peso fresco de raíz/peso seco de raíz (PFR/PSR), altura total (A. TOTAL), peso seco de tallo/peso fresco de tallo (PST/PFT), diámetro de tallo (DIÁMETRO), peso fresco de tallo/peso seco de tallo (PFT/PST), peso fresco de hoja/peso seco de hoja (PFH/PSH), número de hojas (No. Hojas), peso seco de hoja/peso fresco de hoja (PSH/PFH).

Cobarración entre los patrones de marcadores RAPD y los caracteres morfológicos

La cobarración entre la matriz cofenética obtenida de datos morfológicos de 46 accesiones y la matriz de similitud producto de las mismas 46 accesiones mediante marcadores RAPD's, fue no significativa estadísticamente con una $r = 0.05743$ y una probabilidad $P[Z < \text{observado} Z] = 0.6913$. Lo cual coincide parcialmente con lo reportado por Giancola *et al.* (2002) quien al cobarrar marcadores RAPD's y caracteres morfológicos encontró una correlación de 0.117 pero estadísticamente diferente con $P[Z < \text{observado} Z] = 0.002$, concluyendo en que los promedios de similitud genética entre genotipos dependen del sistema de análisis empleado, y la topología de cada árbol (RAPD's y características morfológicas) son únicos o peculiares, con algunas semejanzas evidentes, sin embargo, cuando el análisis se hizo mediante la integración de productos RAPD's o bandas y caracteres morfológicos en una sola matriz y el cálculo de valores se realizó utilizando el coeficiente de χ^2 , no se encontró separación entre genotipos con y sin síntomas, todos ellos están mezclados dentro de los tres grupos formados (Figura 5).

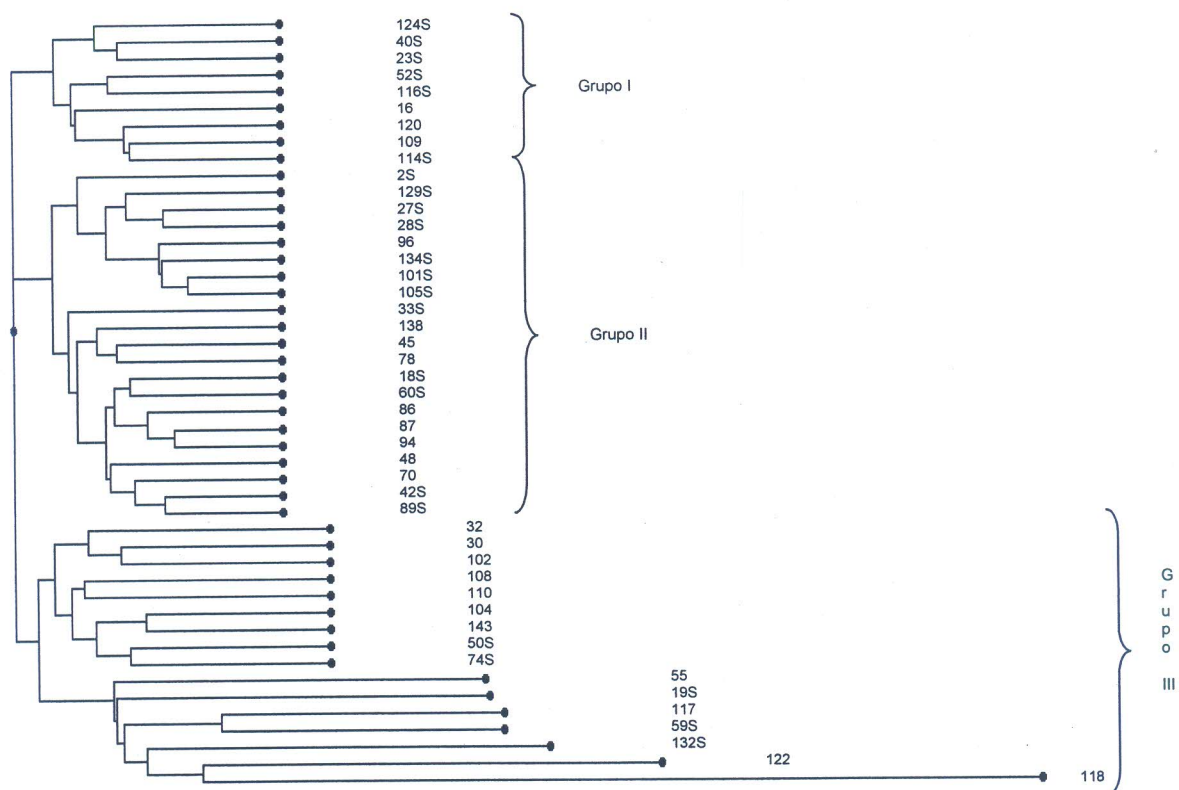


FIGURA 5. Dendrograma construido, utilizando el coeficiente χ^2 a partir de productos RAPD's y caracteres morfológicos conjuntamente procedentes de 46 genotipos de guayabo 'Media China' derivados de semilla, con deficiencia nutricional inducida en hidroponía e invernadero. La letra S delante del número del genotipo indica plantas con síntomas y sin la letra S denota plantas sin síntomas de deficiencia nutricional.

Analizando los caracteres RAPD's, resultó que el promedio de distancia para las bandas es de 8.09 con una varianza de 3.87, mientras que para los caracteres morfológicos el promedio es de 0.15 y la varianza de 0.4. Estos datos confirman la variabilidad detectada a través de los marcadores RAPD's y una reducida variabilidad encontrada con los caracteres morfológicos en los genotipos de guayabo 'Media China' estudiados; indican también que no siempre los cambios o mutaciones ocurridos a nivel del genoma del guayabo se corresponden con cambios a nivel del fenotipo de la planta, es decir, los primeros en su mayoría son selectivamente neutros (Giancola, *et al.*, 2002; Fátima, *et al.*, 2001; Thomas, *et al.*, 2001; Kimura, 1987); además, se puede señalar que aún cuando la correlación entre las matrices de disimilitud obtenidas mediante marcadores RAPD's y caracteres morfológicos fueron no significativas estadísticamente, con un valor cercano a cero, es

recomendable utilizar conjuntamente métodos moleculares y morfológicos en la clasificación del material biológico, ya que en nuestro caso los RAPD's tendieron a detectar más cambios estructurales en el genoma del guayabo, como lo prueba el alto índice de polimorfismo encontrado, ésta característica los sitúa como buenos descriptores de la evolución genética, mientras que el método basado en características morfológicas permite explicar mejor el proceso de selección del material estudiado y presenta la ventaja de una mayor accesibilidad. Al respecto, Giancola *et al.* (2002) encontró una estrecha similitud entre dendrogramas obtenidos con el análisis de marcadores SSR y características morfológicas para el carácter de maduración y origen ancestral de los genotipos de soya evaluados, obteniendo una correlación de 0.80 entre los dendrogramas.

CONCLUSIÓN

El alto grado de variabilidad genética detectado mediante marcadores RAPD's de hoja en plantas provenientes de semilla de guayabo 'Media China' obtenidas de semilla, puede explicar la respuesta heterogénea de este cultivo al manejo y principalmente a la fertilización en los huertos de procedencia. A la vez, esta fuente de variabilidad es un potencial que debe ser utilizado en programas de mejoramiento genético en donde la resistencia a baja fertilidad correlacionada con la presencia de las bandas A20-4, A20-2 y A20-1 deben ser consideradas en la selección de genotipos, al mismo nivel de algunos caracteres morfológicos; debido a que son el hierro y zinc los elementos más restrictivos por el pH alcalino de los suelos donde se ubican las regiones productoras de fruta de guayaba en el país.

LITERATURA CITADA

- BOURKE, O. D. D. 1975. *Psidium guajava* L. Guava. Commonwealth bureau of horticulture and plantation crops. New York, USA. pp. 530-553.
- CAKMAK, J.; BRAUN H, J. 2001. Genotypic variation for zinc efficiency, pp. 183-199. *In: Aplication of physiology in wheat breeding*. REYNOLDS, M. P.; ORTIZ-MONASTERIO, J. I; MENAB A. (eds). Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo. D. F., México. 240 p.
- CHÁVEZ, J. L. 2003. Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica, pp. 72-77. *In: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos*. T. L. Franco y Hidalgo, R. (eds.). Boletín técnico, Número 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Columbia. 89 p.
- DE LA CRUZ, M.; RAMÍREZ, F.; HERNÁNDEZ, H. 1997. DNA isolation and amplification from cacti. *Plant Mol. Biol. Rep* 15: 319-325.
- GIANCOLA, S.; MARCUCCI, P. S.; LCAZE. P.; HOPP, M. E. 2002. Feasibility of integration of molecular markers and morphological descriptors in a real case study of a plant variety protection system for soybean. *Euphytica* 127: 95-113.
- GOHSH, S. N. 1986. Effect of magnesium, zinc and manganese in yield and fruit quality of guajava cv. Lucknow-49. *South Indian Horticulture* 34(5): 327-330.
- GONZÁLEZ GAONA, E.; PADILLA-RAMÍREZ, J. S.; REYES-MURO, L.; PERALES DE LA CRUZ, M. A.; ESQUIVEL-VILLAGRANA, F. 2002. Guayaba: su cultivo en México. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural y Alimentación, INIFAP, Centro de Investigación Regional Norte Centro, Campo Experimental Pabellón; Aguascalientes, México. 182 p.
- GONZÁLEZ GAONA, E.; REYES M., L.; PADILLA R., J., S.; VALADÉZ M., C. C.; EZQUIVEL V., F.; PERALES C., M. A.; GUTIERREZ A., F. 1997. Manejo anual para la producción de guayaba en Calvillo, Ags. Folleto para productores, Número 20. INIFAP-CIRNOC-CEPAB. Pabellón, Aguascalientes, México. 14 p.
- GONZÁLEZ-ANDRÉS, F. 2001. Caracterización morfológica. pp. 199-217. *In: Conservación y caracterización de recursos fitogenéticos*. GONZÁLEZ-ANDRÉS, F.; PITA-VILLAMIL, J. M. (eds.). Ed. Publicaciones I. N. E. A. Valladolid, España. pp. 279.
- HAYES, W. B. 1960. The guava and it's relatives. Fruit growing in India 3^{ra} Edition, Kitabistan, AllaHabad, India. pp. 283-299.

- HERNÁNDEZ DELGADO, S.; MARTÍNEZ DE LARA, J.; PADILLA RAMÍREZ, J. S.; MAYER PÉREZ, N. 2003. Avances en la diversidad genética de *Psidium* sp. en la región Calvillo-Cañones, México. Programa y Resúmenes del Primer Simposio Internacional de la Guayaba. Aguascalientes, México. pp. 71-83.
- HIDALGO, R. 2003. Variabilidad genética y caracterización de especies vegetales, pp. 2-26. *In*: Análisis estadístico de datos de caracterización morfológica de recursos fitogenéticos. Hidalgo, R. (ed.). Boletín técnico, Número 8. Instituto Internacional de Recursos Fitogenéticos (IPGRI), Cali, Colombia. 89 p.
- KIMURA, M. 1987. Teoría neutralista de la evolución. *In*: Genética molecular. Libros de investigación y ciencia. Madrid, España. pp 232-241.
- HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. 1938. The water-culture method for growing plants without soil, California Agric. Ext. Publi. 347, 35-37.
- LAKSHMINARAYANA, S.; MORENO RIVERA, M. A. 1978. Estudio preliminar para determinar la existencia de las variaciones en guayaba mexicana. Revista Chapingo, Nueva Época 10: 37-46.
- LEGARIA SOLANO, J. P. 2003. Caracterización de la diversidad genética de poblaciones naturales de Pitahaya (*Hylocereus undatus* Haworth. Britton and Rose) mediante marcadores RAPD's. Programa y Resúmenes del VI Congreso Nacional Agronómico. Universidad Autónoma Chapingo. pp. 200-204.
- MATA BELTRAN, I.; RODRÍGUEZ MENDOZA, A. 1990. El guayabo, aspectos de su cultivo y producción. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Departamento de Horticultura. Buena Vista, Saltillo, Coahuila. México. 160 p.
- MATA BELTRÁN, I.; RODRÍGUEZ MENDOZA, A. 2000. Cultivo y producción del guayabo. Ed. Trillas, D. F., México. 160 p.
- MOSQUEDA VÁZQUEZ, R. 1981. Logros y aportaciones de la investigación agrícola en el cultivo de frutales tropicales y subtropicales. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Instituto Nacional de Investigación Agrícola. D. F., México. pp. 46-48.
- NIETO ÁNGEL, D. 1996. Fisiología, bioquímica y patógenos en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.). Tesis de Doctor en Ciencias. Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 111 p.
- PADILLA RAMÍREZ, J. S.; GONZÁLEZ GAONA, E.; ESQUIVEL VILLAGRANA, F.; MERCADO SILVA, E.; HERNÁNDEZ DELGADO, S.; MAYER PÉREZ, N. 2002. Caracterización de germoplasma sobresaliente de guayabo de la

- región Calvillo- Cañones, México. Revista Fitotecnia Mexicana 25(4): 393-399.
- PENNINGTON, T. D.; SARUKAN, J. 1968. Manual para la identificación de campo de los principales árboles tropicales en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. D. F., México. 413 p.
- PERALES DE LA CRUZ, MA.; SILGUERO, J. F. 1995. Caracterización de colectas de guayaba, *Psidium guajava* L. de la región Calvillo-Cañones por forma y componentes del fruto. Agricultura Técnica en México 21(2): 195-203.
- POPENOE, W. 1974. Manual of Tropical and subtropical fruits: excluding the banana, coconut, pineapple, citrus fruits, olive and fig. Reimpreton. Ed. Por Hafner Press. New York, USA. 474 p.
- PRAKASH, D. P.; NARAYANASWAMY, P.; SONDUR SURESH, N. 2002. Analysis of molecular diversity in guava using RAPD markers. Journal of Horticultural Science and Biotechnology 77(3): 287-293.
- RAJPUT, C. B. S.; CHAND, S. 1976. Effects of boron and zinc on the physico-chemical composition of guava fruits (*Psidium guajava* L.). Journal of the National Agricultural Society of Ceylan 13: 49-54.
- SINGH, S. P.; SINGH, B. P. 1984. Effect of magnesium and season on physico-chemical attributes of guava (*Psidium guajava* L.) fruits. Haryana Journal of Horticultural Sciences 11(1/2): 33-38.
- SINGH, S. P.; SINGH, B. P.; RAM, M. A. 1982. Effect of magnesium and season on growth, flowering, fruiting and yield of guava (*Psidium guajava* L.) cv. Allahabad safeda. Haryana Journal of Horticultural Sciences 11(3/4): 188-191.
- SNEAT, P. H. A.; SOKAL, R. R. 1973. Numerical taxonomy. Freeman. San Francisco. pp.573.
- SOKAL, R. R.; SNEAT, P. H. A. 1963. Principles of numerical taxonomy. Freeman. San Francisco. 359 pp.
- TONG, F.; MEDINA, D.; ESPARZA, D. 1991. Variabilidad en poblaciones de guayaba (*Psidium guajava* L.) del municipio de Mara del Estado de Zulia. Revista de Agronomía de la Universidad de Zulia 8(1): 15-27.
- WEBER, C. A. 2003. Genetic diversity in black raspberry detected by RAPD markers. HortScience 38(2): 269-272.

CAPITULO III

EVALUACIÓN MORFOLÓGICA DE SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA NUTRIMENTAL EN GUAYABO (*Psidium guajava* L.) 'MEDIA CHINA' SOMETIDO A BAJA CONCENTRACIÓN DE N, P, K, Ca, Mg, S y Fe

¹J. L. Domínguez Álvarez, ¹R. Nieto-Ángel, ¹A. F. Barrientos- Priego, ¹J. P. Legaria-Solano, ¹J. Pérez-Nieto, ²M. W. Borys

¹Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, km 38.5 Carretera México-Texcoco, Chapingo, Estado de México. CP. 56230. MÉXICO.

²Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla.

RESUMEN

Se evaluó el efecto que producen bajas concentraciones, de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro, (14, 5, 60, 40, 24, 15 y 0.25 mg·L⁻¹ respectivamente) en el follaje de guayabo 'Media China' en condiciones de invernadero.

