UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE ENSEÑANZA, INVESTIGACIÓN Y SERVICIO EN FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

CARACTERÍSTICAS MORFO-ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DE PLÁNTULAS SEGREGANTES DE AGUACATE ‘COLÍN V-33’

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

NORA VIRGINIA USECHE CARRILLO

Bajo la supervisión de: **Dr. Alejandro F. Barrientos Priego**

Chapingo, Estado de México, 01 de diciembre de 2019.

CARACTERÍSTICAS MORFO-ANATÓMICAS Y FISIOLÓGICAS DE PLÁNTULAS SEGREGANTES DE AGUACATE 'COLÍN V-33'

Tesis realizada por Nora Virginia Useche Carrillo, bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR: _____
Dr. Alejandro F. Barrientos Priego

ASESOR: _____
Dr. Juan Ayala Arreola

ASESOR: _____
Dr. Eduardo Campos Rojas

LECTOR EXTERNO: _____
Dr. Carlos Alberto Núñez Colín

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
DEDICATORIAS	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS	x
RESUMEN GENERAL	xi
GENERAL ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
1. REVISIÓN DE LITERATURA	5
1.1 Importancia del uso de portainjertos, situación y perspectiva general	5
1.2 Tipo de enanismo en aguacate, características e investigaciones realizadas	7
1.3 Intercambio gaseoso en portainjertos enanizantes	11
1.4 Aspectos anatómicos del sistema vascular en plantas con enanismo	13
1.5 Literatura citada	16
2. CARACTERÍSTICAS ESTOMÁTICAS Y FISIOLÓGICAS DE LA HOJA EN PLÁNTULAS DE SEMILLA DE AGUACATE ‘COLÍN V-33’	27
2.1 Resumen	27
2.2 Abstract	28
2.3 Introducción	29
2.4 Materiales y Métodos	31
2.5 Resultados y Discusión	33

2.6 Conclusiones	39
2.7 Literatura citada	39
3. ESTRUCTURA ANATÓMICA Y FISIOLÓGICA DE TALLO Y HOJA DE AGUACATE ‘COLÍN V-33’ PROVENIENTE DE SEMILLA	44
3.1 Resumen	44
3.2 Abstract	45
3.3 Introducción	46
3.4 Materiales y Métodos	49
3.5 Resultados y Discusión	51
3.6 Conclusiones	64
3.7 Literatura citada	65
ANEXOS	70

ÍNDICE DE CUADROS

1er artículo: Características estomáticas y fisiológicas de la hoja en plántulas de semilla de aguacate ‘Colín V-33’		
Cuadro 1	Estadísticos de algunas características anatómicas y fisiológicas de hoja de plántulas derivadas de ‘Colín V-33’.	34
Cuadro 2	Coeficientes de correlación múltiple entre variables anatómicas y fisiológicas de la hoja 11 de plántulas de aguacate provenientes de ‘Colín V-33’.	37
2 ° artículo: Estructura anatómica y fisiológica de tallo y hoja de aguacate ‘Colín V-33’ proveniente de semilla		
Cuadro 1	Valores medios de algunas variables anatómicas de hoja y tallo, y fisiológicas de hoja de plántulas derivadas de ‘Colín V-33’.	52
Cuadro 2	Grupos formados de acuerdo con el análisis de conglomerado con 89 plantas derivadas de semilla de aguacate ‘Colín V-33’, derivadas de características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja.	53
Cuadro 3	Valores propios del análisis discriminante canónico de variables anatómicas de tallo y hoja y variables fisiológicas de hoja de 89 plantas de aguacate derivadas de semilla de ‘Colín V-33’.	55
Cuadro 4	Coeficientes canónicos totales del análisis discriminante canónico (ADC) de características anatómicas del tallo y, características anatómicas y fisiológicas de la hoja de plantas derivadas de semilla del aguacate ‘Colín V-33’. Los valores más altos se presentan en letras negritas en	56

	los tres componentes canónicos.	
Cuadro 5	Distancia de Mahalanobis y su significancia, de características anatómicas de tallo y hoja y características fisiológicas de hoja de 89 plantas derivadas de semilla de aguacate ‘Colín V-33’	58
Cuadro 6	Resumen de prueba de resubstitución a priori utilizando la función discriminante lineal de plantas de aguacate provenientes de semilla de ‘Colín V-33’ y formadas por características anatómicas y fisiológicas, de tallo y hoja.	64

ÍNDICE DE FIGURAS

1 er artículo: Características estomáticas y fisiológicas de la hoja en plántulas de semilla de aguacate ‘Colín V-33’		
Figura 1	Vista frontal de la superficie abaxial de la lámina foliar de *Persea americana* Mill. cv. Colín V-33. A) Distribución de estomas (e), células epidérmicas típicas (ce). B) Detalle de un estoma anomocítico.	33
2 ° artículo: Estructura anatómica y fisiológica de tallo y hoja de aguacate ‘Colín V-33’ proveniente de semilla		
Figura 1	Pseudo-estadístico t^2 de Hotelling y el número recomendado de grupos como una prueba de la división del dendrograma usando variables fisiológicas y anatómicas de hoja y tallo de 89 plantas derivadas de semilla de aguacate ‘Colín V-33’.	53
Figura 2	Agrupación por el método de Ward en seis grupos formados por las características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja de plantas de aguacate proveniente de semilla ‘Colín V-33’. La línea negra punteada representa el corte del dendrograma según el pseudo-estadístico t^2 de Hotelling.	54
Figura 3	Dispersión de los seis grupos de plantas derivadas de aguacate cv. Colín V-33 en el primer plano factorial de las dos primeras componentes canónicas del Análisis Discriminante Canónico, derivadas de características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja.	58
Figura 4	Dispersión de 89 plantas de aguacate ‘Colín V-33’ provenientes de semilla en las tres primeras funciones	60

canónicas con base a variables fisiológicas y anatómicas de hoja y tallo.

Figura 5 Variables discriminantes de plantas derivadas de semilla de aguacate cv. Colín V-33 en los seis grupos generados conforme a análisis discriminante canónico (ADC) y el agrupamiento Ward, derivadas de características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja. 63

DEDICATORIAS

A DIOS, por darme vida y salud para concretar esta meta y principalmente permitirme ser parte de su creación. ¡La Gloria es tuya Señor!

A las personas importantes en mi vida, que durante este tiempo me brindaron su apoyo motivándome y dándome confianza para concluir esta etapa, con todo mi cariño se la dedico a ustedes:

A mi madre por su amor, entrega, temple, apoyo incondicional, compañía, consejos y confianza. ¡Lo logramos Mamá!

A mis hijos Eduardo Elías y Eliana Virginia, por ser la mayor bendición y el mayor reto de mi vida, mi fuente de inspiración y superación, mi motivación eterna para seguir adelante siempre. ¡Los amo hijos míos!

A la memoria de mis abuelos Vidal^{+} y Ana^{+}, mis tíos Rodolfo Elías^{+} y Pablito^{+}, mis ángeles custodios desde el paraíso, en honor a su recuerdo.

A mi esposo Yan Carlos, por acompañarme desde el principio en este proyecto y por su gran apoyo brindado. ¡Gracias Cielo: dale, dale, dale!

A mis tíos y primos. Muy especialmente, a mi tía Dorita, con gratitud e inmenso amor. ¡He aquí tu sobri-hija!

A mis grandes amigos y colegas UNET, INIA y Chapingo. Especialmente a Cristina y Eduilkar (mi carnal), con sincero aprecio y gratitud. Dios les pague su incondicionalidad, confianza y apoyo conmigo.

AGRADECIMIENTO

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico otorgado para el desarrollo de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo y al Instituto de Horticultura del Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Fitotecnia por brindarme la oportunidad de continuar con mi formación profesional.

Al Dr. Alejandro F. Barrientos Priego por sus valiosas enseñanzas, sus acertados consejos y principalmente por el apoyo incondicional y confianza brindada durante el proceso de investigación.

A mis asesores Dres. Eduardo Campos Rojas, Juan Ayala Arreola y Carlos A. Núñez Colín por su disposición en la conducción y desarrollo del presente trabajo de investigación.

A la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C. por el material vegetal proporcionado para el presente trabajo de investigación

Al Sr. Eusebio Moreno Silva (Don Chebo), al Ing. Luis Morelos y a la M.C. Mercedes Martínez, por su ayuda durante el proceso de experimentación en el invernadero.

DATOS BIOGRÁFICOS

La autora de la presente tesis, Nora Virginia Useche Carrillo, nació el 05 de octubre de 1982 en la ciudad de Maracay, Estado Aragua, Venezuela. Realizó sus estudios profesionales en la Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), durante los años 2000-2006 obteniendo el título de Ingeniero Agrónomo el 08 de diciembre de 2006, con el trabajo de tesis titulado "Efecto de tres métodos de selección sobre el rendimiento de una variedad de maíz (*Zea mays*) criollo en la Unidad Académica La Tuquerena, municipio Junín del estado Táchira". Los estudios de maestría los realizó en la Universidad Nacional Experimental del Táchira (UNET), titulándose el 13 de diciembre de 2013, con el trabajo de tesis titulado "Relación entre condiciones climáticas y ciclo fenológico del cafeto en producción, en dos localidades del estado Táchira" obteniendo el título de Magister Scientiarum en Agronomía-Producción Vegetal.

En lo referente a su vida profesional se ha desempeñado como Investigadora científico-agrícola en el Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) de Venezuela, desde el 16 de octubre del año 2006 hasta la fecha. Ha sido Coordinadora de la acción: Instalación, rescate, mantenimiento y fortalecimiento de bancos de germoplasma y vivero de especies frutales de altura (mora, tomate de árbol, lulo, pasifloras, uchuva, feijoa, durazno, ciruela y pera) en el campo experimental Pueblo Hondo, enmarcada en el convenio Binacional entre la República Federativa del Brasil y la República Bolivariana de Venezuela (INIA-Embrapa). Ha escrito y publicado varios artículos científicos, técnicos y divulgativos en revistas especializadas en Venezuela. Así como ha participado en diversos congresos nacionales e internacionales realizados en Venezuela. Ha recibido el premio Programa de Estímulo a la Innovación e Investigación (PEII), como Investigador **A** durante los años 2012 y 2014.

RESUMEN GENERAL

Características morfo-anatómicas y fisiológicas de plántulas segregantes de aguacate 'Colín V-33'

Nora Virginia Useche-Carrillo[1], Alejandro F. Barrientos-Priego[2]

Los portainjertos enanizantes son muy ventajosos para la producción comercial de árboles frutales. En aguacate, existen pocos estudios relacionados con aspectos anatómicos y fisiológicos en hoja y tallo de los portainjertos, los cuales son útiles para entender su futuro comportamiento al ser injertados. La presente investigación tuvo la finalidad de evaluar características morfo-anatómicas y fisiológicas de hoja y tallo en segregantes de 'Colín V-33' que se relacionen con el enanismo y así identificar genotipos y parámetros de selección temprana en un programa de mejoramiento de portainjertos. El estudio se realizó en dos etapas: 1) Identificación de características anatómicas y fisiológicas relacionadas con los estomas que permitan seleccionar individuos contrastantes a nivel de plántula, se evaluaron variables de intercambio gaseoso y estomas en la hoja número once de cada planta. 2) Muestreo de tallo por planta para la realización de cortes histológicos y describir la estructura anatómica del tallo, con la finalidad de identificar genotipos y parámetros de selección temprana. Los resultados mostraron que las hojas son del tipo hipoestomáticas y estomas anomocíticos. Existió correlación positiva altamente significativa entre las variables fisiológicas conductancia estomática y transpiración (r = 0.96***), mientras que para la tasa de asimilación de CO_2 y la concentración interna de CO_2 existió una correlación negativa altamente significativa (r = -0.64***). Las características anatómicas de tallo mostraron estar altamente relacionadas con

Doctorado en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo
[1] Autor: M.C. Nora Virginia Useche Carrillo
[2] Director: Dr. Alejandro F. Barrientos-Priego

el comportamiento del porte de plantas. Asociar genotipos con variables fisiológicas y anatómicas de hoja y tallo puede tener gran valor para la selección de portainjertos en una etapa temprana de desarrollo.