Los síntomas de deficiencia visibles que aparecieron en las hojas de las planta son característicos para cada nutrimento, los de nitrógeno, se caracterizan por presentarse en el segundo o tercer par de hojas de brotes tiernos, los cuales presentan clorosis o coloración rojiza en todo el borde de la hoja, con el tiempo las hojas más viejas se tornan cloróticas y las jóvenes toman tonalidades de verde oscuro o rojizo en todo el limbo. La carencia de fósforo aparece en hojas basales de las ramas, tornándose de color púrpura y en sus bordes aparecen manchas de color café. Los síntomas por deficiencia de potasio aparecen en el segundo y el tercer par de hojas de ramas jóvenes, las cuales se tornan cloróticas en los espacios intervenales, posteriormente aparece una mancha clorótica a lo largo del borde de la hoja que avanza del ápice y bordes hacia la nervadura central, dando la apariencia de una "V" invertida. Los síntomas de deficiencia de calcio se manifiestan en hojas

jóvenes (segundo o tercer par de hojas) como puntitos rojizos en todo el borde de la hoja y que se transforman en manchas de color rojizo que se van secando dando la apariencia que los bordes están aserrados. La deficiencia de nitrógeno aparece en hojas basales como manchas cloróticas a cada lado y a lo largo de la nervadura central o también como manchas cloróticas dispersas en el limbo, dando la apariencia de moteado a la hoja. Concentraciones bajas de azufre se asociaron con clorosis generalizada de las hojas más jóvenes de la rama, son pequeñas con un ligero enrollamiento de los bordes hacia el haz o envés. Una deficiencia de hierro provoca clorosis intervenal en hojas jóvenes y posteriormente aparecen manchas rojizas en todo el limbo de la hoja.

Las eficiencias nutrimentales también afectan la producción de biomasa producida, el tratamiento dos (deficiente en N) presentó un índice de rendimientos significativamente mayor de biomasa radicular y aérea; en tanto los tratamientos cuatro (deficiente de K) y cinco (deficiente en Ca) redujeron de manera significativa el índice de producción de biomasa radicular y aérea.

No se encontró correlación entre las variables morfológicas medidas y los factores de clima del sustrato, ambiente, humedad relativa e intensidad luminosa registrados en el invernadero; pero si hubo asociación positiva entre temperatura del ambiente con la intensidad luminosa y temperatura del sustrato (0.63 y 0.74 respectivamente) y negativa con la humedad relativa. Lo que pudo afectar de forma indirecta la reducción de biomasa en los tratamientos deficientes en potasio y calcio y favorecer la producción de biomasa en el tratamiento dos.

Palabras clave: *Psidium guajava* L., síntomas de deficiencia, macronutrientes, factores ambientales.

INTRODUCCIÓN

Importancia del cultivo del guayabo

La guayaba es una de las frutas tropicales y subtropicales más valiosas, por su excelente sabor y aroma, elevada digestibilidad, rica en vitamina A, B y C, fibra, proteínas y minerales (Fioravanco *et al.*, 1995), también por su importante derrama económica que genera a la economía de los estados de Aguascalientes, Michoacán y Zacatecas donde en el año 2000 se produjo el 93 % de las 20,000 toneladas cosechadas en México (SAGARPA, 2001). Sin embargo los rendimientos por unidad de superficie y la calidad de frutos muestran una gran variación, debido al empirismo de su sistema de cultivo, las plantaciones presentan una enorme heterogeneidad genética (Laksminarayama y Moreno, 1978a), en parte porque los individuos poseen un 30 % de polinización cruzada (Fioravanco *et al.*, 1995) y porque existe un desconocimiento caso total de las mejores fuentes de fertilizantes para los suelos que en su mayoría son de pHs altos donde se cultiva el guayabo y por el efecto que cada elemento mineral tiene sobre la calidad de la fruta; Borys y Alcalde (1987) hicieron patente la falta de estudios en México sobre las concentraciones normales de elementos minerales, sus deficiencias así como los efectos para el cultivo del guayabo. En Brasil se reportan algunas investigaciones sobre las concentraciones normales, síntomas visibles de deficiencias nutrimentales en algunas variedades de guayabo con fines de diagnóstico y corrección (Manica, 2000; Gonzaga y Monteiro, 1994; Natale y Môro, 1997).

Por la importancia que tienen los elementos minerales, sobre los rendimientos y calidad de la fruta de guayaba, es necesario investigar efectos, funciones y síntomas de deficiencia de los minerales en las plantas. Normalmente, los síntomas se hacen patentes cuando la deficiencia nutrimental es aguda y el ritmo de crecimiento y la producción disminuye significativamente, las alteraciones nutrimentales que reducen ligeramente el crecimiento y la producción no presentan síntomas visibles claros. Además, muchas especies vegetales naturales, sobre todo las adaptadas a lugares pobres en nutrimentos, ajustan su crecimiento al nutrimento limitante, y no desarrollan síntomas visibles (Gárete y Bonilla, 2000).

Importancia de la nutrición en plantas

La composición de la materia fresca de las plantas está constituida por aproximadamente 70 % de agua, 27 % de materia orgánica y 3 % de minerales (Mengel y Kirkby, 1979). Al igual que la luz, el CO₂ y el agua, los elementos minerales, juegan un importante papel en el metabolismo, transporte y absorción (Bonilla, 2000) en la planta. Cada uno de los elementos minerales o nutrimentos cumple una función específica en el metabolismo de la planta y la ausencia de alguno no puede ser sustituido por otro (Natale y Môro, 1997; Parker, 2000).

Los elementos minerales en la nutrición

La nutrición se define como el suministro y absorción de los elementos minerales necesarios para el crecimiento y metabolismo de la planta, mientras que el término nutrimento se refiere a la forma química del elemento mineral requerido o disponible por la planta u organismo (Mengel y Kirkby, 1979; Bonilla, 2000). Los nutrimentos esenciales requeridos por las plantas verdes son exclusivamente de naturaleza inorgánica (Mengel y Kirkby, 1979). Arnon y Stout (1939) definen al elemento esencial como el requerido para el metabolismo de la planta y desarrollar el ciclo de vida vegetativo o reproductivo, y cuya función no puede ser sustituido por otro. Además el elemento esta directamente involucrado en la nutrición, por ejemplo, como componente de una molécula esencial de la planta; o deberá ser requerido en una fase metabólica precisa, tal como una reacción enzimática esencial.

Los elementos minerales esenciales pueden clasificarse de dos formas: por la concentración relativa en los tejidos de la planta (Taiz y Zeiger, 2002) y, según el comportamiento bioquímico y función fisiológica de los elementos (Mengel y Kirkby, 1979). Dentro de la primera clasificación los elementos se dividen en macronutrimentos (C, H, O, N, P, S, K, Ca, Mg) y micronutrimentos (Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B, Cl). Atendiendo a la segunda clasificación, los nutrimentos se dividen en cuatro grupos. El primer grupo lo integran C, H, O, N y S, que son los constituyentes mayores de la materia orgánica, y se involucran en procesos enzimáticos, cuya asimilación está dada por reacciones de oxido-reducción. El segundo grupo se forma por P, B y S; nutrimentos importantes en el almacenamiento y en reacciones de

transferencias de energía. En el grupo tres se encuentran K, Na, Mg, Ca, Mn y Cl, son nutrientes que permanecen en forma iónica y permiten mantener el potencial osmótico de la planta. Finalmente en el grupo cuatro se ubican el Fe, Cu, Zn y Mo; nutrientes involucrados en reacciones redox, mediante el transporte de electrones.

Función de los elementos minerales esenciales

Según Mengel y Kirkby (1979) la clasificación de los elementos minerales en macro y micronutrientes es difícil justificarla, desde el punto de vista fisiológico, considerando solo, la concentración presente en los tejidos de la planta, por lo que también se recurre al papel bioquímico y función fisiológica que cada elemento mineral juega en la nutrición, con base en ello y Mengel y Kirkby (1979) clasifican a los elementos minerales en cuatro grupos.

Grupo uno. Nutrientes constituyentes mayores de la materia orgánica

Nitrógeno. El N es el elemento mineral de mayor utilidad en el desarrollo de la planta; las formas iónicas de absorción por la raíz son el Nitrato (NO_3^-) y el Amonio (NH_4^+). En la planta el N participa en la formación de compuestos de elevado peso molecular como las proteínas y ácidos nucleicos, y de forma orgánica, como los aminoácidos, amidas, aminos, nucleótidos, y de coenzimas y hexoaminas, etc.. La concentración en la materia seca varía de 0.06 a 0.32 % (Taíz y Zeiger, 2000)

Azufre. Las formas asimilables del azufre por la planta es como un ión sulfato (SO_4^{2-}), se transporta por el xilema y puede ser absorbido por los estomas de las hojas como dióxido de azufre (SO_2); forma parte de los sulfolípidos y heteropolisacáridos (como sulfato), de aminoácidos como la cisteína, la metionina, la cistina y las proteínas (en forma reducida); de diversas coenzimas como la tiamina, biotina, coenzima A, ácidos orgánicos, pirofosfato, glutatión, adenosin-s'-fosfosulfato y 3-fosfoadenosina. Los niveles de concentración normal fluctúan entre 0.1 y 1 % de materia seca (Bonilla, 2000).

Grupo dos. Nutrimientos importantes en la integridad estructural o almacenamiento de la energía

Fósforo. Disponible para la planta como ión fosfato (H_2PO_4^- y HPO_4^{2-}). En las plantas permanece como fosfato ya sea en forma libre o como compuesto orgánico, como éster fosfórico con grupos hidroxilos formando enlaces anhídridos ricos en energía como ATP o ADP; juega un papel clave en la fotosíntesis, la respiración y todo el metabolismo energético, formando ácidos nucleicos, nucleótidos, coenzimas, fosfolípidos y varios tipos de azúcares fosfatos. Su concentración oscila entre 3 y 150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de la materia seca (Mengel y Kirkby 1979).

Boro. Puede estar disponible como ácido bórico o como borato, por encontrarse en las paredes celulares; se le asocia con la estabilidad de éstas debido a sus enlaces éster que establece con los grupos cis-dioles; se le relaciona con la formación de complejos con manitol, ácido polimanurónico; se le involucra en alargamiento celular, germinación, regulación hormonal y en el metabolismo de ácidos nucleicos. También evita la acumulación excesiva de compuestos fenólicos tanto en la raíz como en los tallos. La concentración normal de boro oscila entre 25-250 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de materia seca.

Grupo tres. Se encuentran los nutrimentos que permanecen en forma de ión.

Potasio. Su absorción se da como ión monovalente K^+ , juega un papel importante en la osmorregulación que tiene lugar en los procesos de apertura y cierre de estomas, participa como un cofactor en más de 50 sistemas enzimáticos, como las óxido reductasas, deshidrogenasas, transferasas, sintetasas y quinasas. Su concentración va de 0.35 a 2.40 % del peso de la materia seca.

Calcio. Se absorbe como ión divalente Ca^{2+} se localiza fuera de la célula en la pared celular; en los pectatos de la lámina media y en las membranas, participa para dar integridad y funcionalidad a las membranas; también participa como un cofactor de algunas enzimas involucradas en la hidrólisis de ATP y de fosfolípidos; actúa un como mensajero secundario en la regulación metabólica. Su concentración normal se encuentra entre, 1 a 2.5 %de la materia seca.

Magnesio. Se absorbe como un ión divalente Mg^{2+} , actúa como un activador de la enzima fosfoenol-piruvato carboxilasa y la glutamato sintasa (Rubisco); participa en

el metabolismo energético de la planta, formando complejos con el ATP y en la biosíntesis de proteínas y como un activador de la RNA polimerasa.

Manganeso. Es absorbido como catión divalente Mn^{2+} , actúa como activador de numerosas enzimas como por ejemplo el complejo manganeso-proteína que transporta los electrones desde el agua al fotosistema II, forma parte de la manganeso-superóxidodisminutasa (Mn-SOD) y en enzimas respiratorias del ciclo de Krebs (carboxilasa, deshidrogenasa, kinasas, oxidasas y peroxidasas) (Mengel y Kirkby 1979)

Grupo cuatro. Elementos minerales involucrados en las reacciones redox.

Hierro. Es absorbido como ión ferroso (Fe^{2+}) o férrico (Fe^{3+}). El 80 % del hierro se acumula en los cloroplastos; forma parte de muchas enzimas redox del tipo hemoproteínas (catalasas, peroxidasas, etc.), forma parte de otras proteínas como las hierro-azufre o las sulfero proteínas que son clave en la fotosíntesis (ferredoxina, nitrito reductasa, sulfito reductasa), en la fijación de N_2 (nitrogenasa) y en la respiración.

Zinc. Es absorbido como un ión divalente (Zn^{2+}), aunque mayormente en forma de quelato. Juega un papel estabilizador en la molécula de clorofila, y participa en la síntesis de ácido indolacético y triptofano, Es necesario para la actividad de la alcohol deshidrogenasa, deshidrogenasa glutámica y la anhidrasa carbónica que aceleran la hidratación reversible del dióxido de carbono a bicarbonato en la fotosíntesis (Taiz y Zeiger, 2000)

Cobre. Es absorbido como ión divalente (Cu^{2+}) o como ión cuproso Cu^+ en suelos con escasez de oxígeno. Participa con diversas proteínas y enzimas como la plastocianina, proteína involucrada en el transporte de electrones y con la enzima citocromo c oxidasa, involucrada en la respiración que cataliza la transferencia de electrones hasta el oxígeno. Se le relaciona con la biosíntesis de lignina y participa en reacciones de síntesis de la ácido ascórbico oxidasa, tirosina, oxidasa monoamina, fenolasa y la plastocianina.

Molibdeno. Forma parte de la enzima nitrato reductasa, responsable de la reducción de nitratos a nitritos; de la nitrogenasa, fundamental en la fijación biológica del

nitrógeno; está involucrada en la degradación de adenina y guanina, y es parte estructural de la enzima que genera el ácido abscísico.

Efecto de los factores ambientales en la nutrición

Algunos factores ambientales como la humedad relativa, temperatura e intensidad luminosa, afectan los procesos fisiológicos en la planta. Por ejemplo, una humedad relativa cercana al 100 %, en invernaderos cerrados, incrementa a niveles letales la temperatura en la planta debido a una reducción de la transpiración, evitando la circulación de agua a través de la planta, lo que provoca hidrólisis de glúcidos y con ello, una pérdida de alrededor del 50 % de la materia seca (Baeyens, 1970). La temperatura del suelo afecta procesos tales como el crecimiento y desarrollo de sistema radical, velocidad de absorción del agua y nutrimentos, producción de materia seca, floración y el rendimiento útil, sin embargo no se puede establecer una correlación confiable entre la temperatura y los rendimientos debido a la influencia de otros factores e interacción entre nutrimentos (Baeyens, 1970). La intensidad luminosa alta, reduce rápidamente los nitratos e incrementa la solubilidad del hierro y una luminosidad baja, reduce la demanda de nitrógeno y magnesio, y se incrementa la demanda de potasio (Wild y Jones, 1992; Parker, 2000; Baeyens, 1970), por lo que la presencia de síntomas de deficiencia en la planta, no solo se deben a la baja concentración de los elementos minerales sino también al efecto de algunos factores ambientales.

La nutrición en guayabo

El guayabo está considerado como una especie que se adapta bien a condiciones de acidez, alcalinidad y bajos contenidos de elementos minerales en el suelo (Odemir *et al.*, 2000; Perales de la Cruz, 2000; Chauhan *et al.*, 1986). Sin embargo, la producción de rendimientos máximos de materia seca exigen un suministro adecuado de nutrimentos; cuando por alguna circunstancia la demanda de elementos minerales no se cubre, la planta acusa una alteración fisiológica y se manifiesta en un crecimiento anormal, comunmente conocido como deficiencia nutrimental (Resh, 1997; Sánchez del Castillo y Escalante Rebolledo, 1988). Los síntomas de deficiencia nutrimental son característicos de cada elemento y en

ocasiones para cada especie de plantas. Por ejemplo, los síntomas de deficiencia de nitrógeno, se caracterizan por una detención en el crecimiento de la parte aérea y un crecimiento abundante de la raíz de la planta, acobardado de la aparición de un tenue amarillamiento de las hojas adultas cercanas a la base del tallo y posteriormente una defoliación prematura de las mismas, debido probablemente a una reducción en la síntesis de proteínas. Las hojas, pecíolos y tallos pueden tornarse de una coloración rojiza o morada, debido a que el exceso de carbohidratos sintetizados pasan a formar antocianinas, en lugar de usarse en el metabolismo del nitrógeno como síntesis de aminoácidos y otros compuestos (Bonilla, 2000; Taiz y Zeiger, 2002; Mengel y Kirkby, 1979; Resh, 1997; Parker, 2000; Baeyens, 1970; Penningsfield y Kurzman, 1975). En guayabo los síntomas de deficiencia de N se manifiestan mediante dormancia de yemas laterales, hojas pequeñas, el ángulo de inserción al tallo se reduce, los pecíolos se acortan, las nervaduras son más pronunciadas, las hojas de plantas jóvenes son más rugosas, lignificadas, coriáceas y aceleran su maduración, aumentando su resistencia al frío y al ataque de hongos; los frutos son pequeños, ácidos y de coloración verde intenso (Gonzaga y Monteiro, 1994; Manica, 2000).