Palabras claves: Portainjertos enanizantes, intercambio gaseoso, anatomía de tallo, conductancia estomática, transpiración.

GENERAL ABSTRACT

Morpho-anatomical and physiological characteristics of ‘Colín V-33’ avocado seedlings

Nora Virginia Useche-Carrillo[12], Alejandro F. Barrientos-Priego[2].

Dwarf rootstocks are very advantageous for the commercial production of fruit trees. In avocado, few studies related to anatomical and physiological aspects in leaf and stem of rootstocks exist, which are useful for understanding their future behavior when grafted. The present investigation had the purpose of evaluating morpho-anatomical and physiological characteristics of leaf and stem in ‘Colín V-33’ seedlings, that are related to dwarfism and thus identify genotypes and parameters of early selection in rootstocks improvement programs. The study was carried out in two stages: 1) Identification of anatomical and physiological characteristics related to stomata that allow to select contrasting individuals at the seedling level, gas exchange variables and stomata on the eleventh leaf of each plant were evaluated. 2) Sampling of stem by plant for the realization of histological sections and describe the anatomical structure of the stem, in order to identify genotypes and parameters of early selection. The results showed that the leaves are hypoestomatic type and anomocitic stomata. There was a highly significant positive correlation between the physiological variables stomatal conductance and transpiration (r = 0.96***), while for the rate of CO_2 assimilation and internal CO_2 concentration there was a highly significant negative correlation (r = -0.64***). The anatomical characteristics of the stem showed to be highly related to the behavior of plant size. Associating genotypes with physiological and anatomical leaf and stem variables can be of great value for the selection of rootstocks at an early stage of development.

Keywords: Dwarf rootstocks, gas exchange, stem anatomy, stomatal conductance, transpiration.

PhD in Horticultural Science Thesis, Universidad Autónoma Chapingo.
[1]Author: M.Sc. Nora Virginia Useche Carrillo
[2]Advisor: Dr. Alejandro F. Barrientos-Priego

INTRODUCCIÓN GENERAL

La diversidad de tipos de suelo, climas y ecosistemas a lo largo y ancho del territorio mexicano, representan una amplia gama de opciones para la producción agrícola, lo que hace de México un país en donde existen condiciones idóneas para cultivar una gran variedad de productos de todo tipo, ya sea para consumo interno o para su exportación a diferentes partes del mundo, los productos mexicanos gozan de gran demanda por su calidad (Acle & Montiel, 2018).

Las múltiples hibridaciones ocurridas en diferentes ambientes ecológicos de México y Centroamérica dieron origen al aguacate (*Persea americana* Mill.) comestible, de este modo, en las regiones americanas en donde el aguacate se cultiva desde tiempos precolombinos, la producción proviene de fuentes distintas de árboles nativos o criollos y cultivares selectos reproducidos asexualmente, en los cuales el sabor y los valores nutritivos varían según el tipo ecológico (Oviedo & López, 1998; Barrientos, 2017).

Actualmente las variedades y portainjertos que son la base de la producción en las principales áreas cultivadas en el mundo son producto de los trabajos de exploración (Aguilar, Prieto & Pavón, 1994), colecta, conservación y evaluación realizados en el centro de origen y dispersión de esta especie y de trabajos de mejoramiento genético realizados en California —Estados Unidos—, Israel, y Sudáfrica por citar alguno de ellos (Arpaia, 1997). El germoplasma colectado en México ha sido base de los programas de mejoramiento genético de otros países, ante ello diversas instituciones y productores en la actualidad han puesto su atención en la importancia de los trabajos relacionados con la exploración, colecta y conservación del germoplasma del género *Persea* y de realizar mejoramiento genético con la finalidad de dejar de ser considerados como un exportador de germoplasma e importador de genotipos.

Por otro parte es por todos conocido que México es el líder en superficie cultivada, producción y consumo de aguacate a nivel mundial, según FAOSTAT (2018) la producción nacional de esta fruta para el año 2018 fue de 2’184,683 toneladas en un área de 206,389 hectáreas cosechadas (SIAP, 2018).

Dentro de los programas de mejoramiento genético se tienen ideas acerca de las características deseables a conjuntar mediante la genotecnia. El aguacate es una especie polimórfica con polinización abierta, por lo que presenta una gran variabilidad genética, con posibilidades casi ilimitadas para su aprovechamiento (Bergh, 1992; Zentmyer & Schieber, 1992; Campos, Terrazas & LopezMata, 2007). La utilización de la diversidad genética existente —ya sea como variedades, portainjertos y/o interinjertos para el mejoramiento de la especie y especies afines al aguacate— es invaluable para el desarrollo del aguacate bajo condiciones de estrés o simplemente como satisfactor de bienes de servicio al hombre (Ben Ya′acov, 1992; Zentmyer & Schieber, 1992).

Los árboles de aguacate en la actualidad se forman por lo general de dos partes resultantes del injerto: la copa y la raíz. La copa tiene origen del cultivar injertado y que también forma parte del tronco, mientras que la raíz es parte del portainjerto y por lo general, contribuye a la base del tronco. En el caso de los portainjertos, considerados como la mitad del árbol denominada “la mitad escondida” (Barrientos-Priego, Muñoz-Pérez, Reyes-Alemán, Borys, & Martínez-Damián, 2007), se buscan atributos que confieran principalmente una buena adaptación al árbol y que resulte finalmente en una unidad productiva eficiente. La elección de un portainjerto es de gran importancia ya que puede resultar en el éxito o fracaso de una plantación.

Después del desarrollo de la técnica de propagación clonal de portainjertos a nivel comercial en los 1970s (Brokaw, 1987) se ha utilizado portainjertos selectos en plantaciones comerciales que principalmente le confieren al árbol adaptación a condiciones adversas del suelo. En California, Israel y Sudáfrica, actualmente se usan este tipo de portainjertos clonados, a diferencia de México, Brasil y otros países productores donde actualmente no es común su uso, ya

que las plantas derivadas de semilla de origen local han dado resultados satisfactorios y no se ha presentado la necesidad de recurrir a los clonales (Alberti, Brogio, Silva, Cantuarias-Avilés & Fassio, 2018).

La selección de portainjertos o interinjertos con atributos especiales para una cierta región o localidad, permite obtener material con un potencial productivo superior al que se ha obtenido con el uso de portainjertos a partir de semilla, además de solucionar limitantes como el gran porte del árbol; permitiendo tener un mejor manejo agronómico del cultivo, una mayor facilitad para realizar la cosecha, y en consecuencia una disminución en los costos de producción.

Como portainjertos, existen patrones enanizantes que inducen productividad y que muestran tolerancia a determinadas enfermedades del suelo. Según Barrientos-Priego, Muñoz-Pérez, Reyes-Alemán, Borys, & Martínez-Damián (2007), el árbol de aguacate ideal debería tener una altura máxima de 5 m, lo cual facilitaría el control fitosanitario, cosecha, podas y fertilizaciones foliares. Un ejemplo de esto es el cv. Colín V-33 que a los 16 años alcanza 2.7 m de altura, así como el 'Colinmex' (conocido como 'Hass Verde') que alcanza 4 m de altura a la misma edad (Sánchez & Barrientos, 1987). Este tipo de árboles permite establecer plantaciones de mayor densidad y con ello alcanzar una mayor producción por unidad de superficie.

Investigaciones anteriores han estudiado el efecto de interinjertos y portainjertos sobre la reducción del tamaño del árbol (Barrientos, López & Sánchez, 1987; Barrientos-Villaseñor, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí & Muñoz-Pérez, 1999), así, por ejemplo, interinjertos del cv. Colín V-33 han reducido la altura de árboles de cv. Fuerte de 11 años. La longitud del interinjerto puede influir en el grado de reducción de la altura; así interinjertos de 10 a 30 cm de longitud redujeron un 38.8 % la altura del árbol respecto al testigo sin interinjerto, mientras que una longitud de 30 a 50 cm la redujo en un 47.33 % (Barrientos, López & Sánchez, 1987).

Es por esto que el objetivo principal de esta investigación fue evaluar características morfo-anatómicas y fisiológicas de plántulas segregantes de aguacate ‘Colín V-33’ con la finalidad de identificar cuáles de estas características permiten seleccionar individuos con potencial de enanismo. La selección temprana traería como beneficios la incorporación de nuevos genotipos de manera rápida a los programas de mejoramiento y en las pruebas de evaluación pre-huerta.

El presente documento contiene tres partes principales para abordar el tema; en la primera parte se presenta una revisión de literatura acerca de los portainjertos que apoya el entendimiento de los sucesos fisiológicos y anatómicos tanto de hoja como de tallo en portainjertos con características enanizantes, mediante una descripción general de los eventos observados en investigaciones previas. En la segunda parte se presenta un artículo científico donde se describen las características anatómicas y fisiológicas de hoja relacionadas con estomas, con la finalidad de identificar cuáles de estas características pudieran permitir seleccionar individuos contrastantes a nivel de plántula. En la tercera parte se presenta un artículo científico que tuvo como objetivo describir la estructura anatómica y fisiológica del tallo y la hoja de plántulas de aguacate ‘Colín V-33’, con la finalidad de identificar genotipos y parámetros de selección temprana en un programa de mejoramiento de portainjertos de aguacate.

1. Revisión de literatura

1.1 Importancia del uso de portainjertos, situación y perspectiva general

Los atributos requeridos de un portainjerto se han vuelto más sofisticados a lo largo de los años, pero limitar el crecimiento excesivo, mejorar la eficiencia de cultivo (rendimiento por tamaño de árbol) y reducir el tiempo requerido para que un árbol entre a cosecha (precocidad) siguen siendo los objetivos principales (Atkinson & Else, 2001). El logro de algunos de estos objetivos ha permitido que gran parte de la producción de fruta templada del mundo (en particular, la producción de manzana) se intensifique a través del uso de árboles que producen más rápido, con altos rendimientos y a los cuales se les puede establecer en grandes densidades por unidad de superficie terrestre.

El control del tamaño de la planta ha sido un objetivo importante desde hace años en muchas especies. La selección de genotipos enanos ha resultado en mejoras del rendimiento sobre todo en los cultivos de cereales (Khush, 2001), donde plantas enanas con un alto potencial de rendimiento, son un fenotipo atractivo para el mejoramiento de los cultivos (Li, Liu, Tang, Chen, Tong, Hu & Chu., 2010).

La selección de portainjertos con características deseables para cierta región permitiría la posibilidad de que se exprese su potencial productivo, superior a los utilizados de semilla que presentan variabilidad genética y productiva. Entre las características generales en las que hoy día se concentran las investigaciones es en obtener portainjertos que incrementen rendimiento, reduzcan la alternancia, incrementen la tolerancia a estrés bióticos y abióticos, así como en el control del tamaño del árbol y su vigor, entre otras (Barrientos-Priego, 2017).

El vigor del crecimiento de árboles es un rasgo de fundamental importancia en los huertos frutícolas. La expresión del crecimiento vigoroso depende de varios factores, tales como genotipo de la planta, el ambiente y las prácticas agronómicas (Sorce, Massai, Picciarelli, & Lorenzi, 2002).

Los árboles frutales enanos normalmente no alcanzan el tamaño característico de la especie o especies relacionadas. El término árbol enano es aplicado a árboles que crecen menos que los normales debido a medios artificiales tales como selección de genotipos enanos, formación específica y procedimientos de poda o mediante injerto sobre portainjertos enanos (Iglesias Lliso, Tadeo & Talón, 2002).

Según Zhu, Li & Wealander (2008) los efectos enanizantes pueden ser obtenidos mediante el uso directo de cultivares enanos para alguna especie frutícola o a través del injerto de cultivares en portainjertos enanos, un método comúnmente utilizado para obtener arboles enanos.

Se han desarrollado genotipos enanos en especies como manzano, marañón y durazno; por ejemplo, en manzano se han obtenido varios portainjertos y cultivares enanos, los cuales han sido fundamentales para el manejo intensivo de huertos y sistemas de producción en altas densidades (Wang et al., 2011); sin embargo, hay una carencia significativa de germoplasma adecuado para producir variedades y portainjertos enanos comerciales para frutales como aguacate (Barrientos-Priego et al, 1992), cerezo (Charlot, Edin, Florchlay, Soing & Boland, 2005; Moghadam & Khalighi, 2007), ciruela japonesa (Jänes y Pae, 2003) y pera (Wang et al., 2011).

En muchos árboles frutales de clima templado (manzano, pera, ciruela y cerezo dulce) el uso de portainjertos ha proporcionado el principal método para el control del vigor del árbol (Atkinson & Else, 2003). Un portainjerto enanizante tiende a reducir la extensión estacional del brote del injerto. Tales árboles se caracterizan por una alta producción a una edad temprana. Esto se ejemplifica en el caso de manzanos injertados sobre el portainjerto M9, que alcanzan sólo

alrededor de un tercio del tamaño normal y producen fruto en una edad temprana (Lahav et al., 1995).

Para el caso de selección de portainjertos enanizantes, es de suma importancia considerar el tiempo de evaluación como lo señalaron Cummins (1972) y Gruppe (1979), los cuales encontraron diferencias entre los 2 y 3 años en cerezo dulce; sin embargo, en ciruelo las diferencias fueron evidentes a los 7 años y similares a los 15 años (Deckers & Keulemans, 1960).

El comportamiento de los portainjertos en general está afectado por diferentes factores de clima, composición del suelo, compatibilidad fisiológica, entre otros. En particular en aguacate, un buen portainjerto se espera que produzca un árbol perdurable, de alto rendimiento y buena calidad de frutos en el injerto. Es altamente deseable que sin reducir el rendimiento y otras características se obtengan árboles de porte bajo.

El uso de portainjertos en el cultivo intensivo de aguacate es de gran importancia y portainjertos para este cultivo han sido reportados en influir en el tamaño del árbol y su productividad (Bergh & Whitsell, 1962), sumado a ello el papel que juega el portainjerto en la adaptación a las condiciones bióticas y abióticas del suelo, hace que cada día a nivel mundial se esté tomando más conciencia acerca de la utilidad que tienen y en los próximos años se espera un auge en la investigación en los aspectos relacionados con los mismos (Barrientos-Priego, 2017), donde definitivamente los recursos genéticos del aguacate jugarán un papel importante, ya que son la fuente de genes y se buscará combinar características deseables en uno o varios portainjertos élite.

1.2 Tipo de enanismo en aguacate, características e investigaciones realizadas

En aguacate se han descrito dos tipos de enanismo, uno en el que la planta enana presenta crecimiento compacto y entrenudos cortos (Bergh & Whitsell,

1962) tipo braquítico como en el caso de durazno y otro descrito como perdida de dominancia apical y crecimiento lateral de ramas que da un comportamiento de crecimiento corto y difuso en plantas de aguacate, es decir que las ramas tienden a crecer con una tendencia horizontal (Barrientos-Pérez & Sánchez-Colín, 1982).

A nivel mundial, se ha evaluado el efecto de portainjertos sobre la reducción del tamaño de árbol. Por ejemplo, 'Nachtlat No. 2': Tiene efecto enanizante y puede romper la dominancia apical de cultivares de hábito erecto como 'Ettinger' (Ben-Ya'acov & Michelson, 1995), el cual fue seleccionado por el Dr. Avrham Ben-Ya'acov en Israel. Otro portainjerto estudiado es 'Ashdot': el cual fue seleccionado en Israel y que en Australia ha sido evaluado como portainjerto de semilla y muestra que al injertarse con 'Hass' reduce su tamaño significativamente, hasta la mitad del volumen de copa comparado con el portainjerto más vigoroso evaluado ('BW5'), además de tener el índice de eficiencia de rendimiento de 8 kg m^{-3} de copa a los 5 años de producción, mientras que el más cercano fue de aproximadamente 6 kg m^{-3} ('BW2') y el más bajo 5 kg m^{-3} ('Reed') (Le Lagaded, 2011).

En África del Sur la empresa Westfalia Technological Services conduce desde 1993 un importante programa de selección y evaluación de portainjertos, con bloques de plantas matrices de germoplasma mexicano para el cruzamiento y generación de portainjertos tolerantes a pudrición radicular, que reduzcan el tamaño de la planta y que mejoren la producción (Roe, Conradie & Köhne, 1995; Kremer-Köhne et al., 2002; Van Rooyen, 2011). En este programa también son evaluados materiales importados de otros países como Chile, Estados Unidos, Australia, Israel y España (Van Rooyen, Bruwer, Mhlophe, Mavuso & Blakey, 2015). En 2001 fue lanzado comercialmente el portainjerto 'Merensky 2' o 'Dusa', el cual es muy utilizado actualmente en plantaciones comerciales en Estados Unidos. Este portainjerto superó al portainjerto 'Duke 7' en la tolerancia a la pudrición de raíces, vigor de planta y productividad para 'Hass', con buen desempeño en suelos salinos y pesados.

En México, particularmente, se dedica un esfuerzo especial a la búsqueda de portainjertos enanos (López-Jiménez & Barrientos-Priego, 1987; Barrientos-Pérez & Barrientos-Priego) y también al uso de la técnica del interinjerto para promover enanismo (Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí & Muñoz-Pérez, 1987). Específicamente, la Fundación Salvador Sánchez-Colín-CICTAMEX, S.C. y la Universidad Autónoma Chapingo han trabajado en la selección y evaluación de germoplasma nativo de aguacate, concentrando los esfuerzos en la búsqueda de portainjertos tolerantes a *Phytophthora* y que brinden menor vigor a las copas (Barrientos-Priego et al., 1992), como el portainjerto 'Colín V-33', obtenido de una planta de semilla de 'Fuerte' y que confiere efecto enanizante a la copa de 'Hass'.

Patrones potencialmente enanizantes como 'Wilg', 'Ryan' y 'Colín V-33' se han evaluado frente a 'Duke 7', por su capacidad para limitar el crecimiento de 'Hass', sumado a su excelente característica de tolerancia a la pudrición radicular. El portainjerto 'Wilg' es un árbol con bajo vigor y hábito de crecimiento horizontal el cual ha exhibido mayor capacidad de enanismo hasta el momento; sin embargo, presenta dificultades en su propagación (Roe, Conradie, & Köhne, 1995). 'Colín V-33' una selección mexicana que tiene poco vigor y hábito de crecimiento lateral, ha sido utilizado como un interinjerto enanizante en árboles de 'Fuerte' en México, por lo que ha sido considerado con gran potencial como posible patrón enanizante. Barrientos, López y Sánchez (1987), consideran que el cv. Colín V-33 puede como tal, ser un posible portainjerto enanizante, ya que como injerto intermedio reduce en 43 % la altura del cv. Fuerte.

Los resultados encontrados por Barrientos-Pérez y Sánchez-Colín (1982) indicaron que hay variabilidad genética para altura en segregantes de 'Colín V-33', con estimaciones de heredabilidad de h^2= 0.74, así como una correlación negativa altamente significativa (r = -0.79**) entre altura y número de ramas; lo cual permitiría emplear este carácter como un índice de selección para altura.

Por otra parte dada la variabilidad genética para altura de los segregantes de este cultivar (Rubí, 1989), lo hacen un material valioso para mejoramiento de portainjertos enanizantes de aguacate.

La selección de características de herencia simple que son esenciales para los nuevos portainjertos, tales como enanismo y resistencia a estrés bióticos y abióticos, puede dar como resultado eficiencias considerables (Rusholme-Pilcher, Celton, & Gardnier, 2008). La asociación entre un genotipo con capacidad enanizante y una característica genética, fisiológica o anatómica podría ser de gran valor para la selección de portainjertos enanos en una etapa temprana de desarrollo (Bruncker & DeJong, 2014).

Se han realizado estudios para determinar características vegetativas de plántulas de aguacate asociadas a la identificación de genotipos enanizantes, así, Barrientos-Pérez y Barrientos-Priego (1996) evaluaron altura del árbol; diámetro del tronco; ramas principales, secundarias y terciarias en plántulas de 'Colín V-33' de un año de edad y posteriormente injertadas con diferentes cultivares y selecciones de crecimiento alto, intermedio y bajo: Rincoatl, Colín V-33 (de porte bajo), Colín V-101, Colinmex (de porte intermedio), 131 PLS, 175 PLS y Hass (de porte alto), donde se evaluó la reducción en altura y diámetro de copa del árbol, así como circunferencia del portainjerto. Ellos concluyeron que no existe ninguna relación significativa entre las características de las plántulas de un año y el efecto enanizante como portainjerto en cultivares o selecciones después de 6 años de injertados.

También se han propuesto características, tales como la densidad de estomas que se relaciona con el porte bajo de los árboles (Barrientos-Pérez & Sánchez-Colín, 1987) y porcentaje de área transversal de la corteza (López-Jiménez & Barrientos-Priego, 1987), siendo estas dos características al parecer de las más estables, que podrían utilizarse para una selección inicial de patrones enanizantes de aguacate en etapas tempranas del desarrollo.

La asociación entre la capacidad de enanismo de un genotipo y un rasgo genético, fisiológico o anatómico sería de gran valor para la selección de portainjertos enanos en una etapa temprana de desarrollo (Bruckner & DeJong, 2014).

1.3 Intercambio gaseoso en portainjertos enanizantes

El intercambio gaseoso está ligado con el metabolismo del carbono, enlazado, a su vez, con la atmósfera por el intercambio de CO_2, H_2O y O_2 de la planta y el medio que le rodea y está influenciado por la conductancia estomática, la transpiración y la asimilación neta de CO_2.

El intercambio de gases, la anatomía y morfología de xilema influyen en la distribución de biomasa entre órganos y el rendimiento del fruto, así como también determinan la condición hídrica de la planta (Fernández & Gyenge, 2010; Vilagrosa et al., 2010). Este intercambio gaseoso llevado a cabo por los estomas, cuya conductancia de gases se controla por cambios en la turgencia de las células oclusivas, responde a factores como la luz, humedad y concentración de CO_2 (Florez, 1999).

Los portainjertos tienen una gran influencia en el crecimiento de los cultivares injertados (Tubbs, 1973). Portainjertos enanizantes reducen la cantidad de peso seco del árbol, donde este efecto se logra mediante una reducción tanto en la velocidad a la que crecen los brotes vegetativos como en el período de tiempo durante el cual crecen. En comparación con un portainjerto vigorizante, un portainjerto enano dirige una mayor proporción de peso seco hacia la producción de fruta en lugar de dirigirlo hacia el crecimiento vegetativo (Atkinson & Else, 2001). El intercambio de gases juega un papel muy importante en la fisiología de las plantas y la información referente a la morfología, densidad y frecuencia de estomas puede ser de gran utilidad en la selección de plantas con enanismo (Barrientos, Borys, Trejo & López-López 2003).

Árboles de manzana ‘Empire’ sobre diferentes portainjertos con diversos gradientes de enanismo, no presentaron diferencias significativas entre los portainjertos en transpiración y conductancia estomática durante el día (Olien & Lakso, 1984).

En árboles de manzana el portainjerto M9 comparado con M7 (semi-vigoroso) tuvieron alta tasa de asimilación de CO_2 y tasa de transpiración durante la estación de crecimiento (Fallahi, Colt, Fallahi, Chun, 2002). Por otra parte, Schechter, Elfving & Proctor (1991a) indicaron que los árboles de manzano que crecen en portainjertos vigorosos tuvieron mayores tasas de asimilación de CO_2 en hojas de brotes terminales que los de portainjertos enanos.