Azufre. Los síntomas de deficiencia de S son similares a los del N, debido a que ambos son constituyentes esenciales de las proteínas. Sin embargo, las clorosis causada por una deficiencia del S aparecen inicialmente tanto en hojas maduras como jóvenes y la clorosis de hojas es uniforme tanto en el limbo como en nervaduras y con manchas de color rojizo, sus hojas se tornan rígidas y quebradizas, la planta reduce su crecimiento, y a nivel celular se presenta una acumulación de asparagina, glutamina, arginina y amidas, ésta última se asocia con bajos niveles de azúcares encontrados en algunas plantas, a consecuencia de la pobre actividad fotosintética de la planta, siendo los cloroplastos los órganos más afectados (Taiz y Zeiger, 2002; Bonilla, 2000; Mengel y Kirkby, 1979; Wild y Jones, 1992; Baeyens, 1970; Parker, 2000; Agrios, 1999; López Ritas y López Melida, 1990; Penningsfield y Kurzman, 1975). En guayabo los síntomas de deficiencia se observan en hojas jóvenes que aparecen cloróticas, estrechas y muestra una reacción denominada epinastia, donde la parte adaxial crece más rápidamente que la abaxial, producto tal

vez de una interacción del elemento y la intensidad luminosa, los ángulos de inserción al tallo son más agudos y se presenta una reducción de la brotación de yemas en los ápices de los brotes (Manica, 2000).

Fósforo. La deficiencia de fósforo es una de las principales causantes del estrés abiótico que afecta el crecimiento de plantas (presentan enanismo) en donde pueden estar involucradas fitohormonas como auxinas y citocininas, una reducción en la síntesis de ARN y proteínas, y la acumulación de moléculas de bajo peso molecular. Las hojas de las plantas deficientes presentan una coloración verde intenso, pueden aparecer deformadas y con manchas de tejido muerto necrosado, en algunas especies pueden aparecer manchas de color morado debido a la síntesis de antocianinas como en el caso de los síntomas de deficiencia de N, con la diferencia de que estas manchas moradas no se asocian con clorosis; las plantas presentan una escasa producción de brotes, retraso en su maduración, muerte de hojas más viejas, y poseen un sistema radical poco desarrollado, con escasa capacidad para acumular ácidos y también reducción de tejido meristemático (Bonilla, 2000; Taiz y Zeiger, 2002; Mengel y Kirkby, 1979; Karthkeyan *et al.*, 2002). En guayabo los síntomas de deficiencia se presentan en los bordes de las hojas maduras donde aparecen pequeñas manchas de coloración escarlata a marrón o rojizo que avanza hacia la nervadura central, también las hojas pueden aparecer de color morado sin manchas, los pecíolos se alargan y las hojas muestran la reacción de una hiponastia, la parte abaxial crece más rápido que la adaxial, se tornan delgadas y de nervaduras poco pronunciadas y suelen caerse prematuramente, iniciando en la parte inferior; los frutos retrasan su maduración o pueden caerse al momento de la formación de semillas (Gonzaga y Monteiro, 1994; Manica, 2000).

Potasio. Los primeros síntomas de deficiencia de potasio se observan en hojas maduras, en las cuales aparece un moteado o manchas cloróticas intervenales que inician en las puntas y márgenes de la hoja y posteriormente avanzan hacia la base de la misma. Una vez que la deficiencia se agudiza, la hoja se arruga y presenta la reacción de una hiponastia, la planta se hace más susceptible al daño por heladas, al ataque de hongos en la raíz y más sensible a condiciones salinas, se debilita la lignificación del haz vascular, además de colapsarse los cloroplastos y mitocondria

(Bonilla, 2000; Taiz y Zeiger, 2002; Mengel y Kirkby, 1979). En los frutos, una deficiencia de K, reduce la cantidad de jugo, sólidos solubles totales, azúcares, acidez y vitamina C (Bhargava y Singh, 1991). Debido a la heterogeneidad celular en las hojas, los tallos y las raíces, dentro y entre plantas, así como por el gran número de los genes que codifican las proteínas involucradas en el transporte de K, la respuesta de la planta a la baja disponibilidad de K es diferente entre plantas y la concentración de K en los diferentes tejidos de una misma planta y entre plantas es también variable (Shabal, 2003; Su *et al.*, 2002; Behboudian y Anderson, 1991).

En guayabo la baja disponibilidad de K se manifiesta en hojas maduras, las cuales presentan numerosas y pequeñas manchas aglomeradas de color marrón-rojizo de forma y contorno diverso, estas manchas inician en la punta y bordes de la hoja y avanzan hacia la nervadura central, posteriormente las manchas se tornan cloróticas y se concentran en la porción media superior del limbo, sobre los espacios venales; dando la apariencia de una “V” invertida, las hojas que van brotando son más estrechas y delgadas que las normales (Gonzaga y Monteiro, 1994; Manica, 2000).

Calcio. Los síntomas de deficiencia de Ca son siempre más evidentes en tejidos jóvenes y zonas meristemáticas de las raíces, los tallos y las hojas, donde la división celular y la formación de pared son más rápidas, los primeros síntomas se observan en las puntas y bordes de las hojas jóvenes, en donde aparece una clorosis y necrosis, seguida de una reacción de hiponastia, dando las hojas una apariencia de gancho y sufrir una defoliación prematura; el sistema radicular se atrofia, se torna de color café oscuro y muy quebradizo, el atrofiamiento puede resultar de que las regiones meristemáticas mueren de forma prematura (Bonilla, 2000; Taiz y Zeiger, 2002; Mengel y Kirkby, 1979; Penningsfield y Kurzman, 1975; Smith, 1966). En los frutos se reduce su calidad por la presencia de añublos, la firmeza y su vida de anaquel y otros desórdenes fisiológicos (Fallahi, 1999; Riley y Kolattukudy, 1976; Raese y Drake, 2000). Una deficiencia o baja disponibilidad de Ca en guayabo, se manifiesta en una detención del crecimiento, las puntas y bordes de las hojas ubicadas en las yemas terminales son de color rojo oscuro o necróticas y toman forma de gancho, secándose finalmente por los vértices y márgenes dando la

apariencia de estar cortadas o serradas en esos puntos, y los tallos jóvenes finalmente mueren (Gonzaga y Monteiro, 1994; Manica, 2000).

Magnesio. Los primeros síntomas de deficiencia de Mg se presentan en forma de manchas amarillas o cloróticas que aparecen en los espacios intervenales de hojas maduras, cuando la deficiencia se agudiza, estas manchas se convierten en puntos necróticos iniciando en las puntas de las hojas, estos síntomas pueden confundirse con amarillamientos provocados por virus, con la diferencia de que en el caso de la deficiencia de Mg, la hoja se torna rígida, quebradiza y las venas secundarias se deforman lo que provoca una defoliación prematura. Los síntomas de deficiencia de Mg pueden variar con la especie, pero generalmente se presentan como una clorosis moteada de la hoja que se distribuye simétricamente sobre el parénquima y entre las nervaduras; por la interrupción de algunas rutas biosintéticas y la reducción del contenido de proteínas la hoja toma el aspecto moteado o bronceado, las raíces se tornan cortas y gelatinosas, se da una reducción de los brotes con muerte regresiva, se reduce la calidad de la fruta, el rendimiento y se presenta alternancia de las cosechas (Bonilla, 2000; Taiz y Zeiger, 2002; Mengel y Kirkby, 1979; Wild y Jones, 1992; Parker, 2000; Baeyens, 1970; Smith, 1966; Fresh, 1997; Penningsfield y Kurzman, 1975).

En guayabo niveles inferiores a 12 ppm se asociaron con la presencia de manchas amarillas, paralelas a la nervadura central que inician en la base del limbo y terminan a poca distancia del ápice de la hoja. Además de esas manchas, aparecen otras de color marrón de forma y contorno variado, la deficiencia de Mg puede afectar el número de hojas, el perímetro y la altura del tallo y la cantidad y la longitud de las raíces (Mata y Rodríguez, 2000; Gonzaga y Monteiro, 1994; Manica, 2000).

Hierro. La deficiencia de Fe se caracteriza por una clorosis intervenal que inicia siempre en las hojas más jóvenes las cuales pueden presentar manchas de color café o rojizo, al igual que el Mg, la carencia de Fe reduce la producción de clorofila en las plantas, debido a que este es requerido para la síntesis del complejo proteína-clorofila en los cloroplastos, reduciendo la formación de tilacoides y el contenido de nitratos y sulfatos. También puede inducir la síntesis de nicotinamida sintasa (NA) lo que conlleva a una secreción máxima de S-adenosil-metionina (SAM), localizada en

las raíces de la planta con síntomas de deficiencia de Fe; además, la deficiencia de Fe se asocia con una menor actividad de la reductasa de hierro (Parker, 2000; Wild y Jones, 1992; Zohlen, 2002; Bonilla, 2000; Miller *et al.*, 1995; Taiz y Zeiger, 2002; Mengel y Kirkby, 1979; Terry y Zayed, 1995; Fairbanks, 2000; Higuchi *et al.*, 1995; Saatci y YA, 2000). En guayabo los síntomas de deficiencia de Fe, son similares a los síntomas observados en otras especies en donde la coloración verde de las nervaduras contrasta con la coloración amarilla o clorótica del limbo de las hojas jóvenes y en algunos casos aparecen manchas de color café oscuro o rojizas, sin embargo cuando la deficiencia se agudiza, tanto nervaduras como el limbo se tornan de una coloración casi blancas, el sistema radical también se ve afectado, haciéndose más corto, grueso y quebradizo, y de una coloración marrón a café oscuro y el número de las raíces secundarias disminuye (Manica, 2000).

Considerando al guayabo y su sensibilidad a la baja concentración de los nutrimentos, así como la poca claridad que existe sobre los síntomas provocados por la deficiencia de algunos macro y micronutrimentos, en la presente investigación se planteó como objetivos: 1) Evaluar el efecto de deficiencias nutrimentales sobre características morfológicas de plantas de guayabo, y 2) Determinar la sintomatología que se presentó luego de inducir deficiencias nutrimentales mediante el suministro de concentraciones bajas algunos elementos minerales durante el desarrollo de la planta de hidroponía e invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

Material vegetal. Se utilizaron 72 plantas de guayabo 'Media China' de dos años de edad provenientes de semilla, cuyos frutos se obtuvieron de tres plantaciones ubicadas en el municipio de Benito Juárez y una más de Zitácuaro, Michoacán, México, localizados a los 19°17' 00" de LN, y 100° 26' 30" de LO; 19° 26' 00", y 100° 22' 00" de latitud norte y de longitud oeste, respectivamente.

Sustrato utilizado. Cuando las plantas alcanzaron una altura de 40 y 50 cm (12 a 14 pares de hojas) se transplantaron a raíz desnuda en macetas de 25 x 25 cm que contenía un sustrato de arena sílica de 20 a 30 mallas (0.086 a 0.129 cm de diámetro).

Condiciones de desarrollo de la planta. Las plantas se desarrollaron al interior de un invernadero provisto de cristal, bajo una cubierta de plástico que las protegía de polvos y agua de lluvia que se filtraba a través de los cristales, las temperaturas registradas al interior del invernadero en el tiempo que duró el experimento, fueron en promedio de 25.22, una máxima de 35.22 y una mínima de 11.87 °C; la humedad relativa promedio fue de 64.24, con una máxima de 88.32 y una mínima de 26.65 %; la intensidad luminosa promedio fue de 244.16, una máxima de 732.00 y una mínima de 28.86 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Radiación Fotosintéticamente Activa, (PAR)), por sus siglas en ingles); mientras que la temperatura media del sustrato fue de 21 °C. Las plantas crecieron en un sustrato de arena sílica en sustitución de suelo (hidroponía) por lo que sus requerimientos nutrimentales se suministraron mediante una solución nutritiva preparada ex profeso.

Solución nutritiva. Se inició con la solución nutritiva propuesta por Hoagland y Arnon (1938), cuyas concentraciones en $\text{mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ fueron de N 210, P 31, K 234, Ca 160, Mg 48, S 64, Fe 2.5, Mn 0.5, B 0.5, Cu 0.02, Zn 0.05 y Mo 0.02, solución suministrada diariamente a la planta, durante cuatro meses, periodo al término del cual, la planta mostró algunos síntomas de deficiencias en las hojas presumiblemente de Fe y Zn. Para corregir esta sintomatología la concentración de Zn se incrementó de 0.05 a 0.85 $\text{mg}\cdot\text{litro}^{-1}$ y se sustituyó al sulfato de hierro y de zinc por un quelato comercial que contenía 6 y 2 % de ambos elementos respectivamente (Fe-EDTHA). De la solución nutritiva se aplicaron 150 ml diariamente por maceta, volumen colocado en dos recipientes (con tres perforaciones de 1 mm de diámetro en el fondo), que se colocaron para este fin en la superficie del sustrato y a cada lado del tallo de la planta.

El volumen de solución nutritiva preparado en cada ocasión fue suficiente para regar las plantas diez días y durante los cuatro días siguientes se drenó el sustrato con agua corriente, cuyos contenidos en Ca y Mg se restaron de la solución nutritiva, los contenidos de otrs elementos contenidos en el agua fueron insignificantes. Las concentraciones y fuentes usadas en la preparación de las soluciones nutritivas por tratamiento, se especifican en el Cuadro 1.

CUADRO 1. Concentración de nutrimentos en la solución nutritiva para los tratamientos aplicados a plantas de guayabo 'Media China' derivadas de semilla durante la inducción de deficiencias nutrimentales en condiciones de hidroponía, utilizando arena sílica y en condiciones de invernadero.

Tratamiento	N	P	K	Ca	Mg	S	Fe	Mn	B	Cu	Zn	Mo
	(mg·litro ⁻¹)											
Testigo (1)	210	31	234	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en N (2)	14	31	234	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en P (3)	210	5	234	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en K (4)	210	31	60	160	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en Ca (5)	210	31	234	40	48	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en Mg (6)	210	31	234	160	24	64	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en S (7)	210	31	234	160	48	15	2.5	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02
Deficiente en Fe (8)	210	31	234	160	48	64	0.25	0.5	0.5	0.02	0.85	0.02

Fuentes de fertilizantes: KNO₃, Ca(NO₃)₂·4H₂O, MgSO₄·7H₂O, H₃PO₄, (NH₄)₂SO₄, K₂SO₄, KH₂PO₄, KOH, CaCl₂, CaO, MgO, KNO₃, NH₄NO₃, Mg(NO₃)₂·6H₂O y Fe-EDHTA (Etilendiamina dihidroxifenil ácido acético), ZnSO₄, CuSO₄, MnSO₄, (NH₄)₆ Mo₇O₂₄·4H₂O, H₃BO₄.

Desarrollo de la planta. La solución nutritiva modificada (Cuadro 1) se empezó a suministrar a la planta el día 17 de diciembre del 2002, observándose los síntomas de deficiencia en las hojas a partir de los 243 días después de inicio del experimento (agosto del 2003).

Diseño de tratamientos y experimental. Los ocho tratamientos (Cuadro 1) se distribuyeron en tres bloques con orientación norte-sur, cada tratamiento se repitió nueve veces (tres por bloque, sumando un total de 72 plantas) y la unidad experimental fue una maceta. El diseño experimental usado fue el de bloques al azar generalizado.

Variables evaluadas. De cada uno de los tres bloques, y ocho tratamientos de que constó el experimento, se eligieron tres plantas por tratamiento, dando un total de 72 plantas, a las cuales se les evaluó 14 caracteres morfológicos (Cuadro 2), a los 243 días después de haber iniciado los tratamientos. Con el peso seco de raíz, tallo y hojas se obtuvo la biomasa radical, biomasa aérea (incluyendo peso seco de follaje más peso seco de tallo) y biomasa total (suma del peso seco de raíz, tallo y follaje). Con los datos de biomasa se calcularon tres índices (Cuadro 3), con objeto de reducir el efecto del ambiente sobre las variables medidas. La toma de datos se hizo

mediante la destrucción completa de las plantas seleccionadas, a las cuales se tomaron fotografías de hojas que mostraban los síntomas de deficiencia característicos de cada nutrimento y se describieron.