Al evaluar la actividad fotosintética de tres genotipos de durazno injertados en GF677 y auto-enraizados, los cuales fueron diferenciados en tamaño y hábito (estándar, semienano y enano) y comparados bajo condiciones de flujo de fotones fotosintéticos variables, se reportó que los genotipos tipo enano mostraron alta capacidad fotosintética neta tanto en autoenraizados como injertados (Cappellini & Antonelli, 1997). En el caso de manzano ‘Fuji’ se encontró que el portainjerto enanizante M9 incrementó la asimilación de CO_2 y transpiración comparado con el portainjerto semi-enanizante M7 (Fallahi, Colt, Fallahi & Chun, 2002); sin embargo, se encontró que para ‘Starkspur Supreme Delicious’ la fotosíntesis neta de la hoja de árboles injertados en portinjertos enanizantes tendió a ser menor que en portainjertos vigorizantes (Schechter, Elfving, & Proctor, 1991b). Lo anterior denota que existen diferencias entre portainjertos enanizantes y no enanizantes; sin embargo, al perecer responde a la interacción específica injerto-portainjerto y es posible que dicha respuesta sea por la anatomía de la hoja, como lo indicó González-Calderón et al. (2011).

Por otra parte, Barrientos-Pérez & Sánchez-Colín (1983) y Barrientos & Sánchez (1987), indicaron que existe una correlación significativa entre la densidad estomática y el hábito de crecimiento del árbol en aguacate, dónde a mayor densidad menor porte del árbol y viceversa. La densidad estomática y el tamaño de estomas son considerados como parámetros ecofisiológicos clave

en la influencia conjunta sobre la conductancia estomática (Holland & Richardson, 2009). Con base en lo anterior podría considerarse el uso de la conductancia estomática como una prueba rápida en la selección de genotipos con tendencia al enanismo y como una medida indirecta de la densidad estomática, puesto que Barrientos y Sánchez (1987) proponen que la densidad estomática puede ser también una forma de realizar una separación de genotipos hacia porte bajo.

1.4 Aspectos anatómicos del sistema vascular en plantas con enanismo

El sistema vascular de las plantas está compuesto por dos tipos de tejido, floema y xilema, originados a partir del procambium o cambium vascular (Stahl & Simon, 2010). Tanto el xilema como el floema se diferencian del procambium para formar estructuras vasculares que conectan a todas las partes de la planta. Las células del procambium pueden diferenciarse para formar parte del floema o xilema (Lachaud, Catesson & Bonnemain, 1999). La diferenciación, al estar altamente integrada, está ligada al desarrollo de otras partes de la planta para asegurar una conexión entre todas (Tucker & Laux, 2007).

El flujo en el floema y xilema está condicionado por varios factores, entre los que se encuentran la presión de turgencia y los gradientes de concentración osmótica a lo largo del sistema vascular. Tanto el floema como el xilema son capaces de transportar agua y nutrimentos; sin embargo, la mayor proporción es trasladada por el xilema y en menor proporción por el floema. A través de floema son mayormente traslocados los fotoasimilados y distribuidos por toda la planta (Génard & Huguet, 1996)

Estructuralmente el xilema es un tejido complejo que está constituido por elementos de vaso, que son células alargadas, muertas en la madurez, de paredes lignificadas y una variedad de punteaduras, cuya función es la conducción del agua y de sustancias disueltas; las fibras son vasos especializados de pared muy engrosada que apenas realizan funciones de

transporte y que sirven para aumentar la resistencia mecánica del xilema y células parenquimatosas vivas, relacionadas con varias actividades vitales (Esau, 1985).

Las características anatómicas de tamaño de vasos y los porcentajes de xilema y floema, en tallos principales de frutales, son importantes para definir la cantidad de agua que pueda transportarse, ya que a medida que los porcentajes de estos tejidos son mayores y el diámetro de vasos menores, la cantidad de agua transportada será mayor, por lo tanto, habrá una mejor adaptación de las plantas a condiciones de alta humedad (Reyes-Santamaría Terrazas, Barrientos-Priego & Trejo, 2002).

Las características de los vasos responsables de la conducción de agua son genéticamente fijas en las especies según Bass (1982); sin embargo, estudios anatómicos en plantas de aguacate han demostrado que este se puede modificar por inclusive el injerto intermedio utilizado (Ayala-Arreola, Barrientos-Priego, Colinas-León, Sahagún-Castellanos &. Reyes-Alemán, 2010), además de existir bastante variación, donde se ha encontrado diferencias en la anatomía del vaso entre las razas y cultivares (Reyes-Santamaría Terrazas, Barrientos-Priego & Trejo, 2002), afirmando que las razas de aguacatero son más variables que los cultivares y probablemente esas diferencias estén relacionadas al tiempo de usarse como cultivo.

Las características anatómicas del sistema de conducción de agua en las plantas pueden tener un profundo impacto sobre la conductividad hidráulica del árbol (Tyree & Zimmerman, 2002). Desde un punto de vista de la ingeniería, el xilema es la red de distribución de agua desde la raíz a los principales consumidores, las hojas, en la parte superior de la planta (Karam, 2005).

El potencial hídrico ($\Psi\omega$) es la magnitud que expresa y mide el estado de energía libre del agua, de tal manera que su movimiento del suelo a la planta se da a través de gradientes de energía libre (Azcón & Talón, 2000). Tombesi, Almehdi & Dejong (2011) indicaron que el potencial hídrico, así como, la

apertura y cierre de estomas, son dos de los indicadores más aceptados para determinar la condición hídrica de la planta. La conductividad hidráulica es la medida de la permeabilidad de las membranas al agua, siendo un factor que determina la velocidad del movimiento del agua. Estos valores se ven afectados por el portainjerto, el agua disponible en el suelo, la transpiración, la resistencia elevada en las raíces, lesiones en el xilema por embolia y cavitación y por las características anatómicas y morfológicas del mismo (Azcón & Talón, 2000; Taiz & Zeiger, 2010).

Olien & Lakso (1986) mencionaron que la conductividad hidráulica en portainjertos enanizantes de manzano es más baja que en portainjertos vigorosos, lo que podría estar relacionado con la baja conductividad hidráulica en el sistema radical de estos patrones, y/o en la reducción de la conductividad hidráulica causada por la unión del injerto. La baja conductividad de la raíz reduce el transporte del agua a los tallos, afectando la conductancia estomatal, fotosíntesis y crecimiento de tallo para impulsar el desarrollo de biomasa de la raíz (Hubbard, Ryan, Stiller & Sperry, 2001)

Solari, Perniceb & Dejong et al. (2006) sugieren que el efecto de los portainjertos sobre el crecimiento vegetativo de los árboles de durazno se asocia con un equilibrio en las relaciones hídricas, en particular a las diferencias en la conductancia hidráulica en el sistema vascular de los portainjertos. La conductividad hidráulica de la parte aérea vinculada al área foliar y al portainjerto sobre el cual fue injertado fue mayor para la parte aérea de los tallos sobre portainjertos semivigorosos y vigorosos (Atkinson & Else, 2003).

Rosegrant, Ringler & Zhu (2009) mencionaron que el agua para la agricultura disminuirá en los siguientes 15 años, mientras que Seckler, Amarasinghe, Molden, de Silva & Barker (1998) precisaron que para el 2025 la demanda de agua para la agricultura incrementará en 50 %. Desde esta perspectiva es necesario tener portainjertos y variedades con mayor resistencia, tolerancia o uso eficiente del agua con el fin de hacer frente a las futuras condiciones climáticas, donde, debido al cambio climático y a los procesos de desertización,

la única manera de obtener producción en plantaciones será en condiciones de déficit hídrico (Moreno, 2009).

LITERATURA CITADA

Acle R. S & Montiel, A. V.. (2018). Influencia de la gastronomía mexicana en el consumo étnico en España. *Revista Interamericana de Ambiente y Turismo*, 14(2) pp 89-101.

Aguilar, J.R., Prieto, C. O. & Pavón, E. (1994). *Exploración, colecta y caracterización de los recursos genéticos de aguacate en el centro del Estado de Veracruz y oriente de Puebla*. Tesis Ing. Agr, Xalapa: Universidad Veracruzana.

Alberti, Mariana Freire, Brogio, Bruna do Amaral, Silva, Simone Rodrigues da, Cantuarias-Avilés, Tatiana, & Fassio, Claudia. (2018). Avances en la propagación del aguacate. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 40(6), e-782. Epub 03 de dezembro de 2018.https://dx.doi.org/10.1590/0100-29452018782

Arpaia, M. L. (1997). *Avocado germplasm preservation*. California Avocado Society, Avocado Research project plan and gran requirement. Riverside: University of California Riverside.

Atkinson, C. J. & Else, M. A. (2001). Understanding how rootstocks dwarfing fruit trees. *Compact Fruit Tree*, *34*, 46-49.

Atkinson, C. J. & Else, M. A. (2003). Enhancing harvest index in temperate fruit tree crops through the use of dwarfing rootstocks. *Proceedings of the International Workshop on Cocoa Breeding for Improved Production System* (pp. 118-131). Accra: INGENIC.

Ayala-Arreola, J., Barrientos-Priego, A. F., Colinas-León, M. T., Sahagún-Castellanos, J. & Reyes-Alemán, J. C. (2010) Relaciones injerto-

interinjerto y características anatómicas y fisiológicas de la hoja de cuatro genotipos de aguacate. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *16*(2), 147-154.

Azcón B., J. & Talón, M. (2000). *Fundamentos de fisiología vegetal*. Barcelona: Editorial McGraw-Hill. Interamericana.

Barrientos-Priego, A. F. (2017). Presente y futuro de los portainjertos y variedades de aguacate en el mundo y México. In: Salazar-García y Barrientos-Priego (eds.). *Memorias del V Congreso Latinoamericano del Aguacate* (pp. 2-15). Ciudad Guzmán: Asociación de Productores y Exportadores de Jalisco (APEAJAL).

Barrientos-Pérez, F. & Barrientos-Priego, A. F. (1996). Correlaciones entre algunas características de plántulas de aguacate de 'Colín V-33' y sus efectos enanizantes como portainjerto. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *5*, 95-98.

Barrientos-Pérez, F. & Sánchez-Colín, S. (1982). Height variability obtained from a new dwarf avocado tree population. *California Avocado Societv Yearbook*, *66*, 155-160.

Barrientos P., A., López J., A. & Sánchez C., S. (1987). Effect of cv. Colín V-33 as interstock on avocado (*Persea americana* Mill.) growth, cv. Fuerte. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, *10*, 62-63.

Barrientos Priego, A. F., & Sánchez Colín, S. (1987). Stomatal density and its relationship with growth habit in avocado. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 10, 66-67.

Barrientos Priego, A. F., Sánchez Colín, S. J. J Aguilar-Melchor & A. López-Jiménez. (1992). Selection of avocado dwarfing rootstocks. *Proceedings of the Second World Avocado Congress. I*, 515-520

Barrientos-Villaseñor, A., Barrientos-Priego, A. F., Rodríguez-Pérez, J. E., Peña Lomelí, A. & Muñoz-Pérez, R. (1999). Influencia del interinjerto 'Colín V-33' sobre algunos aspectos fisiológicos en aguacatero (*Persea americana* Mill.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *5*, 103-116.

Barrientos-Priego, A. F., Borys, M. W., Trejo, C. & López-López, L. (2003). Índice y densidad estomática foliar en plántulas de tres razas de aguacatero. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *26*(4), 285 – 290.

Barrientos-Priego, A. F., Muñoz-Pérez, R., Reyes-Alemán, J. C., Borys, M. & Martínez-Damián, M. (2007). Taxonomía, cultivares y portainjertos. pp. 30-62. In: Téliz, D, y A. Mora (Eds.). El Aguacate y su Manejo Integrado. 2ª edición. Mundi-Prensa. México D.F

Ben-Ya'acov, A. D. (1992). A study of avocado germplasm resources. Findings from the central part of México. *Proceedings of the Second World Avocado Congress* Vol. I (pp. 543-544). Orange County: California Avocado Society and University of California Riverside.

Ben-Ya'acov, A. & Michelson, E. 1995. Avocado rootstocks. *Horticultural Reviews, 17*, 381-429.

Bergh, B. (1992). The origin, nature and genetic improvement of the avocado. *California Avocado Society Yearbook*, *76*, 61-75.