CUADRO 2. Caracteres morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China' provenientes de semilla, desarrolladas en invernadero e hidroponía.

CARACTER (unidad)	SIMBOLOGÍA
Diámetro de tallo (cm)	DTALLO
Altura total de planta (cm)	ATP
Desarrollo de planta (cm) (por efecto del tratamiento)	DPT
Número de hojas	NH
Total de brotes	TB
Longitud de brotes (cm)	LB
Número total de nudos por brote	NT
Peso fresco de raíz (g)	PFR
Peso fresco de hojas (g)	PFH
Peso fresco de tallos (g)	PFT
Peso fresco de vástago (g) (suma de hojas y tallos)	PFV
Peso de ápices radicales (g)	PAP
Ápices radicales	NAP
Área foliar (cm ²)	AF

CUADRO 3. Índices de biomasa en plantas de guayabo 'Media China' provenientes de semilla y desarrolladas en invernadero e hidroponía.

ÍNDICES	SIMBOLOGÍA
Biomasa radical/Biomasa aérea	BR/BA
Biomasa radical/Biomasa total	BR/BT
Biomasa aérea/Biomasa total	BA/BT

BR/BA: Peso seco de raíz/Peso seco de hojas; BR/BT: Peso seco de raíz/Peso seco de tallos y hojas;
BA/BT: Peso seco de hojas/Peso seco de tallos y hojas

Potencial hídrico. Una vez que se hicieron visibles los síntomas de deficiencia nutrimental, se suspendió el riego con la solución nutritiva; se escogieron al azar 24

plantas (tres por tratamiento), de las hojas de cada una de las plantas, con ayuda de una perforadora de papel, se extrajeron pequeñas porciones circulares de 1 cm de diámetro aproximadamente, éstos se colocaron en psicrómetros, con los cuales conectados a un microvoltímetro, se tomaron lecturas del potencial hídrico. Transcurridos 48 días de haberse tomado éstas lecturas, las plantas se sometieron a estrés hídrico, y después que aparecieron los síntomas de marchites, nuevamente fueron seleccionadas al azar otras 24 plantas, con las que se repitió el proceso y obtener así datos del potencial hídrico.

Color de las hojas. A doce hojas de las 72 plantas evaluadas se les estimó el color mediante un colorímetro digital Hunter Lab, que proporciona valores de los parámetros “L”, “a” y “b” con dichos valores se calculó croma y hue (McGuire, 1992); los resultados se expresaron en términos de porcentaje de luminosidad (L, 0 %=negro y 100 %=blanco), índice de saturación (croma) y ángulo de tono hue en grados (0°=rojo, 90°=amarillo, 180°=verde, 270°=azúl y 360°=púrpura).

Análisis estadístico. Se realizó el análisis de varianza conjunto para los doce caracteres morfológicos, después de un análisis de correlación entre todos los caracteres medidos, habiéndose eliminado todos aquellos caracteres con un nivel de asociación mayor o igual al 80 % e incorporándose otros como índice de redondez (IREDSP), área foliar (Área), perímetro (PER), ancho y largo de hojas (ANLAR) que fueron estimados con ayuda del programa Image Tool. El análisis de varianza se realizó mediante el programa SAS v8, la prueba de medias para evaluar el efecto de las deficiencias de cada nutrimento contra el testigo se hizo mediante la prueba de Tukey a una probabilidad de 0.05, tanto para evaluar los caracteres morfológicos, el potencial hídrico y la determinación del color en las hojas, para estimar el índice de saturación del color (C) y el tono (Hue) se utilizó la metodología propuesta por McGuire (1992). Por último se llevó a cabo una correlación simple entre los doce caracteres morfológicos y los datos promedio de temperaturas del sustrato y del medio ambiente, de la humedad relativa e intensidad luminosa buscando algún nivel de asociación entre las variables de respuesta producto de las deficiencias de los elementos minerales y los factores ambientales medidos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Efecto de las bajas concentraciones de elementos minerales sobre algunos caracteres morfológicos

En el Cuadro 4 se observa que el efecto del tratamiento dos, deficiente en nitrógeno, mostró los valores más altos en peso de ápices, lo que puede estar relacionado con un mayor crecimiento de raíz, esto concuerda con lo observado por Bonilla (2000); Taiz y Zeiger (2002) y Mengel y Kikby (1979), también valores superiores en área foliar, lo que aparentemente contradice los resultados observados por Bonilla (2000); Gonzaga y Monteiro (1994) y Manica (2000) relacionados con una detención del crecimiento ante diferencias de nitrógeno, sin embargo Baeyens (1970) señaló que un incremento en la temperatura favorece un desarrollo foliar, sin afectar el contenido de nitrógeno, por lo que seguramente el mayor desarrollo el mayor desarrollo foliar de las plantas del tratamiento dos puede estar más asociado con las altas temperaturas registradas en el invernadero, pero también mostró los valores más bajos en altura total de la planta, lo que confirma la detención del crecimiento, y el menor número de brotes concuerda con la dominancia de yemas laterales reportada por Manica (2000). El efecto del tratamiento tres, deficiente en fósforo pareció asociarse con los valores más elevados de diámetro de tallo, debido tal vez, a que la mayoría de los glúcidos los destina para la formación de partes aéreas, tal como lo señaló Baeyens (1970) y Wild y Jones (1992), en el sentido de que la raíz reduce su crecimiento y pierde la capacidad de acumular ácidos, este efecto se muestra en el Cuadro 4 donde el tratamiento deficiente en fósforo tiene el segundo valor más bajo en peso de ápices. El tratamiento deficiente en potasio mostró el valor más bajo en peso de ápices y uno de los más altos en número de brotes, el primer efecto confirma el detenimiento del desarrollo radicular, y el segundo refuerza la teoría de un mayor crecimiento de la parte aérea, observado también por Baeyens (1970) y Penningsfeld y Kurzman (1975). Por su lado el tratamiento cinco deficiente en calcio presentó los valores promedio más bajos de área foliar, perímetro y diámetro de tallo, lo que presume un efecto directo en la reducción del crecimiento de la parte aérea de la planta, esto puede estar asociado con el papel plasmolizante del citoplasma que reportó Baeyens (1970), provocado por la carencia de calcio y una

alta intensidad luminosa, reflejándose en una menor transpiración y absorción de agua por las raíces de la planta, sin embargo, el haber registrado el valor más elevado del número total de brotes parece contradecir la anterior afirmación, una posible explicación a esta aparente contradicción, es lo que señalan Bonilla (2000) y Taiz y Zeiger (2002) en el sentido de que los síntomas iniciales de una deficiencia de Ca son más evidentes en tejidos jóvenes y zonas meristemáticas de las raíces, los tallos y las hojas, lo que en la práctica se traduce en la pérdida de la dominancia apical, y la promoción de brotes laterales. La presencia de valores bajos en el perímetro, un índice alto entre ancho/largo de la hoja, y valores elevados en número de brotes y peso de ápices mostraron que el efecto del tratamiento seis deficiente en magnesio, se asoció con la presencia de hojas más angostas, largas y un regular crecimiento aéreo y del sistema radical, estos resultados coinciden solo parcialmente con lo reportado por Mata y Rodríguez (2000) en el sentido de que bajos niveles de magnesio afectan: número de hojas, perímetro, altura de tallo, cantidad y longitud de raíces. En el efecto del tratamiento siete, deficiente en azufre, se observaron valores bajos de área foliar, peso total de ápices y número de brotes, esto puede interpretarse como una reducción en el crecimiento de la planta, con predominancia de hojas pequeñas y escasas, y considerando, el valor bajo en el índice ancho/largo, se puede agregar que la detención del crecimiento aéreo está acobardado de una detención del crecimiento del sistema radical por su lado Baeyens (1970) y Parker (2000) coinciden en que una deficiencia de Mg trae consigo un achaparramiento y debilidad de las plantas; mientras que Penningsfeld y Kurzman (1975) y Gonzaga y Monteiro (1994) reportaron, que las hojas son estrechas y extremadamente leñosas. El efecto de la deficiencia de hierro (tratamiento ocho) se reflejó en valores altos de diámetro de tallo, altura de planta y peso total de ápices, de lo que se puede inferir un desarrollo de la parte aérea y del sistema radicular normales, tal vez porque las deficiencias se encontraban en su fase inicial, sin afectar aún procesos vitales de la planta, tal como lo señalaron Gárete y Bonilla (2000), en el sentido que los síntomas se hacen patentes cuando la deficiencia nutrimental es aguda y el ritmo de crecimiento y la producción disminuyen significativamente. Además, muchas especies vegetales, sobre todo las adaptadas a

lugares pobres en nutrientes, ajustan su crecimiento al nutriente limitante, algo de esto puede estar pasando con el guayabo debido a la rusticidad de la planta.

CUADRO 4. Efecto de la solución nutritiva completa y deficiente sobre algunos caracteres morfológicos evaluados en plantas de guayabo ‘Media China’, derivadas de semillas.

Tratamiento	AF (mm ²)	PER (mm)	DT (cm)	AT (cm)	PTA (g)	NB
Testigo (1)	2,579 a ^z	224.79a	1.7 0a	180.66a	1.42a	14.33a
Def. en N (2)	2,718.8 a	224.96a	1.70 a	160.14a	2.25a	10.44a
Def. en P (3)	2617.8a	218.43a	1.98a	185.90a	1.32a	14.00a
Def. en K (4)	2552.6a	218.75a	1.79a	166.52a	0.87a	14.88a
Def. en Ca (5)	2291.8a	207.25a	1.74a	184.40a	1.82a	15.55a
Def. en Mg (6)	2589.6a	216.60a	1.78a	171.36a	2.16a	14.88a
Def. En S (7)	2487.3a	218.38a	1.88a	181.72a	1.14a	11.00a
Def. en Fe (8)	2524.3a	218.43a	1.95a	189.58a	1.92a	13.77a
DMS	2005.4	28.69	0.39	39.97	1.88	8.29
CV	26.52	8.79	14.36	15.07	77.89	40.80

AF: Área foliar estimada con Image Tool; PER: Perímetro de hojas; DT: Diámetro total de tallos; AT: Altura total de plantas; PTA: Peso total de ápices; NB: Número de brotes.

^z Medias con la misma letra en el sentido de columnas son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

De los valores presentados en el Cuadro 5 se puede inferir que el suministro deficiente de elementos minerales a la planta de guayabo afectó directamente la cantidad de biomasa seca producida. El efecto del tratamiento (deficiente en N) sobre la variable índice de biomasa seca (BR/BA), no presentó diferencia significativa al testigo, estos datos pueden interpretarse como que hubo una mayor producción de biomasa tanto aérea como radical, sin embargo el valor elevado del índice sugiere que se presentó un mayor crecimiento de la raíz en relación con la parte aérea, resultado que concuerda con lo señalado por Bonilla (2000); Taiz y Zeiger (2002) y Mengel y Kirkby (1979) en el sentido de que una deficiencia de nitrógeno induce un retraso en el crecimiento de la parte aérea y un crecimiento abundante de la raíz de la planta, efecto que también se refleja en el índice BR/BT cuyo valor fue superior al

mostrado por el testigo. Ambos índices son significativamente superiores a los índices observados en los tratamientos deficientes en potasio y calcio. El índice BA/BT fue el más afectado por la deficiencia de N, y fue significativamente inferior al efecto de los tratamientos cuatro y cinco, también, el valor más bajo del índice, confirma un mayor desarrollo del sistema radical, un efecto similar reportaron Gonzaga y Monteiro (1994) y Manica (2000), cuando la concentración de N es deficiente.

El efecto que produjeron las deficiencias de K y Ca correspondientes a los tratamientos 4 y 5 respectivamente, sobre los índices BR/BA y BR/BT de biomasa seca producida, reflejan un desarrollo menor de la raíz respecto a la parte aérea, (efecto contrario al que produjo la deficiencia de N), en cambio el efecto producido por los tratamientos 4 y 5 sobre el índice BA/BT fue significativamente superior al efecto que produjo el tratamiento 2, y los valores más altos que los del testigo reflejan una mejor tendencia en la producción de biomasa seca, pero además confirman que el desarrollo del sistema radical se detiene, reduciendo su volumen ante las deficiencias de K y Ca, lo que coincide con Penningsfield y Kurzmann (1975); Taiz y Zeiger (2002); Mengel y Kirkby (1979) quienes reportaron, que ante la deficiencia de K las plantas reducen su potencial osmótico, y se marchitan debido a que sus raíces se hacen largas y finas debido posiblemente a una falta de lignificación celular y al colapso de mitocondrias lo que conduce a una reducción en la síntesis de proteína, mientras que las carencias de Ca provocan que el sistema radical se haga más corto, gelatinoso y de color pardo oscuro lo que conduce a su muerte a partir de su ápice, debido posiblemente a una reducción en la síntesis de los pectatos de la lámina media que se dan en las zonas meristemáticas, lo que reduce la división celular de las raíces y finalmente provocan su muerte y por lo tanto se presenta una disminución de la producción de materia seca por la raíz. Con relación al área, perímetro, diámetro, altura total, peso de ápices radicales, número de brotes y los índices largo-ancho y redondez (Cuadro 5), no se encontraron diferencias significativas entre los efectos producido por los tratamientos y el testigo. Varios pueden ser los factores que explican la falta de diferencias significativas: a) una amplia variabilidad genética existente entre los genotipos evaluados, detectada

mediante un alto índice de polimorfismo (0.744), un promedio de distancia entre bandas de 8.09 y una varianza de 3.87; obtenidos a través de la utilización de marcadores RAPD (datos reportados en el capítulo II de esta tesis), b) un elevado coeficiente de variabilidad, obtenido en cada uno de los análisis de varianza de los caracteres, son un elemento más que confirma la variabilidad genética de los individuos de guayabo, c) posiblemente esa heterogeneidad entre plantas, trajo como consecuencia una desuniformidad en la presencia de síntomas, mientras que unos genotipos mostraron síntomas agudos de las deficiencias nutrimentales, en otros apenas iniciaban y en algunos más aún no eran visibles tales síntomas, de tal forma que al momento de obtener las medias de los datos producto de los caracteres morfológicos, los efectos de las deficiencias no se reflejaron.

CUADRO 5. Efecto de la solución nutritiva completa y deficiente sobre la producción de biomasa e índices morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China' derivados de semillas.

Tratamiento	BR/BA	BR/BT g	BA/BT g	IRSP	AN/LAR
Testigo (1)	0.35ab ^z	0.26ab	0.73ab	0.46a	0.63a
Def. en N (2)	0.54a	0.34a	0.65b	0.43a	0.64a
Def. en P (3)	0.39ab	0.27ab	0.72ab	0.44a	0.65a
Def. en K (4)	0.30b	0.22b	0.77a	0.42a	0.62a
Def. en Ca (5)	0.30b	0.22b	0.77a	0.44a	0.63a
Def. en Mg (6)	0.42ab	0.29ab	0.70ab	0.45a	0.65a
Def. En S (7)	0.38ab	0.27ab	0.72ab	0.42a	0.62a
Def. en Fe (8)	0.34ab	0.25ab	0.74ab	0.43a	0.63a
DMS	0.201	0.09	0.09	0.05	0.08
CV	35.10	23.32	8.63	6.52	12.71

BR/BA: Índice de biomasa radical/ biomasa aérea; BR/BT: Índice de biomasa radical/ biomasa total; BA/BT: Índice de biomasa aérea/ biomasa total; IRSP: Índice de redondez de las hojas sin peciolo; AN/LAR: Índices de ancho/largo de las hojas

^z Medias con la misma letra en el sentido de columnas son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

Además no se encontró interacción entre tratamiento y bloques, esto significa que todos los tratamientos siguieron la misma tendencia dentro de los bloques, es decir que todos los tratamientos produjeron un efecto similar sobre los caracteres morfológicos evaluados, en los tres bloques (Cuadro 6 y 7).

CUADRO 6. Interacción entre tratamientos y bloques, por efecto de las deficiencias de elementos minerales sobre algunos caracteres morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China', derivadas de semillas.

Bloque	AF (mm ²)	PER (mm)	DT (cm)	AT (cm)	PTA (g)	NB
I	2625.5a ^z	220.26a	1.742a	185.96a	1.72a	13.37a
II	2580.0a	219.01a	1.78a	169.59a	1.28a	13.04a
III	2429.9a	216.08a	1.99a	177.04a	1.83a	14.41a

AF: Área foliar estimada con Image Tool; PER: Perímetro de hojas; DT: Diámetro total de tallos; AT: Altura total de plantas; PTA: Peso total de ápices; NB: Número de brotes.

^z Medias con la misma letra en el sentido de columnas son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

CUADRO 7. Interacción entre tratamiento y bloques, por efecto de las deficiencias de elementos minerales sobre la producción de biomasa e índices morfológicos evaluados en plantas de guayabo 'Media China' derivados de semillas dentro de los tres bloques.

Tratamiento	BR/BA g	BR/BT g	BA/BT g	IRSP	AN/LAR cm
I	0.40 a ^z	0.28 a	0.71a	0.45a	0.64a
II	0.35a	0.25a	0.74a	0.44a	0.63a
III	0.38a	0.27a	0.72a	0.42a	0.62a

BR/BA: Índice de biomasa radical/ biomasa aérea; BR/BT: Índice de biomasa radical/ biomasa total; BA/BT: Índice de biomasa aérea/ biomasa total; IRSP: Índice de redondez de las hojas sin pecíolo; AN/LAR: Índices de ancho/largo de las hojas

^z Medias con la misma letra en el sentido de columnas son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

Los coeficientes de correlación (Cuadro 8) mostraron una asociación positiva significativa ($P \leq 0.05$) entre los índices BR/BA con BR/BT y BA/BT, la misma asociación ocurre entre el perímetro (PER) y ancho-largo (ANLAR) de hoja, e índice de redondez sin pecíolo (IREDSP). Sin embargo, no se observó correlación

significativa entre las variables morfológicas obtenidas de la medición de la planta con las temperaturas ambiental (TEM), la temperatura del sustrato (TEMSUS), la humedad relativa (H. R) ni con la intensidad luminosa (INTLUM).

En cambio, se observó correlación positiva significativa entre la temperatura del ambiente, la intensidad luminosa y temperatura del sustrato, mientras que con la humedad relativa se dio una asociación negativa significativa (Cuadro 9). Esto concuerda con lo señalado por Baeyens (1970), en el sentido de que aún conociendo que las temperaturas afectan procesos donde están involucrados los elementos minerales, su relación es tan complicado, (debido a la interacción de otros factores ambientales), que las correlaciones establecidas entre la temperatura y los rendimientos solo pueden considerarse como aproximaciones gruesas.

CUADRO 8. Coeficientes de correlación entre variables morfológicas de plantas de guayabo 'Media China' y factores ambientales registrados en invernadero.

+Variable	BR/BA	BR/BT	BA/BT	ANLAR	AREA	PER	I.RESP	DIAM	A.PARCT	PEAP	AF	NBR	TEM	H.R	INTLUM	TEMSUS
BR/BA	1.00	0.98**	-0.98**	0.13 ^{ns}	0.33**	0.27*	0.10 ^{ns}	0.10 ^{ns}	-0.13 ^{ns}	0.33**	-0.23*	-0.28**	0.07 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.04 ^{ns}	0.13 ^{ns}
BR/BT		1.00	-1.00**	0.07 ^{ns}	0.34**	0.30**	0.05 ^{ns}	0.10 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	0.36**	-0.21 ^{ns}	-0.29*	0.05 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	0.05 ^{ns}	0.11 ^{ns}
BA/BT			1.00	-0.07 ^{ns}	-0.34**	-0.30**	-0.05 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.15 ^{ns}	-0.36**	0.21 ^{ns}	0.29*	-0.05 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.05 ^{ns}	-0.11 ^{ns}
ANLAR				1.00	0.35**	0.01 ^{ns}	0.89**	-0.29*	0.14 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	-0.24*	-0.05 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	0.07 ^{ns}	0.05 ^{ns}
AREA					1.00	0.88**	0.28*	0.06 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.19 ^{ns}	-0.46**	0.10 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.14 ^{ns}
PER						1.00	-0.14 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.12 ^{ns}	0.15 ^{ns}	-0.07 ^{ns}	-0.46**	0.13 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	0.14 ^{ns}	0.13 ^{ns}
I.RESP							1.00	-0.24*	0.12 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	-0.22 ^{ns}	-0.03 ^{ns}	-0.10 ^{ns}	0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	0.04 ^{ns}
DIAM								1.00	0.09 ^{ns}	0.33**	0.06 ^{ns}	-0.00 ^{ns}	-0.08 ^{ns}	0.07 ^{ns}	-0.15 ^{ns}	-0.16 ^{ns}
A.PARCT									1.00	-0.10 ^{ns}	0.10 ^{ns}	-0.20*	-0.15 ^{ns}	0.10 ^{ns}	0.02 ^{ns}	-0.08 ^{ns}
PEAP										1.00	0.08 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	0.00 ^{ns}	-0.09 ^{ns}	-0.11 ^{ns}	0.04 ^{ns}
AF											1.00	0.30*	-0.16 ^{ns}	0.09 ^{ns}	-0.16 ^{ns}	-0.21 ^{ns}
NBR												1.00	-0.02 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	-0.01 ^{ns}	-0.11 ^{ns}
TEM													1.00	-0.77**	0.64**	0.75**
H.R														1.00	-0.49**	-0.48**
INTLUM															1.00	0.40**
TEMSUS																1.00

BR/BA: Índice de biomasa radical/ biomasa aérea; BR/BT: Índice de biomasa radical/ biomasa total; BA/BT: Índice de biomasa aérea/ biomasa total; IREDSP: Índice de redondez de hoja sin pecíolo; ÁREA: Área de hojas estimada con Image tool; PER: Perímetro de hoja; ANLAR: Ancho y largo de hojas; DIA: Diámetro de tallo; ALT: Altura total de plantas; AF: Área foliar obtenida con determinador; NBR: Número de brotes; TEM: Temperatura del ambiente; H.R.: Humedad relativa; INTLUM: Intensidad luminosa; TEMSUS: Temperatura del sustrato.

^{ns}, *, **;= No significativo y Significativo a una $P \leq 0.05$ y 0.01 .

La presencia de temperaturas promedio máximas de 35.8 °C registradas en el invernadero (Cuadro 9) pueden ser otra causa (además de las deficiencias de nutrimentos) que provocaron la reducción en la producción de biomasa radical en

todos los tratamientos (excepto el 2, deficiente en N), pero en mayor medida en los tratamientos 4 y 5 (deficientes en K y Ca), ya que como lo mencionó Baeyens (1970) el Ca y el K son los elementos minerales más afectados por las temperaturas, mientras que en el tratamiento deficiente en N, posiblemente ocurrió lo que señalaron Baeyens (1970); Wild y Jones (1992) en el sentido de que las altas temperaturas favorecen un mayor desarrollo foliar y por lo tanto mayor acumulación de biomasa seca, sin afectar el contenido de N.

CUADRO 9. Variables micro ambientales registradas en el invernadero (medias, máximas y mínimas), donde se llevó a cabo la inducción de deficiencias nutrimentales en plantas de guayabo 'Media China' derivadas de semilla.

Mes	Máximas			Mínimas			Medias	
	HR (%)	Int. lum. ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}$)	Tem °C	HR %	Int. Lum. ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{seg}^{-1}$)	Tem. °C	Tem. °C	Sustrato Tem. °C
Febrero	48		36.88	21.00		9.85	20.60	20.51
Marzo	85.12	732	38.09	24.09	33.09	11.41	20.74	22.48
Abril	84.82	734.98	38.66	23.89	8.71	11.69	30.86	21.39
Mayo	96.70	735.00	35.93	27.95	23.03	13.16	39.32	22.41
Junio	98.82	735.00	29.66	29.1	34.50	13.12	32.20	21.98
Julio	97.28	728.48	36.21	26.59	25.74	11.40	32.03	19.94
Agosto	95.82	732.134	34.32	28.73	31.13	12.68	33.48	19.31
Septiembre	94.61	726.37	31.45	31.51	48.00	11.56	32.96	19.81
Octubre	92.75	732.00	35.80	27.02	26.64	12.04	32.84	20.80
Promedio	88.32	732.11	35.22	26.65	28.86	11.87	30.55	21.00

La baja intensidad luminosa mínima promedio ($28.86 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) registrada pudo estar asociada con una reducida demanda de Mg por la planta, lo que posiblemente provocó una importante defoliación durante el periodo invernal (datos no reportados), un efecto similar lo reportaron Baeyens (1970) y Wild y Jones (1992) en donde una baja intensidad luminosa disminuyó la demanda de la planta por Mg, ocasionando caída prematura de hojas. Sin embargo, por el antagonismo del Mg con el K, y ante la baja intensidad luminosa, la planta debió de haber incrementado la demanda de este último elemento y reflejarse en una mayor producción de biomasa seca en el

tratamiento deficiente en K, pero no ocurrió así, sino al contrario, el tratamiento cuatro mostró el peor efecto e cuanto al índice de producción de biomasa seca (radical y aérea). Tal reducción puede explicarse por la caída en la intensidad luminosa, ésta casi siempre estuvo acobardada de una alta humedad relativa promedio (88.32 %) al interior del invernadero, dando como resultado una débil evapotranspiración de las hojas y a la vez un incremento exagerado en la temperatura de la planta. La ocurrencia de altas temperaturas en la planta, como lo señalaron Baeyens (1970); Wild y Jones (1992) influyen fuertemente sobre la respiración y producción de CO_2 , e inducen una hidrólisis de glúcidos y con ello pérdidas de hasta un 50 % en la producción de materia seca. Considerando que el potasio en condiciones normales estimula el desarrollo radical, resulta lógico que en concentraciones deficientes lo deprima.

Efecto de las deficiencias nutrimentales en la presión hídrica

A los 243 días de iniciados los tratamientos, se determinó el potencial hídrico en hojas de guayabo, no se observaron diferencias significativas entre los efectos producidos por los tratamientos deficientes en nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro (N, P, K, Ca, Mg, S y Fe respectivamente), y el testigo. Sin embargo, los valores de potencial hídrico más elevados mostrados por los tratamientos deficientes en potasio(-K) y calcio(-Ca) (-2.85, -2.44 bar respectivamente) (Figura 1) pueden indicar que éstos elementos tienen un efecto directo en la turgencia de las células y su carencia acelera el proceso de deshidratación de las células, un efecto similar reportaron Taiz y Zeiger (2002); Mengel y Kirkby (1979) y Sánchez-Díaz y Aguirolea (2000), quienes encontraron que ante la deficiencia de K y Ca las plantas reducen su potencial osmótico y tiende a originar elevadas presiones negativas a nivel de la pared. El potencial hídrico de las células marchitas se hace aún más negativo, ya que representa la suma del potencial osmótico y del potencial de presión (ambos negativos). Los valores de los tratamientos deficientes en fósforo, magnesio y hierro (-1.85, -1.93 y -1.91 bar respectivamente) siguieron una tendencia similar al testigo (-1.91 bar).

En cambio, los valores de los tratamientos deficientes en nitrógeno y fósforo (-1.35 y -1.41 bar respectivamente), tienen un efecto mínimo sobre el potencial hídrico, debido posiblemente a que ocurre lo que señala Taiz y Zeiger (2002); Mengel y Kirkby (1979); Bonilla (2000), que ambos elementos pasan rápidamente a formar parte estructural de la célula, como constituyentes esenciales de varios compuestos proteicos.

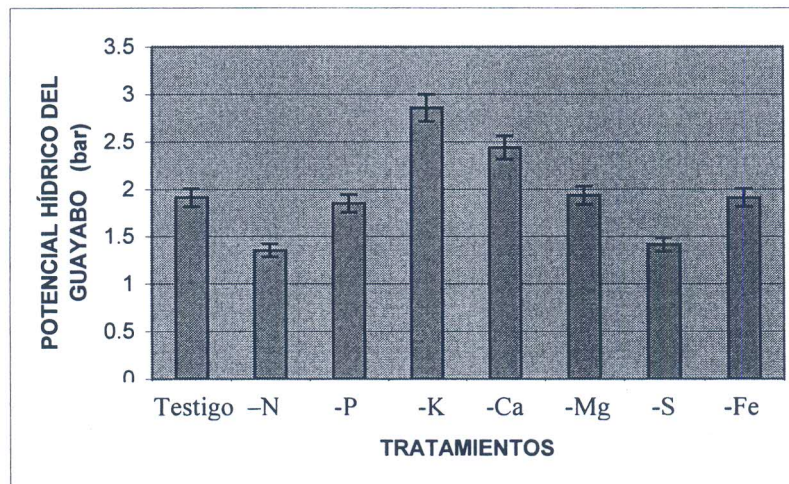


Figura 1. Efecto de los tratamientos con deficiencia nutrimental sobre la presión hídrica en hojas de guayabo 'Media China'.

Respuesta del guayabo sometido a estrés hídrico y nutrimental

Después de 291 días de iniciados los tratamientos y de 3 días de permanecer las plantas sin riego se evaluó el potencial hídrico de las hojas. El efecto mostrado por los tratamientos no fue significativamente diferente al efecto del testigo. Sin embargo, los valores mostraron tendencias diferentes (Figura 2). El tratamiento cuatro (deficiente en K) presentó el valor absoluto más elevado del potencial hídrico (-3.05 bar) debido posiblemente a un proceso de deshidratación más acelerado y a una reducción de la actividad fotosintética, tal y como lo señalaron Bhargava y Singh (1991) y Behboudian y Anderson quienes observaron que una baja disponibilidad de K afecta aspectos fisiológicos en la planta, como contenido de jugo, sólidos solubles totales, azúcares, vitamina C y provoca una reducción en la actividad fotosintética y en el potencial osmótico pero sin dañar la apertura estomatal, por lo que los signos

de marchites mostrados fueron agudos. Las hojas de los tratamiento dos y siete fueron las que mostraron los valores absolutos más bajos (-1.62 y -1.63 bar respectivamente) aún no mostraban signos de marchites, ya que ésta se presenta a partir de 1.5 bar, siendo los valores más próximos a cero los que indican una mayor hidratación de las células.

Los valores intermedios de potencial hídrico que mostraron los tratamientos -Fe, -P, -Mg y -Ca (-2.09, -2.30, -2.34 y -2.70 bar respectivamente), fueron similares a los del testigo (-2.05 bar) y mostraron signos iniciales de marchites.

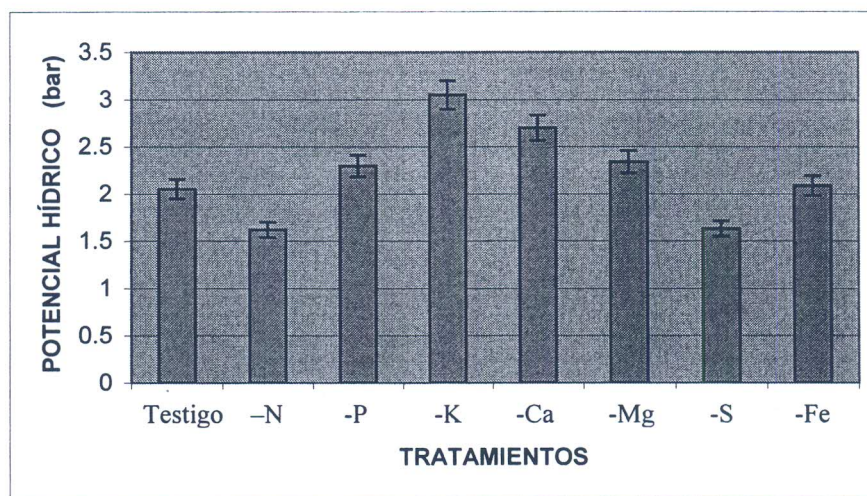


Figura 2. Efecto de los tratamientos con deficiencias nutrimentales y estrés hídrico sobre el potencial hídrico en plantas de guayabo 'Media China'.

Efecto de los tratamientos sobre el color de las hojas

Usualmente el color se define tomando como referencia el ángulo de tono (hue), por lo que en nuestro caso, se hizo a partir de la última columna del Cuadro 10, señalada con la letra h, cuyos datos provienen del análisis de varianza y la cobarración de medias de Tukey, donde se define una coloración verdoso-amarilla (Voss, 1992), para las hojas de todos los tratamientos, sin encontrar diferencias significativas entre ellos; no obstante, para los tratamientos deficientes en hierro y calcio esa coloración verdoso-amarilla fue significativamente más luminosa o brillante y con un índice de saturación mayor que la observada en el testigo. Estos resultados confirman lo expresado por López y López (1990), en el sentido que una deficiencia de Fe

provoca coloraciones de amarillo pálido y en ocasiones llegan a ser blancas las hojas; mientras que para el calcio Wild y Jones (1992) señalan que la deficiencia de éste elemento induce la aparición de márgenes cloróticos en hojas jóvenes y finalmente aparecen zonas cloróticas en el parénquima foliar. Los tratamientos deficientes en nitrógeno y azufre aunque también mostraron una coloración verdoso-amarilla, su tonalidad fue menos brillante que la de los tratamientos de Fe y Ca y no difirió estadísticamente de la coloración que presentó el testigo, tal vez porque en el caso del nitrógeno, la coloración amarilla de las hojas evaluadas se concentró en los bordes, en tanto que en azufre su coloración amarilla se presentó sólo en hojas jóvenes y la medición también incluyó hojas maduras. En el caso de los tratamientos deficientes en fósforo, potasio y magnesio su coloración verdoso-amarilla no fue diferente significativamente a la coloración del testigo.