Bergh B. O. & Whitsell, R. (1962). A possible dwarfing rootstock for avocados. *California Avocado Society Yearbook*, *46*, 55-62.

Brokaw, W. H. (1987). Avocado clonal rootstock propagation. *Proceedings of the International Plant Propagators Society, 37*, 97-103

Bruckner, C. H. & Dejong, T. M. (2014). Proposed pre-selection method for identification of dwarfing peach rootstocks based on rapid shoot xylem vessel analysis. *Scentia Horticulturae*, *165*, 404-409

Campos-Rojas, E., Terrazas, T. & López Mata, L. 2007. *Persea* (avocados) phylogenetic analysis based on morphological characters: hypothesis of species relationships. *Genetic Resources and Crop Evolution, 54*, 249-258

Cappellini, P., & Antonelli, M. (1997). Photosynthetic response to light levels is influenced by peach genotype/rootstock combinations. *Advances in Horticultural Science, 11*, 67-69

Charlot, G., Edin, M., Florchlay, F., Soing, P. & Boland, C. (2005). Tabel Edabriz: a dwarf rootstock for intensive cherry orchards. *Acta Horticulturae, 667*, 217-221

Cummins, J. N. (1972). Vegetatively propagated selections of *Prunus fruticosa* as dwarfing stocks for cherry. *Atti 2d Convegno del Ciliegia* (pp. 579-581). Verona.

Deckers, J. C. & Keulemans, J. (1960). *Les sujets portagreffe du prunier* (pp. 91-100). Le Fruit Beige, 3d trimester,

Esau, K. (1985). *Anatomía de las plantas con semilla* (pp. 97-135). Buenos Aires: Editorial Hemisferio Sur.

FAOSTAT. (2018). FAO *statistical databases*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. Consultado en: http://www.fao.org

Fallahi, E., Colt, W. M., Fallahi, B. & Chun, I. (2002). The importance of apple rootstock on tree growth, yield, fruit quality, leaf nutrition, and photosynthesis with an emphasis on 'Fuji'. *HortTechnology*, *12*, 38-44.

Fernández, M. E. & Gyenge, J. E. (2010). *Técnicas en medición en ecofisiología vegetal: conceptos y procedimientos* (140 p.). Buenos Aires: INTA.

Florez Medina, A. J. (1999). *Estado nutrimental, intercambio gaseoso y relaciones fuente demanda en durazno criollo [Prunus persica (*L.*) Batsch] en alta densidad de plantación.* Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Instituto de Recursos Genéticos y Productividad. Especialidad en Fruticultura. Montecillo, Texcoco, estado de México. 149 p.

Génard, M. & Huguet, J. G. (1996). Modeling the response of peach fruit growth to water stress. *Tree Physiology*, *16*, 407-415

González-Calderón, V. M., Barrientos-Priego, A. F., Núñez-Colín, C. A., Ramírez-Ramírez, S. P., Hofshi, R. & Arpaia, M. L. (2011). Anatomía de lámina de hoja en ocho cultivares de aguacate. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, *2*(5), 733-744.

Gruppe, W. (1979). The effect of some hybrid rootstocks on *P. avium* v. 'Hedelfinger Riesenkirsche', Preliminary results. *Proceedings of Eucarpia Fruit Section Symposium, Tree Fruit Breeding* (pp. 199-222). Angers.

Holland, N. & Richardson, A. D. (2009). Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *Journal of Sustainable Forestry*, *28*(2), 63-73.

Hubbard, R, M., Ryan, M. G., Stiller, V. & Sperry, J. S. (2001). Stomatal conductance and photosynthesis vary linearly with plant hydraulic conductance in Ponderosa pine. *Plant Cell and Environment*, *24*, 113-121.

Iglesias, D.J., I. Lliso, F.R. Tadeo & M. Talón. (2002). Regulation of photosynthesis through source:sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiologia. Plantarum,* 116, 563–569

Jänes, H. & Pae, A. (2003). First results of a dwarfing plum rootstocks trial. *Agronomy Research, 1*, 37-44.

Karam, G. (2005). Biomechanical model of the xylem vessels in vascular plant. *Annals of Botany*, *95*, 1179-1186.

Kremer-Köhne, S., Duvenhage, J. A., & Mailula, S. M. (2002). Breeding and field testing of new avocado rootstocks for increased Hass yields and resistance to root rot progress report. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, *25*, 17-19.

Khush, G. S. (2001). Green revolution: the way forward. *Nature Reviews Genetics*, *2*(10), 815-822.

Lachaud, S., Catesson, A. M. & Bonnemain, J. L. (1999). Structure and functions of the vascular cambium. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences - Series III - Sciences de la Vie*, *322*(8), 633-650.

Lahav, E., Tomer, E., Gazit, S. & Lavi, U. (1995). Performance of avocado (*Persea americana* Mill.) and mango seedlings compared with their grafted trees. Journal of the American *Society for Horticultural Science*, *120*(2),265-269

Le Lagadec, D. (2011). Field evaluation of superior rootstocks with 'Hass' as scion. *Proceedings of the VII World Avocado Congress* (pp. 599-607), September 5-9, 2011. Cairns, Australia.

Li, F., Liu, W., Tang, J., Chen, J., Tong, H., Hu, B., Chu, C. (2010). Rice DENSE AND ERECT PANICLE 2 is essential for determining panicle outgrowth and elongation. *Cell Research*, 20(7), 838–49.

López-Jiménez, A. & Barrientos-Priego, A. F. (1987). Selection of dwarfing rootstocks of avocado (*Persea americana* Mill.). *California Avocado Society Yearbook*, *71*, 225-234.

Moghadam, E. G. & Khalighi, A. (2007). Relationship between vigor of Iranin *Prunus mahaleb* L. selected dwarf rootstock and some morphological characters. *Scientia Horticulturae, 111*, 209-212.

Moreno F., L. P. (2009). Plant responses to water deficit stress. A review. *Agronomía Colombiana*, *27*(2), 179-191.

Olien, W. C. & Lakso, A. N. (1984). A comparison of the dwarfing character and water relations of five apple rootstocks. *Acta Horticulturae*, *146*, 151-158.

Oviedo, P. Lopez, L. (1998). Variedades de aguacate y su producción en México. *Memoria de CICTAMEX* (pp. 22-32). Coatepec Harinas: Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas del Aguacate en el Estado de México.

Reyes-Santamaria, I; Terrazas, T; Barrientos-Priego, A. F; Trejo, C. (2002). Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. S*cientia Horticulturae*. *92*(2): 97-105

Roe, D. J., Conradie, W. & Köhne, J. S. (1995). Progress with rootstock research at Merensky Technological Services. *South African Gowers' Association Yearbook*, *18*, 10-11.

Rosegrant, M. W., Ringler, C. & Zhu, T. (2009). Water for agriculture: maintaining food security under growing scarcity. *Annual Review of Environment Resources*, *34*, 205-222.

Rubí, M. (1988). Descripción de una población de segregantes de aguacate del cultivar de porte bajo 'Colín V-33'. *Memoria de CIC-FRUTICOLA-CICTAMEX* (pp. 21-30). Coatepec Harinas: Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas del Aguacate en el Estado de México.

Rusholme-Pilcher, R. L., Celton, J. M. & Gardnier, S.E. (2008). Genetic markers linked to the dwarfing trait of apple rootstock 'Malling 9'. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *133*(1), 100-106.

Sánchez C., S., & Barrientos P., A. (1987). Avocado production and breeding in Mexico. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, *10*, 24-26.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018). *Cierre de la producción agrícola por estado*. Ciudad de México: Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SADER. Consultado en http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-estado/

Schechter, I., Elfving, D. C. & Proctor, J. T. A. (1991a). Canopy development, photosynthesis, and vegetative growth as affected by apple rootstocks. *Fruit Variety Journal, 45,* 229-237.

Schechter, I., Elfving, D.C. & Proctor, J.T.A. (1991b). Apple tree canopy development and photosynthesis as affected by rootstock. *Canadian Journal of Botany*, *69*, 295-300.

Seckler, D., Amarasinghe, U., Molden, D., de Silva, R. & Barker, R. (1998). *World water demand and supply, 1990 to 2025: Scenarios and issues.* Research Report 19 (40 p). Sri Lanka: International Water Management Institute.

Solari, L. I., Perniceb, F. & Dejong, T. M. (2006) The relationship of hydraulic conductance to root system characteristics of peach (*Prunus persica*) rootstocks. *Physiologia Plantarum*, *128*(2), 324–333.

Sorce, C., Massai, R., Picciarelli, P. & Lorenzi, R. (2002). Hormonal relationships in xylem sap of grafted and ungrafted *Prunus* rootstocks. *Scientia Horticulturae*, *93*, 333-342.

Stahl, Y. & Simon, R. (2010). Plant primary meristems: shared functions and regulatory mechanisms. *Current Opinion in Plant Biology*, *13*, 53-58.

Taiz, L.& Zeiger, E. (2010). *Plant physiology*. (Fifth edition). Sunderland: Sinauer Associates

Tyree, M. T. & Zimmerman, M. H. (2002). *Xylem structure and the ascent of sap*. Berin: Springer Verlang.

Tombesi, S., Almehdi, A. & Dejong, T. M. (2011). Phenotyping vigour control capacity of new peach rootstocks by xylem vessel analysis. *Scientia Horticulturae*, *127*, 353-357.

Tubbs, F. R. (1973). Research fields in the interaction of rootstocks and scions in woody perennials. *Horticultural Abstracts, 43*, 247-253.

Tucker, M. R. & Laux, T. (2007). Connecting the paths in plant stem cell regulation. *Trends in Cell Biology*, *17*(8), 403-410.

Van Rooyen, Z. (2011). New developments in horticultural research at Westfalia, South Africa. Proceedings of the World Avocado Congress (pp. 94-100). Cairns, Australia.

Van Rooyen, A.T. Bruwer, S. Mhlophe, Z.S. Mavuso, R.J. Blakey, C. Fernández Noguera & J.S. Köhne (2015). An overview of Westfalia technological services' research – roots, shoots and fruit. Proceedings of the World Avocado Congress (pp. 490-495). Lima, Peru.

Vilagrosa, A., Morales, F., Abadía, F., Bellot, J., Cochard, H. & Gil-Pelegrin, E. (2010). Are symplast tolerance to intense drought conditions and xylem vulnerability to cavitation coordinated? An integrated analysis of photosynthetic, hydraulic and leaf level processes in two Mediterranean drought-resistant species. *Environmental and Experimental Botany*, *69*, 233-242

Wang, C., Tian, Y., Buck, E. J., Gardiner, S. E., Dai, H. & Jia, Y. (2011). Genetic mapping of PcDw determining pear dwarf trait. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *136*(1), 48-53.

Zentmyer, G. A. & Schieber, E. (1992). *Persea* and *Phytophthora* in Latin America. *Proceedings of the Second World Avocado Congress* Vol. I (pp. 61-66). Orange County: California Avocado Society and University of California Riverside.

Zhu, L. H., Li, X. Y. & Welander, M. (2008), Overexpression of the Arabidopsis gai gene in apple significantly reduces plant size. *Plant Cell Report*, *27*, 289-296.

Características estomáticas y fisiológicas de la hoja en plántulas de semilla de aguacate 'Colín V-33'

Stomatic and physiological characteristics of the avocado leaf in seedlings of 'Colín V-33' avocado

Nora Virginia Useche-Carrillo, Alejandro Facundo Barrientos-Priego, Juan Ayala-Arreola, Eduardo Campos-Rojas.

Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 carr. México-Texcoco, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230.

RESUMEN

El uso de portainjertos de aguacate es muy común, pero pocas veces estudiado desde el punto de vista anatómico y fisiológico de la hoja, variables que pueden ser útiles para entender su futuro papel al ser injertados. Esta investigación buscó identificar características anatómicas y fisiológicas relacionadas con los estomas que permitan seleccionar individuos contrastantes a nivel de plántula. Se utilizaron 93 plantas derivadas de semilla de 'Colín V-33' de seis meses de edad, se evaluaron cinco variables de intercambio de gases y cuatro de estomas en la hoja número once de cada una de las plantas. Las hojas se clasificaron como hipoestomáticas y los estomas como anomocíticos. La longitud de estomas varió entre 13.11 y 19.65 µm, la densidad de células epidérmicas estuvo entre 105.88 y 317.65 estomas/mm^2, los valores del índice estomático estuvieron entre 11.78 y 26.16 %. Estos parámetros pueden ser importantes al momento de hacer selección de plantas con cualidades deseables de hoja dentro de un programa de mejoramiento genético. Los resultados mostraron correlación positiva altamente significativa entre las variables fisiológicas conductancia estomática y tasa de transpiración (r = 0.96***), mientras que para la tasa de asimilación de CO_2 y la concentración interna de CO_2 existió una correlación negativa (r = -0.64***). Asociar genotipos con variables fisiológicas, anatómicas y morfológicas en hoja puede ser de gran valor para la selección de portainjertos en una etapa temprana de desarrollo.

Palabras clave: intercambio gaseoso, índice estomático, densidad estomática, conductancia estomática, transpiración.

ABSTRACT

The use of avocado rootstocks is very common, but rarely studied from the anatomical and physiological point of view of the leaf, variables that can be useful to understand their future role when being grafted. This research sought to identify anatomical and physiological characteristics related to stomata that allow the selection of contrasting individuals at the seedling level. We used 93 plants derived from 'Colín V-33' of six months of age, five gas exchange and four stomatal variables were evaluated in leaf number eleven of each of the plants. The leaves were classified as hypoestomatic and stomata as anomocytic. The stomatal length varied between 13.11 and 19.65 µm, the density of epidermal cells was between 105.88 and 317.65 stomata/mm^2, the stomatal index values were between 11.78 and 26.16 %. These parameters can be important when selecting plants with desirable leaf qualities in a breeding program. The results showed a highly significant positive correlation between the physiological variables stomatal conductance and transpiration rate (r=0.96***), while for CO_2 assimilation rate and internal CO_2 concentration there is a negative correlation (r=-0.64***). Associating genotypes with physiological, anatomical and morphological variables in leaves can be of great value for the selection of rootstocks at an early stage of development.

Keywords: gas exchange, stomatal index, stomatal density, stomatal conductance, transpiration.

INTRODUCCIÓN

La producción de aguacate actualmente en México está fundamentada en el uso de portainjertos derivados de semilla los cuales generan árboles de gran tamaño que al pasar del tiempo dificultan el manejo agronómico de los mismos; por esta razón, una de las prioridades en la investigación de aguacate es encontrar cultivares enanos que sean altamente productivos, con buena calidad de fruta y resistentes a plagas y enfermedades a fin de establecer plantaciones de alta densidad y reducir costos de producción (Sánchez-Colín, Rubí-Arriaga, & De La Cruz-Torres., 1992).

Actualmente en los programas de mejoramiento genético es de gran importancia la eficiencia fisiológica de nuevos cultivares de aguacate, ya que esta puede estar relacionada con la anatomía de la hoja, considerando que este órgano de la planta es el más flexible al momento de responder a las condiciones del medio ambiente pues es en ella es donde se refleja más claramente que en el tallo o en la raíz los efectos de estrés por condiciones ambientales o heterogeneidad (Levitt, 1980).

Los procesos primarios que determinan fundamentalmente el crecimiento vegetal son los que involucran el intercambio de gases con el aire circundante, como fotosíntesis, respiración y transpiración (Taiz & Zeiger, 2006), este intercambio gaseoso parte de la hoja.

Entre las estructuras que conforman el tejido epidérmico se encuentran los estomas, formados por un ostiolo o poro rodeado de dos células oclusivas, también llamadas células guarda, de forma arriñonada pudiendo estar acompañadas o no de células llamadas subsidiarias o células de apoyo (Prabhakar, 2004).

Cuando se estudia el estoma se abarca también a la hoja, así que la cantidad de estomas entre el haz y el envés en la lámina foliar es característica distintiva de diferente especies, clasificando como hojas anfiestomáticas a las que tienen distribuidos los estomas en sus dos superficies (haz y envés),

hipoestomáticas donde los estomas se encuentran en la superficie abaxial (envés), epiestomáticas: cuando los estomas están en la superficie adaxial (haz), (Gates, 1980; Larkin, Young, Prigge, & Marks, 1996; Azcón-Bieto & Talón, 2008).

El intercambio gaseoso es realizado a través de los estomas, cuya conductancia de gases se controla por cambios en la turgencia de las células oclusivas y responde a diversos factores ambientales, entre los que destacan la luz, humedad y concentración de CO_2 (Assmann & Gershenson, 1991). La relación entre la asimilación de CO_2 y la conductividad estomática varía entre especies, siendo fuerte en algunos casos mientras en otros es débil o puede no presentarse.

El número de estomas en las diferentes especies vegetales es variable. Esau (1977) establece una amplitud de 100 a 300 estomas/mm^2 en angiospermas. Por su parte, Schoch, Zinsou & Sibi (1980), Cañizares, Sanabria, Rodríguez & Perozo (2003) y Pares Arizaleta, Sanabria, & Brito (2004) han encontrado en varias especies de cítricos y anonas que el número de estomas varía en la hoja con respecto al patrón o portainjerto utilizado. Se ha reportado en otras especies, que el número de estomas por área de superficie foliar (densidad o frecuencia estomática) se registra entre 10 y 2000 por mm^2 (Öpik & Rolfe, 2005).

En aguacate, ‘Colín V-33’ es una selección mexicana que tiene bajo vigor y un hábito de crecimiento expandido (Roe, Conradie, & Köhne, 1995), ha sido utilizado como injerto intermedio en la reducción de altura de árboles de ‘Fuerte’ (Barrientos-Priego, López & Sánchez, 1987) y ‘Hass’ (Barrientos-Villaseñor Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí & Muñoz-Pérez, 1999). Se ha estado trabajando principalmente con ‘Colín V-33’ para la selección de portainjertos enanos que satisfagan las necesidades de los nuevos sistemas de producción, donde se ha propuesto como posible índice de pre-selección la densidad de estomas (Barrientos-Perez & Sanchez-Colin, 1982; Barrientos-Priego & Sánchez-Colín, 1987).

El objetivo de esta investigación fue evaluar características anatómicas de hoja relacionadas con la densidad estomática, dimensiones y características fisiológicas de intercambio de gases de la hoja en plántulas derivadas de semilla de ‘Colín V-33’, con el fin de identificar características que permitan seleccionar individuos con cualidades relacionadas con los estomas en estado de plántula.

MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se realizó en un invernadero del Departamento de Fitotecnia dentro del Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Estado de México.

Material vegetal

Se utilizaron 93 plantas de semilla de aguacate de ‘Colín V-33’ de seis meses de edad, donadas por el Banco de Germoplasma de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C. localizado en Coatepec Harinas, Estado de México. Las semillas fueron establecidas en bolsa negra de calibre 600 de 26 cm x 35 cm con perforaciones en el primer tercio inferior empleando como sustrato una mezcla de suelo, perlita y composta en una relación 3:1:1 (v/v/v), se regaron dos veces por semana, ya que fueron ubicadas en el invernadero de cristal con temperaturas oscilantes entre 30-48 °C.

Variables de intercambio de gases

En cada una de las plantas se identificó y marcó la hoja número once contada desde la base del tallo hacia el ápice de la planta, tal como lo recomendaron Barrientos-Priego, Borys, Trejo, & López-López (2003), esta hoja estaba completamente expandida, madura y sana. Una vez marcadas se evaluaron mediante un analizador de gases infrarrojo (modelo CI-340, CID Bio-Science) las variables tasa de asimilación de CO_2, tasa de transpiración, temperatura de la hoja (°C), concentración interna de CO_2 y conductancia estomática. Se realizó una medición puntual durante tres días soleados entre

las 11:00 y las 13:30 h del día, posteriormente estos tres valores se promediaron.

Variables anatómicas en hoja

Después de las lecturas de las variables de intercambio de gases, en la misma hoja previamente marcada, se obtuvo una impresión del envés de la parte media de la hoja con silicón fluido para impresiones (Exactoden), tanto del lado derecho como del lado izquierdo en la parte media del envés. Mediante la aplicación de barniz transparente para uñas sobre la impresión (negativo) se obtuvo la impresión positiva de cada lado, la cual se colocó sobre un portaobjeto.

En las impresiones positivas de cada lado (derecho e izquierdo) y de cada muestra se calculó el área con un micrómetro objeto, se determinó la densidad estomática (DE) por mm^2 y densidad de células epidérmicas (DCE) por mm^2. Dichas variables fueron evaluadas en cinco campos (40x de objetivo y 10x de ocular, Ayala-Arreola, Barrientos-Priego, Colinas-León, Sahagún-Castellanos & Reyes-Alemán, 2010) en un microscopio Motic B3 Profesional Series, con la adaptación de una cámara Moticam 480 con un adaptador de 16 mm. Sumado a ello, se midieron 10 estomas en cada muestra y de cada lado del envés. Los conteos de estomas, células epidérmicas y medición de longitud de estomas se realizaron con la ayuda del analizador de imágenes ImageJ 1.52a.

Con toda esta información se calculó el índice estomático (IE) que es igual a: $IE = [DE/(DE+DCE)] \times 100$.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con la comprobación de que los datos cumplieran con el requisito de normalidad. De los datos obtenidos, se calcularon los estadísticos básicos como valor máximo, medio, mínimo y coeficiente de variación. Se realizó un análisis de correlación de Pearson entre

los datos de las variables fisiológicas y las de estomas de hoja. Los análisis fueron realizados con el programa estadístico SAS 9.2 (SAS Institute, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estomas son las estructuras de las hojas que más contribuyen en el control del intercambio de gases (CO_2 y vapor de agua) en las plantas. Los factores ambientales, tales como la intensidad de la luz, la concentración atmosférica de CO_2 y los sistemas internos de control regulan el desarrollo de estomas (Hetherington & Woodward, 2003).

De acuerdo con la distribución observada de estomas en las hojas de aguacate de 'Colín V-33', éstas se clasifican como hojas hipoestomáticas, concordando con lo indicado por Heisman (1939), característica que es común en árboles frutales y forestales ya que es un mecanismo de protección de estomas que adquiere la planta. Según Camargo (2009), el carácter hipoestomático es considerado como un rasgo primitivo en las plantas, lo cual coincide con lo indicado por Chanderbali et al. (2008) quienes consideraron al aguacate como una especie de linaje basal cerca del origen de plantas con flor. Por otra parte, la distribución de estos en la superficie abaxial no tuvo orden alguno o estaban esparcidos por todo el envés de la hoja (Figura 1), característica que también se considera como primitiva (Camargo, 2009) y que en el caso del aguacate se ha encontrado que los estomas están uniformemente distribuidos en la superficie abaxial, sin diferencias entre la parte apical, media y basal de la hoja (Morales-Escobar, Barrientos-Priego, Barrientos-Pérez. & Martínez-Damián, 1992).

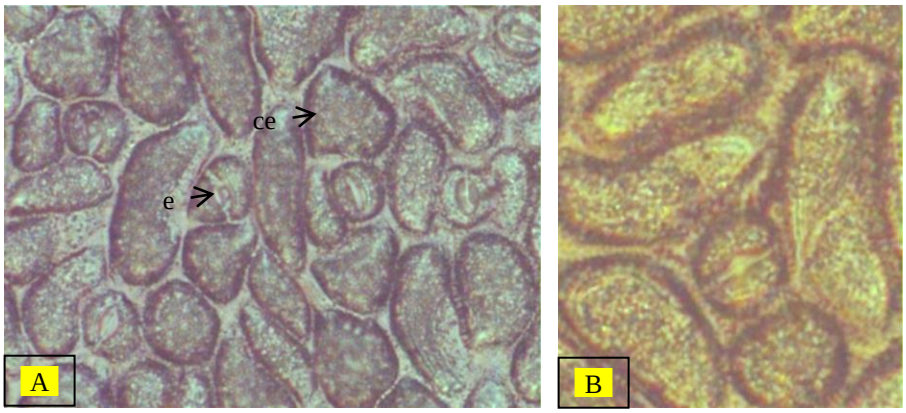


Figura 1. Vista frontal de la superficie abaxial de la lámina foliar de *Persea americana* Mill. cv. Colín V-33. A) Distribución de estomas (e), células epidérmicas típicas (ce). B) Detalle de un estoma anomocítico.