Cuadro 10. Efecto de solución nutritiva completa y deficiente sobre la luminosidad, índice de saturación y ángulo de tono de hojas de guayabo 'Media China'.

Tratamiento	L	a	b	C	H
Testigo (1)	34.15 ^z b ^y	-7.08 a	16.62 b	18.08 b	113.20 a
Def. en N (2)	37.08 a b	-7.35 a	19.07 b a	20.53 b a	110.66 a
Def. en P (3)	36.33 a b	-7.08 a	17.64 b a	19.02 b a	111.96 a
Def. en K (4)	36.23 a b	-7.51 a	18.72 b a	20.18 b a	112.07 a
Def. en Ca (5)	37.83 a	-8.49 a	21.57 a	23.20 a	111.80 a
Def. en Mg (6)	34.79 b a	-7.43 a	17.88 b a	19.38 b a	112.58 a
Def. en S (7)	37.15 b a	-8.15 a	20.46 b a	22.04 b a	111.86 a
Def. en Fe (8)	38.19 a	-7.86 a	21.87 a	23.25 a	109.96 a

^zMedias de 12 hojas por tratamiento usando un colorímetro "Hunter-Lab"

L: Luminosidad, [±]a: rojo/verde, [±]b: amarillo/azul, C: índice de saturación o croma, h: ángulo de tono (0°: rojo, 90°: amarillo, 180°: verde, 170°: azul y 360°: púrpura).

^yMedias con la misma letra, son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una P≤0.05

Efecto de bloques sobre el color de las hojas

En el análisis de varianza y la cobarración de medias de Tukey (Cuadro 11), las hojas de las plantas ubicadas en el bloque tres presentaron una coloración verdoso-amarilla de un ángulo inferior a la mostrada en los bloques uno y dos, este resultado tal vez sea producto del efecto de un mayor sombreado entre plantas, debido a que fue en este bloque tres, donde se colocaron las plantas de mayor altura, sin embargo, el índice de saturación y luminosidad o brillantes fue superior en el tratamiento tres,

debido posiblemente, a que las plantas estuvieron expuestas a un mayor tiempo a los rayos solares y por lo tanto a una mayor iluminación, sobre todo durante la tarde, ya que este bloque se ubicó en la parte poniente del invernadero.

Cuadro 11. Efecto de bloques sobre la luminosidad, índice de saturación y ángulo de tono en hojas de guayabo 'Media China'.

Bloques	L	a	b	C	H
1	36.07 ^z b ^y	-7.67 a	18.07 b	19.65 b	113.08 a
2	35.02 b	-7.45 a	18.52 b	19.98 b	112.10 a
3	38.32 a	-7.73 a	21.10 a	22.51 a	110.10 b

^zMedias de 12 hojas por tratamiento usando un colorímetro "Hunter-Lab"

L: luminosidad, [±]a: rojo/verde, [±]b: amarillo/azul, C: índice de saturación o croma, h: ángulo de tono (0°: rojo, 90°: amarillo, 180°: verde, 170°: azul y 360°: púrpura).

^yMedias con la misma letra, son iguales de acuerdo a la prueba de Tukey a una $P \leq 0.05$

Síntomas de deficiencia visuales en el follaje

El uso de sustratos e hidroponía en el cultivo del guayabo, permitieron inducir síntomas de deficiencia mediante la utilización de concentraciones inferiores de elementos minerales a las propuestas por Hoagland y Arnon (1938) para el desarrollo normal de la mayoría de las plantas. Las anomalías (deficiencias) visibles fueron características para guayabo y afectaron principalmente hojas y algunos brotes. Aunque solamente los tratamientos deficientes en N, K y Ca afectaron significativamente la producción de biomasa seca, a continuación se describen los síntomas visibles de deficiencias de los elementos minerales estudiados.

Solución completa (testigo). Se presentaron algunos síntomas de deficiencia nutrimental presumiblemente de nitrógeno y azufre (Figura 3), lo que sugiere que la solución nutritiva de Hoagland y Arnon (1938) no satisfizo las necesidades del guayabo en ambos nutrimentos o posiblemente los factores ambientales como las temperaturas altas incrementaron la concentración de azufre en la parte aérea de la planta como lo observado por Baeyens (1970), la presencia de una alta intensidad luminosa ($732.11 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) que indujo una reducción rápida de los nitratos, según lo reportado por Parker (2000).

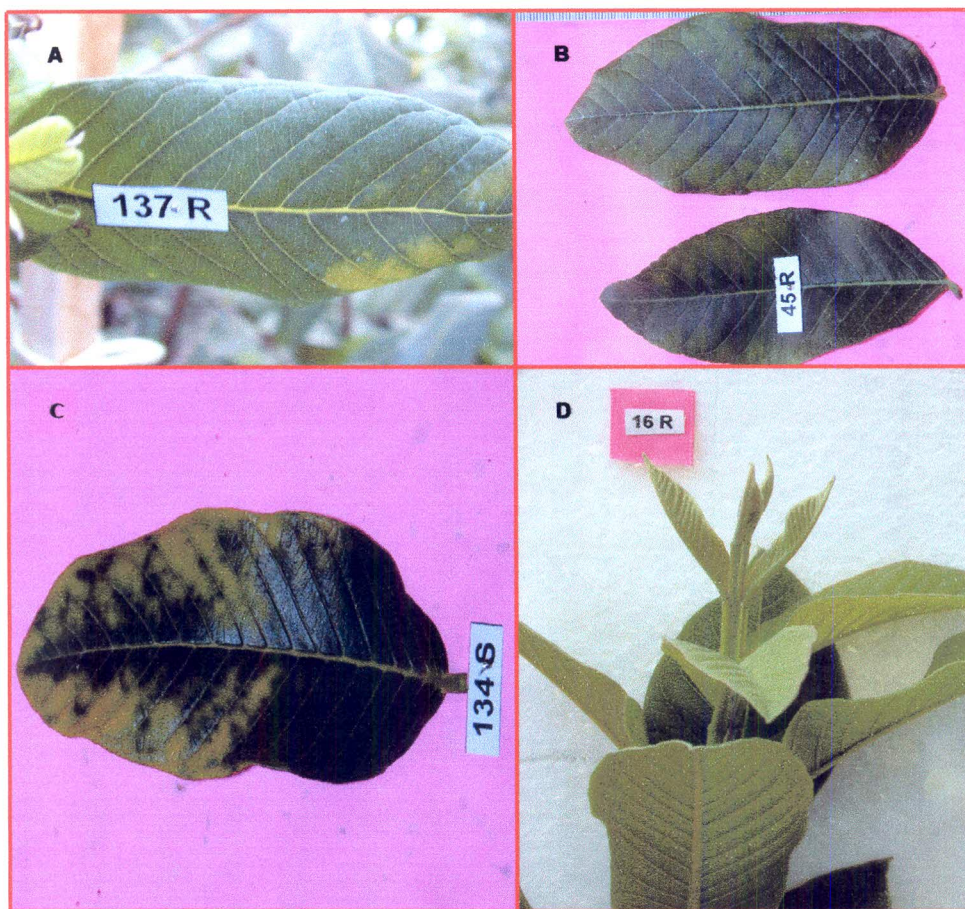


Figura 3. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' regadas con la solución nutritiva completa de Hoagland y Arnon (1938) (testigo); A, después de 227 días de iniciado el tratamiento, en los bordes de hojas maduras del genotipo 137R, aparecieron manchas cloróticas típicas de carencia de N; B, a los 24 días, las manchas cloróticas se unieron y se distribuyeron en la parte superior del limbo, como se observa en el genotipo 45R; C, después de 288 días, los bordes de las hojas del genotipo 134S se tornaron amarillos, lo que pudo asociarse con una deficiencia de N; D, a los 245 días, las hojas jóvenes situadas en los brotes del año, mostraron una clorosis presumiblemente por carencia de S.

Nota. Los números seguidos de letras que aparecen en las fotografías, fueron claves para identificar a los genotipos del primer artículo.

Nitrógeno. En la planta se observó una detención del crecimiento, mientras que en el segundo o tercer par de hojas maduras (contadas a partir del ápice de la rama) apareció pérdida del color verde (clorosis) en todo el borde, iniciándose en la parte terminal de la hoja. Esta clorosis cubrió de 2 a 4 mm del limbo y avanzó de los bordes hacia la vena central, en ambos lados de la hoja; permaneciendo verde la nervadura central y una pequeña porción a cada lado de ésta. En las hojas jóvenes aparecieron tonalidades rojizas en todo el limbo, mientras que en los bordes de las hojas jóvenes y maduras se observaron tonalidades moradas y el limbo de las hojas viejas se tornó clorótico por completo (Figura 4). Estos síntomas concuerdan con los descritos por Gonzaga y Monteiro (1994) y Manica (2000); en tanto que la apariencia, lignificada y coriacea de la hoja a la que hacen referencia Baeyens (1970) y Penningsfeld y Kurzman (1975) sólo se observó en el genotipo 22 S ubicado muy cerca de la pared del invernadero expuesto más directamente a los rayos solares de la tarde, lo que tal vez elevó la temperatura e incrementó la intensidad luminosa en las hojas. Tanto la temperatura como la intensidad luminosa, según Baeyens (1970), Parker (2000) y Wild y Jones (1992), afectan procesos tales como la velocidad de absorción de agua y aumenta la demanda de N, lo que pudo haber colapsado células en las hojas del genotipo mencionado.

Fósforo. Los primeros síntomas típicos de deficiencia de P aparecieron en las hojas maduras de ramas inferiores de la planta, donde el limbo tomó una coloración violeta. Posteriormente, aparecieron puntos de color marrón o rojizo a lo largo del borde, y al juntarse dichos puntos formaron manchas de color café, las cuales avanzaron hacia la vena central, hasta cubrir toda la hoja, para después dar paso a un proceso de secamiento, que inició en los bordes y avanzó paulatinamente hacia la vena central de las hojas (Figura 5). Este último síntoma al igual que la coloración violeta de la hoja difirió de los síntomas reportados por Gonzaga y Monteiro (1994), ya que los primeros no los reportan y los segundos refirieron su aparición en hojas jóvenes, mientras que el acortamiento de entrenudos y caída prematura de hojas observados por Baeyens (1970); Penningsfeld y Kurzman (1975); Wild y Jones (1992); Resh (1997) y López y López (1990), solo ocurrió en los genotipos 51 S y 55 R.

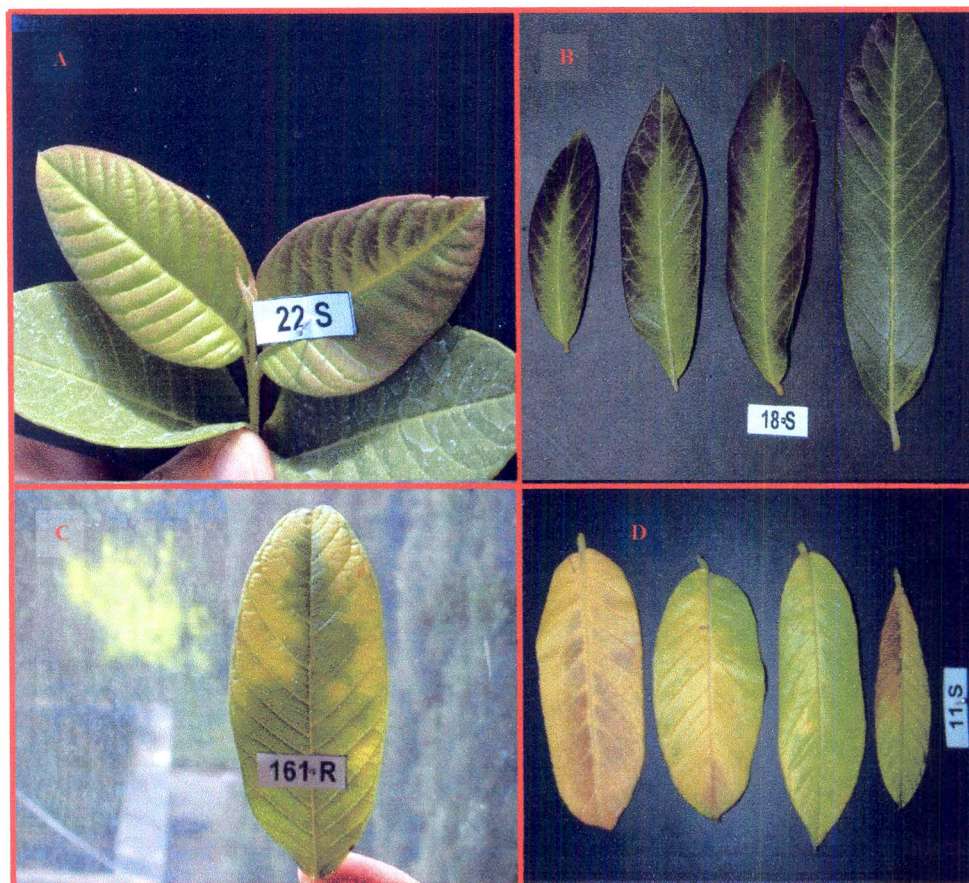


Figura 4. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de nitrógeno; A, después de 163 días de iniciado el riego de las plantas con la solución nutritiva deficiente en N, el primer par de hojas situado en brotes del año del genotipo 22S, presentaron una coloración rojiza en los espacios venales; B, a los 240 días, las hojas maduras del genotipo 18S presentaron en sus bordes una coloración de violeta a rojiza; C, una vez transcurridos 285 días, en la parte superior de las hojas maduras del genotipo 161R se observó un amarillamiento casi total, quedando de color verde solo pequeñas porciones a cada lado de la nervadura central; D, el amarillamiento de las hojas es total y solo en algunos casos permanece la coloración rojiza, en este estado se inició la caída de hojas.

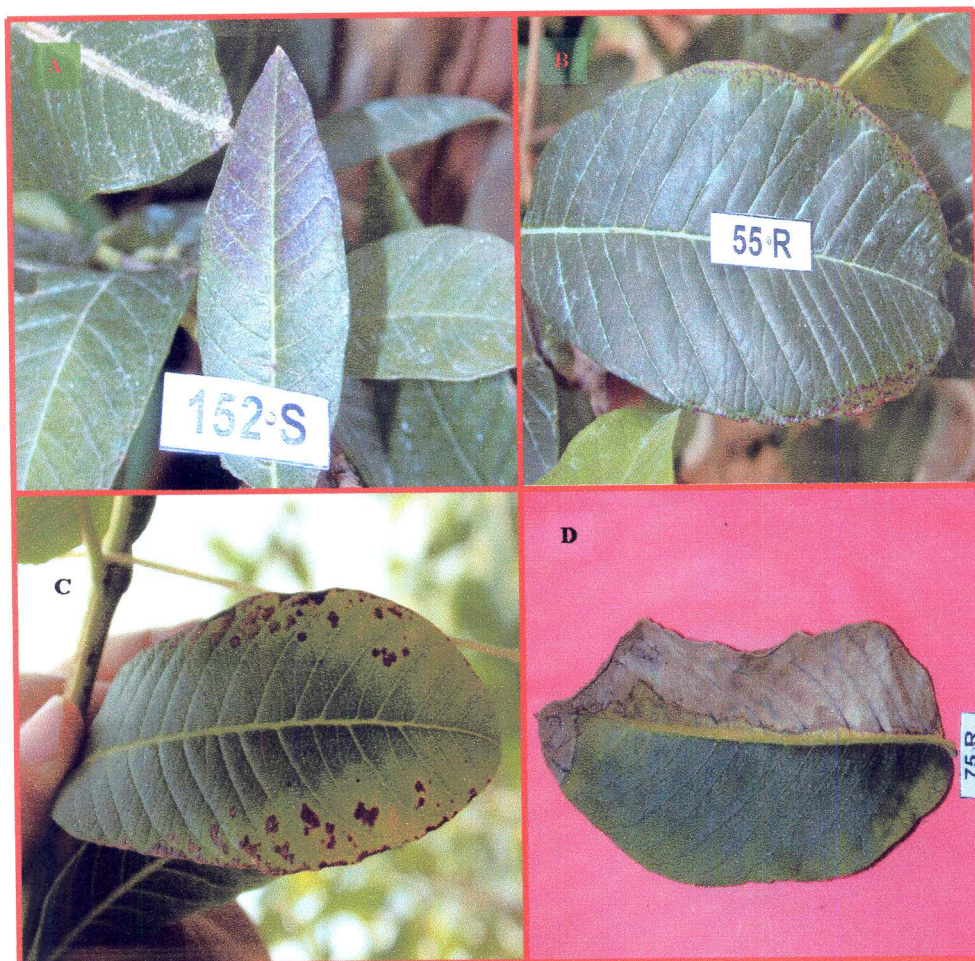


Figura 5. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de fósforo; A, una vez transcurridos 163 días de estar regando con la solución nutritiva deficiente en P, en algunas hojas maduras del genotipo 152S se observó una coloración violeta ubicada en la parte superior del limbo; B, después de 223 días, en los bordes de las hojas del genotipo 55R se observaron pequeños puntos de color rojizo; C, días más tarde los puntos del genotipo 55R parecieron unirse y dieron paso a manchas de color rojizo sobre una superficie clorótica de la hoja; D, a los 285 días, las hojas del genotipo 75R empezaron a secarse por los bordes y ápice.