En vista frontal (Figura 1), la disposición de las células epidérmicas alrededor de las células oclusivas permitió clasificar a los estomas como anomocíticos, cuya característica principal es que no presentan células anexas o acompañantes y que tienen cuatro o más células subsidiarias que varían en posición, forma y tamaño (Prabhakar, 2004), es decir las células que rodean al estoma no presentan diferencias con las otras células epidérmicas.

Se realizó un análisis de varianza para conocer si había diferencia significativa en los dos lados del envés de la hoja (izquierdo y derecho) donde fueron tomados los datos. El promedio del tamaño de los estomas en el lado derecho del envés de la hoja fue de 16.35 µm, mientras que en el lado izquierdo fue de 16.06 µm, demostrando que estadísticamente no existe diferencia significativa entre la longitud de los estomas observados.

En general los estomas estudiados presentaron una longitud entre 13.11 y 19.65 µm (Cuadro 1). Drake, Froend & Franks (2013), afirmaron que estomas pequeños tienen respuesta más rápida, comparados con estomas grandes, y combinados con la alta densidad estomática muestran alta conductancia en condiciones desfavorables, así entonces, las características dinámicas de los estomas pequeños pueden ser parte de una selección integral para una alta conductancia estomática, acompañado de una alta capacidad fotosintética.

Cuadro 1. Estadísticos de algunas características anatómicas y fisiológicas de hoja de plántulas derivadas de ‘Colín V-33’.

Variable	Máximo	Medio	Mínimo	CV (%)
Densidad estomática (estomas/mm^2)	317.65	188.24	105.88	20.71
Densidad de células epidérmicas (células/mm^2)	1267.65	808.82	582.35	17.5
Índice estomático (%)	25.16	18.84	11.78	13.85
Longitud de estoma (µm)	19.64	16	13.11	8.48

Temperatura de hoja (°C)	28.53	26.7	23.23	4.45
Asimilación de CO_2 (µmol m^{-2} s^{-1})	3.97	1.15	-0.06	60.05
Transpiración (mmol m^{-2} s^{-1})	2	0.79	0.32	45.32
Conductancia estomática (mmol m^{-2} s^{-1})	105.18	29.55	9.33	57.41
Concentración interna de CO_2 (ppm)	352.87	238.87	67.33	20.32

CV: coeficiente de variación

Hetherington & Woodward (2003) mencionaron que, bajo un ambiente de alta irradiación, los estomas pequeños confieren una ventaja adaptativa a las plantas, porque pueden abrir y cerrar más rápidamente, y por lo tanto ser más eficientes en el uso del agua, en la asimilación de CO_2 y en la transpiración. Este principio puede ser aplicado a la selección de plantas en mejoramiento genético.

El número de estomas encontrado en la superficie abaxial de la hoja número once de la planta varió entre 105.88 y 317.65 estomas/mm^2, coincidiendo con los valores obtenidos por Barrientos-Priego, Borys, Trejo & López-López (2003), quienes afirmaron que es en la hoja once donde se detecta mayor densidad estomática en tres razas de aguacate y que esta densidad en diversas razas y cultivares oscila entre 100 y 610 estomas/mm^2. Esto concuerda con el intervalo establecido por Esau (1972) y dentro de los valores establecidos para el envés de las hojas de las plantas C_3 (Leegood, 1993).

El tamaño de los estomas y la densidad estomática son las variables más sensibles al cambio en las condiciones ambientales (Hetherington & Woodward, 2003), pero también a otros factores como el interinjerto (Ayala-Arreola et al., 2010). Por otra, parte se ha propuesto hacer preselección de genotipos de aguacate en estado de plántulas con base en la densidad estomática (Barrientos-Perez & Sánchez-Colin, 1982); sin embargo, es importante considerar la posición de la hoja a lo largo de la plántula ya que varía y donde se ha indicado que en la hoja 11 ya se estabiliza (Barrientos-Priego, Borys, Trejo & López-López, 2003).

Los valores de índice estomático (IE) promedio en ambos lados de la hoja estuvieron entre 11.78 y 26.16 % (Cuadro 1). El índice estomático es una función total de la radiación recibida y de las variaciones que se experimentan durante los días precedentes a la diferenciación de los estomas de la hoja (Schoch, Zinsou & Sibi, 1980). Este parámetro se afecta en portainjertos de frutales como lima 'Persa' injertadas en citrange 'Carrizo' (Cañizares, Sanabria, Rodríguez. & Perozo, 2003), naranjo 'Valencia' injertado en portainjertos tolerantes al virus de la tristeza de los cítricos (Arrieta-Ramos et al., 2010) y en el caso de aguacate al tener la presencia de un interinjerto (Ayala-Arreola et al, 2010). También puede ser afectado por la salinidad, Pares, Arizaleta, Sanabria, & García (2008) encontraron en plantas de *Carica papaya*, una disminución del índice estomático cuando fueron sometidas a cuatro concentraciones de salinidad.

El IE es considerado una característica de diagnóstico muy utilizada en sistemática de plantas, porque generalmente se mantiene sin alteraciones y en el caso de plántulas de aguacate derivadas de semilla de acuerdo a su posición foliar hay grandes diferencias en densidad de estomas y en caso del IE tendió a ser constante en los diferentes niveles de la posición de hoja en la plántula (Barrientos-Priego, Borys, Trejo & López-López, 2003), y constituye un mejor atributo para la identificación de genotipos en etapas tempranas del desarrollo No obstante, se ha indicado que el IE es una variable que es afectada por condiciones estresantes, tanto ambientales como nutrimentales (Salas, Sanabria & Pire, 2001).

Taylor et al. (2012), concluyeron que la densidad y el índice estomáticos de una especie es importante, ya que se ha demostrado que la máxima conductancia estomática, está determinada por el tamaño y densidad de estomas, siendo más bajo en especies de pastos C_4 que en especies C_3.

El sistema estomático en el aguacate es muy sensible al estrés hídrico de la planta, controlando la asimilación completamente. Es por ello por lo que altas temperaturas inhiben la asimilación y causan el cierre estomático debido a

un aumento del CO_2 en los tejidos, sin embargo, el cierre es lento y la transpiración continúa. La temperatura de la hoja durante la evaluación se mantuvo entre 23 y 29 °C, temperatura óptima para el cultivo de aguacate.

Por otro lado, el cierre estomático es rápido en respuesta a la luz, lo que significa que las hojas ubicadas en la parte interna del dosel, altamente sombreadas, tienen baja asimilación. Un repentino aumento en la intensidad lumínica no resulta en un incremento en la asimilación de las hojas de aguacate debido a que la apertura estomática es lenta (Heath & Arpaia, 2006).

Las tasas de transpiración variaron de 0.32 a 2 mmol m^{-2} s^{-1} de H_2O (Cuadro 1), con coeficiente de variación de 45.32 %.

Los resultados encontrados (Cuadro 2), indicaron que hay significativa correlación positiva y altamente significativa entre las variables conductancia estomática y tasa de transpiración (r = 0.96***). La conductancia se refiere al control ejercido por los estomas sobre la tasa de transpiración, representando la capacidad que tiene una molécula de agua de difundirse a través de la hoja por unidad de tiempo. Una conductancia estomática menor, puede ser la explicación de una menor asimilación de CO_2 y a su vez una menor tasa de transpiración.

Cuadro 2. Coeficientes de correlación entre variables anatómicas y fisiológicas de la hoja 11 de plántulas de aguacate provenientes de ‘Colín V-33’.

Variable	DE	DCE	IE	LE	TEMP	A	E	Gs	Ci
DE	1								
DCE	0.59***	1							
IE	0.61***	-0.25*	1						
LE	-0.11	-0.11	-0.01	1					
TEMP	0.14	0.27**	-0.07	0.43***	1				
A	0.09	-0.06	0.17	0.12	0.07	1			
E	0.03	0.05	-0.01	0.06	0.15	0.41***	1		
Gs	-0.02	-0.02	-0.02	-0.03	-0.06	0.35**	0.96***	1	
Ci	-0.04	0.11	-0.16	-0.10	-0.07	-0.64***	0.27*	0.30**	1

Significativo a *P*<0.05=*, *P*<0.01=** y *P*<0.001=*** de probabilidad. DE: densidad estomática, DCE: densidad de células epidérmicas, IE: índice estomático, LE: longitud de estoma, TEMP: temperatura de la hoja, A: asimilación de CO_2, E: transpiración, Gs: conductancia estomática, Ci: concentración interna de CO_2.

Los factores ambientales más importantes que afectan la transpiración son: radiación solar, déficit de presión de vapor del aire, temperatura, velocidad del viento, concentración de CO_2 y disponibilidad de humedad y nutrientes del suelo (Sánchez-Díaz & Aguirreolea, 2008; Reddy, 2005).

Entre las variables tasa de asimilación de CO_2 y la concentración interna de CO_2 existe una correlación negativa (r = -0.64), esto es debido a que las células tienen cierta capacidad metabólica para procesar el CO_2 que puede captar la planta, así, cuando la concentración de CO_2 es muy alta los estomas se cierran cesando la fotosíntesis en la planta, saturando su maquinaria metabólica impidiendo el procesamiento de más moléculas (punto de saturación). Así, al aumentar la concentración de CO_2 también aumenta la tasa de asimilación neta hasta alcanzar el nivel de saturación, con una cinética propia para cada especie según el mecanismo fotosintético que tenga, ya sea C_3 o C_4, considerando que el aguacate es una especie de comportamiento fotosintético C_3, se explica su mejor adaptación en ambientes frescos y húmedos.

Las variables fisiológicas están fuertemente asociadas, de tal manera que el aumento en la concentración interna de CO_2 indica que no hay apertura de estomas, lo que imposibilita la asimilación de CO_2 debido al bajo intercambio gaseoso y puede disminuir el crecimiento y desarrollo de la planta (Giuliani et al., 2016). La asimilación de CO_2 de la hoja de aguacate está estrechamente correlacionada con la conductancia estomática en la mayoría de las condiciones (Liu, Mickelbart, Robinson, Hofshi & Arpaia, 2002) y es posible que se deba a que la asimilación de CO_2 está, en parte, determinada principalmente por la conductancia estomática (Sholefield, Walcott, Kriedemann & Ramadasan,1980).

En las variables anatómicas de hoja se encontró una correlación positiva entre DE-DCE (r=0.59), similar a los coeficientes de correlación encontrados por Barrientos-Priego, Borys, Trejo & López-López (2003) que muestran una asociación positiva y significativa entre ellas. Estos autores también encontraron correlación negativa entre la densidad de células epidérmicas y el índice estomático, lo cual no se corroboró en este estudio, ya que el coeficiente fue bajo (r=-0.25) aunque significativo a una $P<0.05$.

La densidad estomática (DE) y el tamaño de estomas son considerados como parámetros ecofisiológicos clave, en la influencia conjunta sobre la conductancia estomática (Holland & Richardson, 2009). Con base en lo anterior podríamos considerar el uso de la conductancia estomática como una prueba rápida en la selección de genotipos, como una medida indirecta de la densidad estomática, puesto que la DE puede ser también un parámetro provechoso al momento de realizar separación de genotipos hacia porte bajo como lo proponen Barrientos & Sánchez (1987).

CONCLUSIONES

Las hojas de plántulas de aguacate ‘Colín V-33’, tienen estomas tipo hipoestomáticos y se clasifican como anomocíticos.