Potasio. Los síntomas típicos de deficiencia aparecieron en el tercer y cuarto par de hojas situadas en brotes del año, éstas hojas mostraron pérdida de color verde en los espacios intervenales y una forma angosta y más alargada que las hojas normales. Más tarde aparecieron puntos cloróticos a lo largo de los bordes y ápices de las hojas, que al juntarse, formaron un área clorótica que avanzó hacia la vena central; estos síntomas se diferencian de con los síntomas que provoca la deficiencia de N, porque se presentaron en las hojas de edad intermedia y no afectaron a las venas, que permanecen de color verde (Figura 6). Estos síntomas coinciden con los observados por Gonzaga y Monteiro (1994); Resh (1997); Bonilla (2000); Taiz y Zeiger (2002); Mengel y Kirkby (1979); Manica (2000); López y López (1990).

Calcio. La carencia de este elemento provocó síntomas típicos visibles en el segundo y tercer par de hojas de brotes del año, las cuales mostraron puntos rojizos en todo el borde, que al unirse formaron manchas de color rojizo iniciando un proceso de secado de bordes y ápices, dando la apariencia de una hoja cortada o serrada, así como una clara reacción de una hiponastia; también se observó muerte regresiva de brotes del año (Figura 7). Esta sintomatología coincide totalmente con lo observado por Gonzaga y Monteiro (1994) y Manica (2000).

Magnesio. Su deficiencia se asoció con la aparición de manchas cloróticas en cada lado y a lo largo de la vena central de las hojas maduras situadas en ramas inferiores de la planta. Las manchas cloróticas avanzaron de la base hacia el ápice de las mismas, posteriormente aparecieron manchas cloróticas dispersas situadas en los espacios venales del limbo de las hojas mas jóvenes, dándole una apariencia moteada (Figura 8), lo que coincide parcialmente con lo observado por Manica *et al.* (2000), quienes además indicaron la aparición de manchas color marrón. Lo anterior es contrario a lo reportado por Wild y Jones (1992); Parker (2000) y Baeyens (1970) quienes encontraron muerte regresiva de ramas y bronceado de hojas como síntomas de deficiencia de Mg, mismos que no fueron observados en la presente investigación.

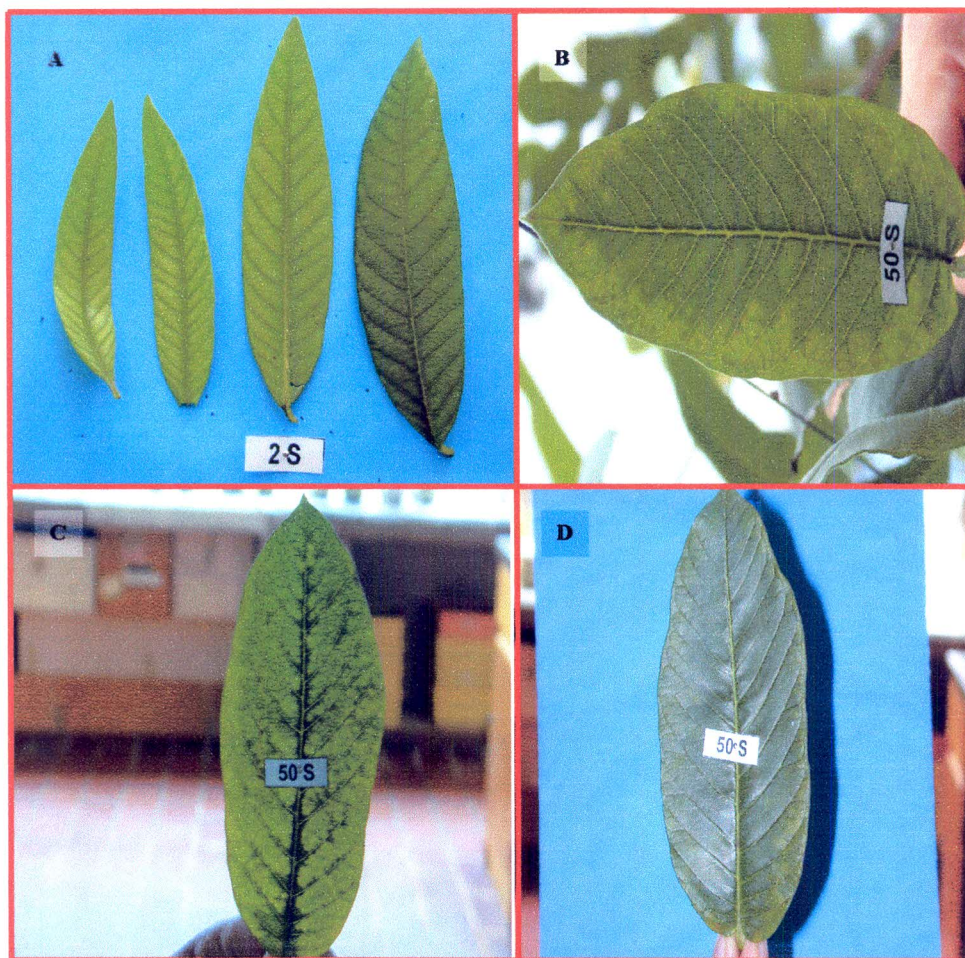


Figura 6. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de potasio; A, transcurridos días de iniciado el riego con solución nutritiva deficiente en K, las hojas jóvenes del genotipo 2S se observaron cloróticas en sus bordes y presentaron una forma más estrecha y alargada que las normales; B, a los 191 días, en las hojas maduras del genotipo 50S surgieron una serie de manchas cloróticas venales que avanzaron desde los bordes hacia la vena central, C, después de 252 días, la clorosis se acentuó, notándose un cierto abultamiento de las venas en las hojas del genotipo 50S; D, la clorosis de bordes aparece en hojas más viejas.

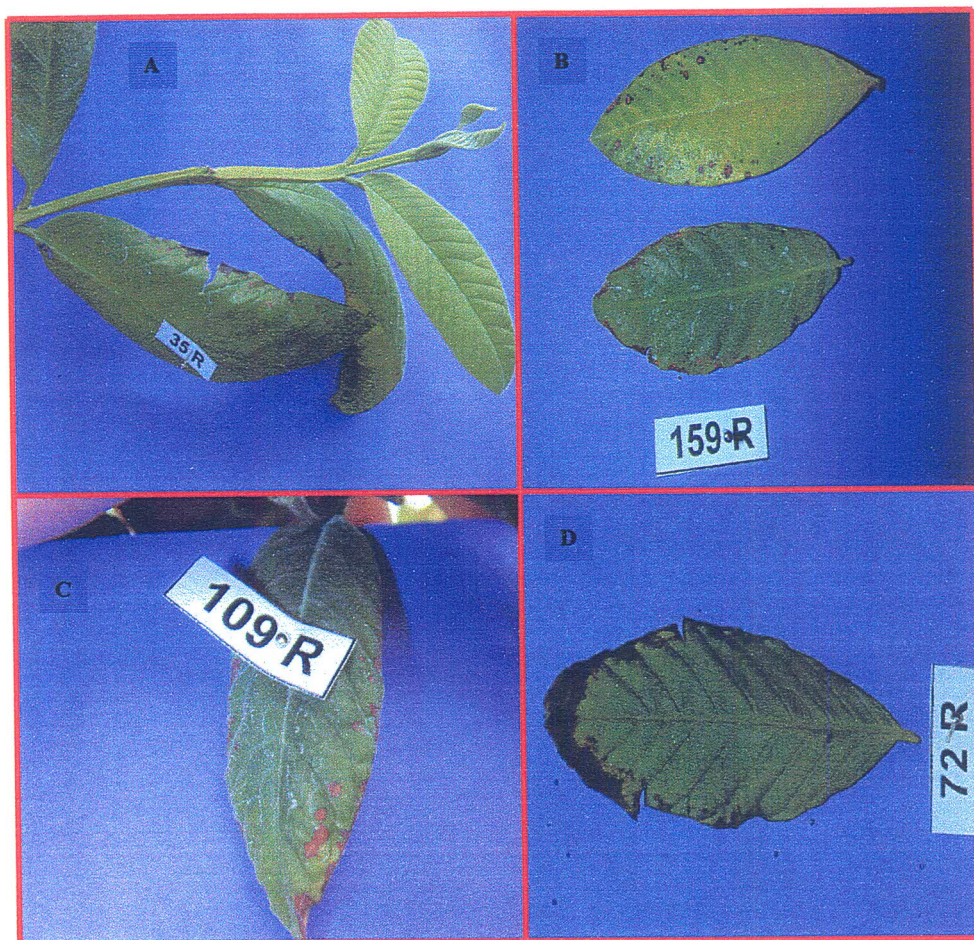


Figura 7. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de calcio; A, transcurridos 221 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en calcio, las hojas más jóvenes del genotipo 35R aparecieron cloróticas, mientras que en el segundo y tercer par de hojas situadas en brotes del año se observaron manchas de color café a lo largo de los bordes, las hojas presentaron una reacción de una hiponastia; B, a los 221 días, en las hojas maduras del genotipo 159R se registraron manchas de color café a rojizo las cuales se observaron en los bordes de la parte apical de las mismas; C, a los 236 días, las hojas del genotipo 109R presentaron manchas de color café rojizo, de mayor tamaño y de forma irregular; además empezaron a perder su color verde; D, a los 274 días, los bordes y ápices de las hojas del genotipo 72R empezaron a necrosarse, dando la apariencia de estar aserrados.

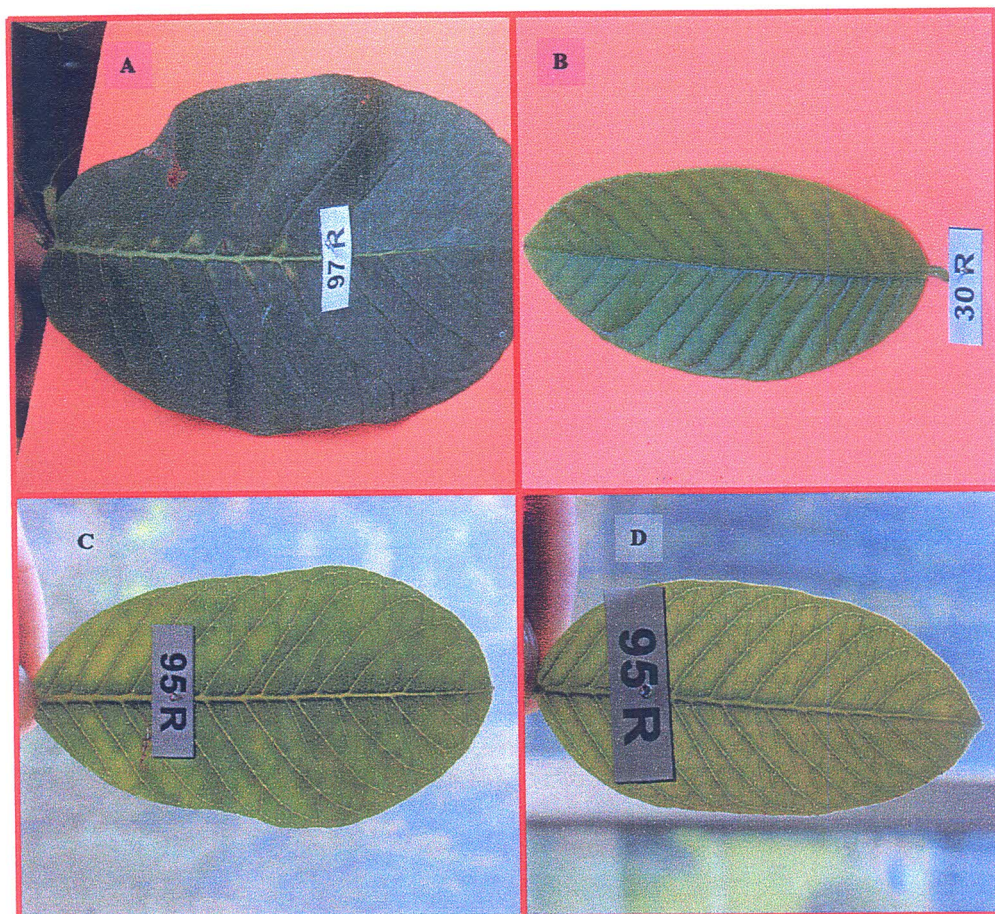


Figura 8. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de magnesio; A, una vez transcurridos 162 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en Mg, las hojas maduras del genotipo 97R presentaron manchas cloróticas en ambos lados de la nervadura central; B, a los 274 días, las manchas cloróticas se observaron también en hojas jóvenes del genotipo 30R, distribuidas en todo el limbo, dando la apariencia moteada de las hojas; C, las manchas cloróticas se unieron y apareció una clorosis continua en los espacios venales de las hojas del genotipo 95R; D a los 274 días, se observó una clorosis general de las hojas del genotipo 95R donde solo las venas permanecieron verdes.

Azufre. Niveles bajos de azufre se asociaron con una clorosis generalizada de las hojas jóvenes ubicadas en brotes del mismo año. Las hojas cloróticas (incluidas sus venas) fueron pequeñas, presentan la reacción de una epinastia y a medida que la deficiencia avanzó aparecieron puntos rojizos en todo el limbo de las hojas (Figura 9), esto último no concuerda con los síntomas observados por Manica (2000).

Hierro. Niveles deficientes de este elemento mineral se asociaron con la aparición de clorosis entre las venas con puntos de color rojizo en el limbo de las hojas jóvenes situadas en brotes del año, la diferencia de estos síntomas con los que provoca una deficiencia de azufre, es que en el caso de carencias de hierro la clorosis es nada más en los espacios venales y solo con deficiencias muy severas se afecta a las nervaduras, pero entonces la hoja toma una coloración casi blanca; mientras que la clorosis provocada por deficiencias de S es completa incluyendo a las venas (Figura 10), lo que coincide con los síntomas reportados por Parker (2000); Wild y Jones (1992); Agrios (1999); Bonilla (2000); Taiz y Zeiger (2002) y Mengel y Kirkby (1979).

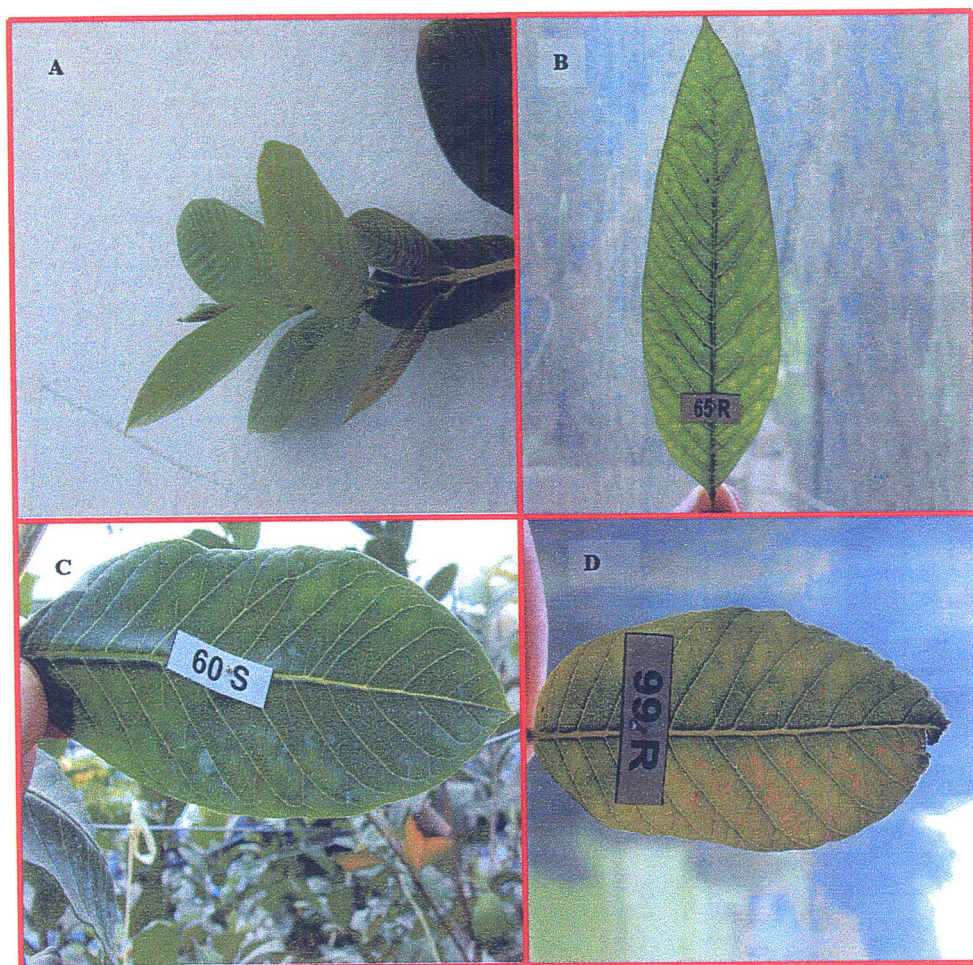


Figura 9. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media china' mostrando síntomas de deficiencia de azufre; A, después de los 162 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en S, en las hojas más jóvenes situadas en los brotes del año se observó una clorosis completa; B, a los 282 días, la clorosis (incluyendo a las venas) se observó en todo el limbo de la hojas del genotipo 65R; C, a los 289 días, la clorosis también se observó en algunas hojas adultas del genotipo 60S, principalmente en los bordes de las mismas, apareciendo una reacción de epinastia; D, a los 281 días, en las hojas del genotipo 99R, se observaron síntomas que se confunden con una deficiencia presumiblemente, de N sin embargo, la presencia de puntos rojizos, pudo tratarse de una deficiencia de azufre.

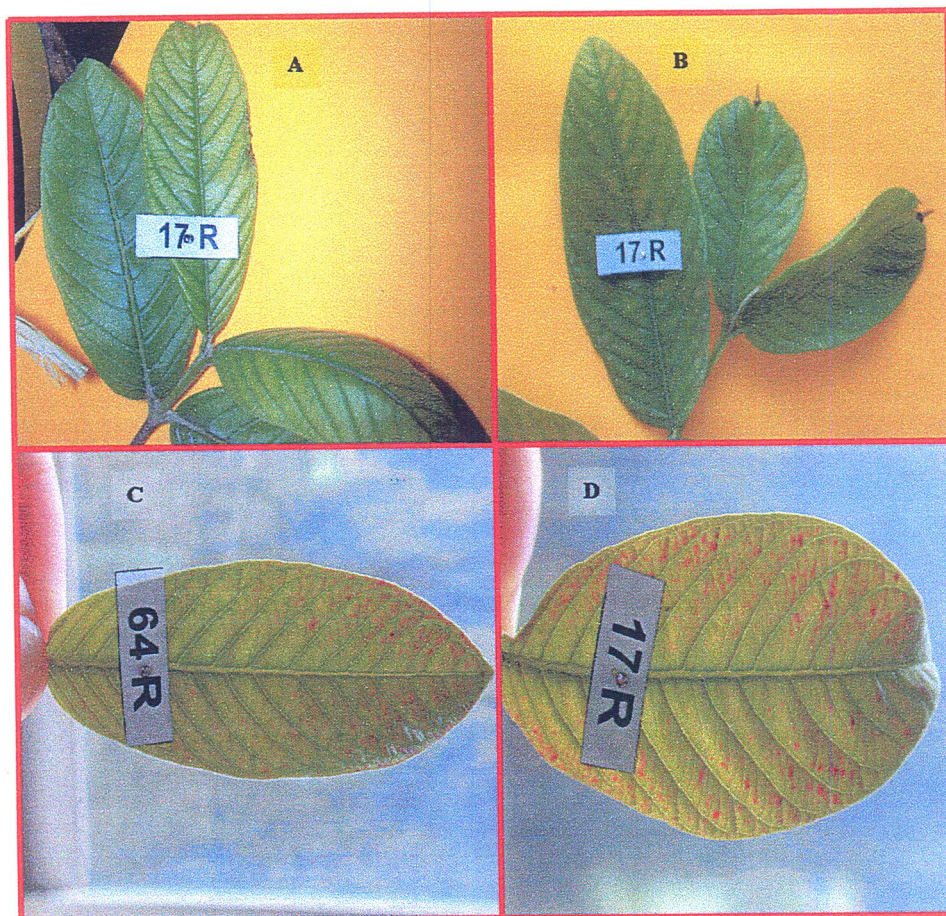


Figura 10. Aspecto de las hojas de guayabo 'Media China' mostrando síntomas de deficiencia de hierro; A, transcurridos 162 días de iniciado el riego con la solución nutritiva deficiente en Fe, en las hojas jóvenes del genotipo 17R, apareció una clorosis entre las venas; B, a los 221 días, esta clorosis también se observó en hojas de mayor edad (segundo par de hojas de brotes del año) del genotipo 17R; C, después de 294 días, en las hojas maduras ubicadas en el tercer y cuarto nudos, del genotipo 64R, además de la clorosis ubicada entre las venas, aparecieron puntos rojizos; D, a los 294 días, las hojas maduras de la base de las ramas del genotipo 17R, presentó síntomas cloróticos y junto con ellos aparecieron también puntos rojizos.

CONCLUSIONES

- Plantas de guayabo, al someterlas a condiciones de deficiencia de potasio ($60 \text{ mg} \cdot \text{Litro}^{-1}$) y calcio ($40 \text{ mg} \cdot \text{Litro}^{-1}$), en hidroponía e invernadero, manifestaron una tendencia en disminuir la producción de biomasa radical y aérea.
- La condición deficiente de N a concentración de $14 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, no afectó la producción de biomasa radical y aérea, posiblemente por el sinergismo con altas temperaturas presentes en el invernadero.
- El fósforo, magnesio, azufre y hierro a concentraciones de 5, 24, 15 y $0.25 \text{ mg} \cdot \text{litro}^{-1}$, respectivamente, no afectaron la producción de biomasa radical y aérea, y tampoco el índice de redondez de las hojas, área foliar, perímetro de hojas, diámetro de tallo, altura total de la planta, peso de ápices radicales y número de brotes en guayabo "Media China" desarrollada en invernadero.
- Los síntomas típicos de deficiencia de cada elemento mineral, no se presentaron de forma homogénea en las seis repeticiones que incluyó cada uno de los tratamientos, dentro de los 243 días que tardó el experimento, debido posiblemente a la heterogeneidad genética de los individuos evaluados.

LITERATURA CITADA

- AGRIOS, G. N. 1999. Fitopatología. Ed. UTEHA, D. F., México. 838 p.
- ARNON, D. I.; STOUT. P.R. 1939. The essentiality of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. *Plant Physiology* 14 (2): 371-375.
- BAEYENS, J. 1970. Nutrición de las plantas de cultivo. Traducido por MATEO BOX, J. M. y URBANO TERRON, P. Editorial LEMOS. Madrid, España. pp.631.
- BONILLA, D. 2000. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. pp. 83-97. *In: Fundamentos de fisiología vegetal*. Azcón-Bieto. J.; Talón. M. (eds). Editorial. McGraw-Hill. Madrid, España. 522 p.
- BORYS, M. W.; ALCALDE, B. S. 1987. Algunas alteraciones nutrimentales en guayabo (*Psidium guajava* L.) *Revista Chapingo*. Año XII, Número 56-57. pp 28-32.
- BEHBOUDIAN, H. M. y ANDERSON, D. R. 1991. Effects of potassium deficiency on water relations and photosynthesis of the tomato plant. *Potash Review* 127: 137-139.
- BHARGAVA, B. S.; SINGH, H. P. 1991. Potassium and the quality of tropical and subtropical fruit crops. *Potash Review* 5: 22-30.
- CHAUHAN, R.; KAPOOR. A. C.; GUPTA O.P. 1986. Note on the effect of cultivar and season on the chemical composition of guava fruit. *Haryana Journal of Horticultural Sciences* 15 (3-4): 228-230.
- FAIRBANKS, D. J. 2000. Development of genetic resistance to Iron-deficiency chlorosis in soybean. *Journal of Plant Nutrition* 23 (11&12): 1903-1913.

FALLAHI, E. 1999. Metabolism, action and use of BAS-125 W in Apples: Introduction to the workshop. HortScience, 34 (7).

FIORA VANCO, J. C.; PAIVA, M. C.; MANICA, J. 1995. Goiaba: aspecto qualitativo. Cuadernos de Horticultura UFRGS. Porto Alegre-RS, Brasil. 12 p.

FRESH, H. M. 1997. Cultivos hidropónicos, nuevas técnicas de producción. traducido por CAFFARENA, S. J. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 508 p.

GONZAGA, N.; MONTEIRO, S. J. 1994. Goiaba par exportação: aspectos técnicos da produção. Ministerio da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agraria, Secretaria de Desenvolvimento Rural, Programa de Apoio à Produção e Exportação de Frutas, Hortalicas, Flores e Plantas Ornamentais. EMBRAPASPI. D. F., Brasilia, Brazil. 49 p.

HIGUCHI, K.; KANAZAWA, K.; NISHIZAWA, N. K.; CHINO, M.; MORI, S. 1995. Purification and characterization of nicotiamine synthase from Fe-deficient barleyroots. pp. 29-38. *In*: Iron Nutrition in Soils and Plants. Abadía, J. (ed). Kluwer Academic Publisher. Printed in the Netherlands. 397 p.

HOAGLAND, D. R.; ARNON, D. I. 1938. The water-culture method for growing plants without soil , California Agric. Ext. Publi. 347, 35-37.

KARTHIKEYAN, A. S.; VARADARAJAN, D. K.; MUKATIRA, U. T.; D' URZO, M. P.; DASM, B.; RAGHOTHAMA, K. G. 2002. Regulated expretion of arabidopsis phosphate transporters. Plant Physiol 130: 221-233.

LÓPEZ RITAS, J.; LÓPEZ MELIDA, J. 1990. El diagnóstico de suelos y plantas, métodos de campo y laboratorio. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 351 p.

- MANICA, I. 2000. Taxonomía a goiabeira. Pp23-36 *In: Fruticultura y tropical, goiaba.* Manica, I. (ed). Ed. Cinco Continentes, LTDA., Porto Alegre, Brazil. 374 p.
- MATA BELTRÁN, I.; RODRÍGUEZ MENDOZA, A. 2000. Cultivo y producción del guayabo. Ed. Trillas, D. F., México. 160 p.
- MENGEL, K.; KIRKBY, E. A. 1979. Principles of plant nutrition. 2nd Edition. International Potash Institute. Worblaufen-Bern/ Switzerland. 593 p.
- MILLER, G. W.; HUANG, J.; WELKIE, G. W.; PUSHNIK, J. C. 1995. Function of iron in plants with special emphasis on chloroplasts and photosynthetic activity. pp 19-28. *In: Iron nutrition in soils and plants.* Abadía, J. (ed). Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- NATALE, W.; MÔRO, F. V. 1997. Influencia das características morfológicas das folhas de goiabeira (*Psidium guajava* L), na eficiencia de pulverizações foliares de nutrientes. *In: 1^o Simposio Brasileiro Sobre a Cultura da Goiabeira, Jaboticabal, UNESP-FUNEP, Jaboticabal, Brasil.* 168 p.
- ODEMIR, S. J.; MOREIRA, A.; MALAVOLTA, E. 2000. Nutrição mineral e dubação. *In: Fruticultura y tropical, Goiaba.* Manica, I. (ed.). Edit. Cinco Continentes, LTDA. Porto Alegre, Brazil. pp. 374.
- PARKER, R. 2000. La ciencia de las plantas. Editorial Paraninfo. Madrid, España. pp. 1-19.
- PENNINGSFELD, F.; KURZMANN, P. 1975. Cultivos hidropónicos y en turba. Traducido por CAFFAREN S., F. Edit. Mundi-Prensa. Madrid, España. 303 p.

- PERALES de la CRUZ, M. A.; PADILLA RMIREZ, J. S.; ESQUIVEL VILLAGRANA, F.; GONZÁLEZ GAONA, E. 2002. Manejo agronómico de la guayaba. pp. 65-85 *In*: Guayaba su Cultivo en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental Pabellón. Aguascalientes, México.
- RAESE, J. T.; DRAKE, S. R. 2000. Effect of calcium sprays, time of harvest, cold storage, and ripeness on fruit quality of 'Anjou' pears. *Journal of Plant Nutrition*. 23 (6): 843-853.
- RESH, H. M. 1997. Cultivos hidropónicos, nuevas técnicas de producción. Traducido por CAFFARENA S., J. Edit. Mundi-Prensa. Madrid, España. 508 p.
- RILEY, R. G.; KOLATTUKUDY, F. E. 1976. Effect of treatment with calcium ion-containing formulations on the firmness of 'Golden Delicious' apples. *HortScience* 11 (3): 249-251.
- SAATCI, N.; YA MUR, B. 2000. Relationships between the concentrations of iron, macro and micro nutrients in satsum mandarine leaves (*Citrus reticulata* Blanco). *Journal of Plant Nutrition*. 23 (11&12): 1745-1750.
- SANCHEZ DEL CASTILLO. F.; ESCALANTE REBOLLEDO. E. R. 1988. Hidroponía. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo., de México. 194 p.
- SHABAL, S. 2003. Regulation of potassium transport in leaves: From molecular to tissue level. *Annals of Botany* 92: 627-643.
- SMITH, P. F. 1996. Leaf analysis of citrus, pp. 208-228. *In*: Nutrition of fruit crops, Temperate. Sub-tropical, Tropical. Childers, N. F. (ed). Ed. Somerset Press, Inc., Somerville, New Jersey, U. S. A.

- SU, H.; GOHDACK, D.; ZHAO, Ch.; BOHNERT, H. J. 2002. The expression of HAK-Type K⁺ transporters is regulated in response to salinity stress in common ice plant. *Plant Physiol.* 129: 1482-1493.
- TAIZ, L.; ZEIGER, E. 2002. *Plant physiology*. Third edition. Sinauer Associates, Inc., publishers. Sunderland, Massachusetts. 690 p.
- TERRY, N.; ZAYED, A. M. 1995. Physiology and biochemistry of leaves under iron deficiency. pp. 283-294. *In: Iron Nutrition in Soils and Plants*. Abadía, J. (ed). Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.
- WILD, A.; JONES, L. P. H. 1992. Nutrición mineral de las plantas cultivadas. pp. 73-119. *In: Condiciones del Suelo y Desarrollo de las Plantas Según Russell*. Wild y Jones. A. (ed). Traducido por URBANO T., P.; ROJO H., C. Ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España..
- ZOHLEN, A. 2002. Chlorosis in wild y jones plants: is it a sing of iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition* 25 (10): 2205-2228.

CONCLUSIONES GENERALES

- Existe variabilidad genética en las poblaciones de guayabo 'Media china' procedentes de cuatro plantaciones ubicadas en Benito Juárez y Zitácuaro, Michoacán.
- La muestra poblacional procedente de semilla de cuatro frutos de guayaba presenta variabilidad genotípica y los individuos se comportan de forma diferente en condiciones de invernadero a concentraciones nutrimentales deficientes en nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y hierro.
- La presencia o ausencia de síntomas de deficiencia visibles en el follaje de cada planta de guayabo se asocia con el genotipo que posee, por lo que este rasgo morfológico puede usarse como marcador en la selección de plantas susceptibles o tolerantes a bajas concentraciones nutrimentales de alguno o varios nutrimentos.
- En condiciones de invernadero la producción de biomasa radical y aérea se ven reducida con una concentración deficiente de potasio y calcio en la solución nutritiva.
- La concentración de $14 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ de N no afecta la producción de biomasa radical y aérea, posiblemente por el sinergismo con altas temperaturas presentes en el invernadero.