Conocer el tamaño de estomas, la densidad estomática (DE) y el índice estomático (IE) de una especie es de gran importancia, ya que estos parámetros son valiosos al momento de hacer pre-selección de plantas con características estomáticas deseables según el caso, dentro de un programa de mejoramiento genético de esta especie donde el uso de portainjertos es una práctica común.

LITERATURA CITADA

Arrieta-Ramos, B., Villegas-Monter, A., Hernández-Bautista, A., Rodríguez-Mendoza, M. N., Ruiz-Posadas, L.M. & García-Villanueva, E. (2010). Estomas y vigor de naranjo 'Valencia' injertado en portainjertos tolerantes al virus de la tristeza de los cítricos. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *33*, 257-263.

Assmann S., M. & Gershenson, A. (1991). The kinetics of stomatal responses to VPD in *Vicia faba*: electrophysiological and water relations models. *Plant Cell*, *14*, 455-465.

Ayala-Arreola, J., Barrientos-Priego, A. F., Colinas-León, M. T., Sahagún-Castellanos, J., & Reyes-Alemán, J. C. (2010). Relaciones injerto-interinjerto y características anatómicas y fisiológicas de la hoja de cuatro genotipos de aguacate. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *16*(2), 147-154.

Azcón-Bieto, J. & Talón. M. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal* (2nd ed.). España: Mc Graw-Hill Interamericana. Barcelona,

Barrientos-Perez, F. & Sanchez-Colin, S. (1982). Height variability obtained from a new dwarf avocado tree population. *Acta Hoticulturae*, *140*, 163-168.

Barrientos-Priego, A. F. & Sánchez-Colín, S. (1987). Stomatal density and its relationship with growth habit in avocado. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, *10*, 66-67.

Barrientos P., A. F., López J., A. & Sánchez C., S. (1987). Effect of Colín V-33 as interstock on avocado (*Persea americana* Mill.) growth, cv. Fuerte. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, *10*, 62-63.

Barrientos-Priego, A. F., Borys, M. W., Trejo, C. & López-López, L. (2003). Índice y densidad estomática foliar en plántulas de tres razas de aguacatero. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *26*(4), 285 – 290.

Barrientos-Villaseñor, A., Barrientos-Priego, A. F., Rodríguez-Pérez, J. E., Peña-Lomelí, A. & Muñoz-Pérez, R. (1999). Influencia del interinjerto 'Colin V33' sobre algunos aspectos fisiológicos en aguacatero (*Persea americana* Mill). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *5*, 103-116.

Camargo, M.A.B. (2009). *Características estomáticas em espécies arbóreas da Amazônia Central* (52 p.). Disseertacao de mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia (INPA)/Universidad Federal do Amazonas, Manaus, Brasil.

Cañizares, A., Sanabria, M.E., Rodríguez, D.A. & Perozo, Y. (2003). Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista UDO Agrícola*, *3*, 59-64.

Chanderbali, A. S., Albert, V. A., Ashworth, V. E., Clegg; M. T., Litz, R. E., Soltis, D. E. & Soltis, P. S. (2008). *Persea americana* (avocado) bringing ancient flowers to fruit in the genomics era. *BioEssays*, *30*(4), 386-339.

Drake, P. L., Froend, R. H., & Franks, P. J. (2013). Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance. *Journal of Experimental Botany*, *64*(2), 495-505.

Esau, K. (1977). *Anatomy of seed plants* (2nd ed.). New York: John Wiley & Sons Inc.

Gates, D.M. (1980). *Biophysical ecology*. New York: Springer-Verlag

Giuliani, R., Magnanini, E., Muzzi, E., Nerozzi F., Tombesi, S., Palliotti A., Gatti, M. & Poni, S. (2016). An enhanced method to infer gas exchange function in 48 peach trees having different canopy shapes based on canopy quantum flux absorption assessment. *Agricultural and Forest Meteorology*, *221*, 1-12

Heath, R. & Arpaia, M. (2006). Avocado tree physiology - understanding the basis of productivity. *Proceedings of the California Avocado Research Symposium* (pp. 93-107). Riverside: University of California. California.

Heisman, P. (1939). Notes on avocado anatomy. *California Avocado Society Yearbook*, *24*, 87-91.

Hetherington, A. M., & Woodward, F. I. (2003). The role of stomata in sensing and driving environmental change. *Nature*, *424*, 901-908.

Holland, N. & Richardson, A. D. (2009). Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *Journal of Sustainable Forestry*, *2*8(2), 63-73

Larkin, J. C., Young, N., Prigge, M. & Marks, M. D. (1996). The control of trichome spacing and number in *Arabidopsis*. *Development*, *122*(3), 997-1005.

Leegood, R.C. (1993). Carbon dioxide concentrating mechanisms. In P.J. Lea and R.C. Leegood (eds.). *Plant Biochemistry and Molecular Biology*. Chichester: John Wiley and Sons, Ltd.

Levitt, J. (1980). *Responses of plants to environmental stresses* (2da. Ed.). New York: Academic Press.

Liu, X., Mickelbart, M. V., Robinson, P. W., Hofshi, R. & Arpaia, M. L. (2002). Photosynthetic characteristics of avocado leaves. *Acta Horticulturae*, *575*, 865-874.

Morales-Escobar, L., Barrientos-Priego, A. F., Barrientos-Pérez, F. & Martínez-Damián, Ma. T. (1992). Obtención de poliploides en aguacate (*Persea americana* Mill.) mediante el uso de colchicina (pp. 89-96). Memoria de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C., 1992, Coatepec Harinas: Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C.

Öpik, H. & Rolfe, S. (2005). *The physiology of flowering plants* (392 p.). Cambridge: Cambridge University Press.

Pares, J., Arizaleta, M., Sanabria, M.E. & Brito, L. (2004). Características de los estomas, densidad e índice estomático y su variación en función a la injertación en *Annona muricata* y *A. montana* (Annonaceae). *Bioagro*, *16*, 213-218.

Pares, J., Arizaleta, M., Sanabria, M.E. & García, G. (2008). Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad estomática, índice estomático y el grosor foliar en plantas de *Carica papaya* L. *Acta Botánica Venezuelica*, *31*(1), 27-34.

Prabhakar, M. (2004). Structure, delimitation, nomenclature and classification of stomata. *Acta Botanica Sinica*, *46*(2), 246-252.

Reddy, K. R. (2005). Crops and environmental change: An introduction to effects of global warming, increasing atmospheric CO_2 and O_3 concentrations, and soil salinization on crop physiology and yield. *Crop Science*, *4*5(6), 2674.

Roe, D. J, Conradie, W. & Köhne, J. S. (1995). Progress with rootstock research at Merensky Technological Services. *South African Gowers' Association Yearbook*, *18*, 10-11.

Salas, J., Sanabria, M. & Pire, R. (2001). Variación en el índice y densidad estomática en plantas de tomate (*Licopersicon esculentum* Mill.) sometidas a tratamientos salinos. *Bioagro*, *13*, 99-104.

Salisbury, F. B. & Ross, C. W. (2000). *Fisiología de las plantas*. Madrid: International Thomson.

Sánchez-Colín, S., Rubí-Arriaga, M. & De La Cruz-Torres, E. (1992). Selection of dwarf avocado trees within a population of seedlings of cv. Colin V-33. *Proceedings of Second World Avocado Congress* (Vol. I, pp. 527-530). Orange County: California Avocado Society and University of California Riverside.

Sánchez-Díaz, M. & Aguirreolea, J. (2008). Transpiración y control estomático. In Azcón-Bieto, J. & Talón, M. (eds.). *Fundamentos de fisiología vegetal* (pp. 41-56). Madrid: McGraw-Hill Interamericana de España.

SAS Institute. 2009. *SAS Versión 9.2 para Windows*. Cary: SAS Inst.

Schoch, P. G., Zinsou, C., & Sibi, M. (1980). Dependence of the stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna sinensis* L. 1. Effect of light intensity. *Journal of Experimental Botany*, *31*(5), 1211-1216.

Scholefield, P.B., Walcott, J.J., Kriedemann, P.E. & Ramadasan, A. (1980). Some environmental effects on photosynthesis and water relations of avocado leaves. *California Avocado Society Yearbook*, *64*, 93-105.

Serna, L., Torres-Contreras, J., & Fenoll, C. (2002). Clonal analysis of stomatal development and patterning in *Arabidopsis* leaves. *Developmental Biology*, *241*(1), 24-33.

Taiz, L. & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology* (4th ed., 764 p.). Sunderland: Sinauer Associates, Inc. Publishers.

Taylor, S. H., Franks, P. J., Hulme, S. P., Spriggs, E., Christin, P. A., Edwards, E. J., Woodward, F. I. & Osborne, C. P. (2012). Photosynthetic pathway and ecological adaptation explain stomatal trait diversity among grasses. *New Phytologist*, *193*(2), 387-396.

Estructura anatómica y fisiológica de tallo y hoja de aguacate 'Colín V-33' proveniente de semilla

Anatomical and physiological structure of avocado stem and leaf from 'Colín V-33' seedlings

Nora Virginia Useche-Carrillo[(1)], Alejandro Facundo Barrientos-Priego[(1)], Carlos Alberto Núñez-Colín[(2)], Eduardo Campos-Rojas[(1)], Juan Ayala-Arreola[(1)].

[1]Posgrado en Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5 carr. México-Texcoco, Texcoco, Estado de México, México. C.P. 56230.

[2]Programa de Biotecnología, Universidad de Guanajuato. Mutualismo 303, Col. La Suiza, Celaya, Guanajuato, México. C. P. 38060.

RESUMEN

Se describe la estructura anatómica y fisiológica de tallo y hoja del aguacate 'Colín V-33' a partir de muestras provenientes de plantas obtenidas de semilla con la finalidad de identificar genotipos y parámetros de selección temprana en un programa de mejoramiento de portainjertos para aguacate. Se usaron 89 plantas de 12 meses de edad, donde se evaluó un total de 25 variables anatómicas de tallo y hoja, así como fisiológicas de hoja. Se realizó un análisis de agrupamiento que generó un dendrograma jerárquico que sugirió seis grupos de plantas. Asimismo, de las 25 variables, ocho fueron seleccionadas como discriminantes al realizarle un análisis discriminante canónico, las variables que más discriminaron para el primer componente canónico fueron: diámetro de tallo y densidad de vasos de xilema, para el segundo: grosor de la epidermis del tallo, temperatura de la hoja y longitud de estoma, mientras que para el tercero: grosor del cambium, tasa de transpiración y conductancia estomática. Los genotipos presentaron una gran variación entre los grupos, las características indicaron que los genotipos del Grupo 4 presentaron algunas que podrían estar relacionados con plantas de porte bajo o enanas (menor

diámetro de tallo, alta densidad de vasos de xilema, mayor tasa de transpiración y conductancia estomática). En contraste con los genotipos del Grupo 3 los cuales presentaron características opuestas en las variables anteriores, pudiéndose asociar con plantas vigorosas. Las características anatómicas de tallo mostraron estar altamente relacionadas con el comportamiento del porte de plantas de aguacate. Asociar genotipos con variables fisiológicas y anatómicas en hoja y tallo puede tener gran valor para la selección de portainjertos en una etapa temprana de desarrollo.

Palabras clave: *Persea americana* Mill., anatomía de tallo, vasos de xilema, intercambio gaseoso, conductancia estomática, transpiración.

ABSTRACT

The anatomical and physiological structure of the ‘Colín V-33’ avocado stem and leaf is described from samples from plants obtained from seed in order to identify genotypes and early selection parameters in a rootstock improvement program for avocado. 89 plants of 12 months of age were used, where a total of 25 anatomical variables of stem, leaf, and physiological of leaf were evaluated. A cluster analysis was conducted that generated a hierarchical dendrogram that suggested six groups of plants. Furthermore, from the 25 variables, eight were selected as discriminant when performing a canonical discriminant analysis, the variables that most discriminated for the first canonical component were: stem diameter and density of xylem vessels, for the second: thickness of the stem epidermis, temperature of the stem leaf and stomata length, while for the third: thickness of the cambium, transpiration rate, and stomatal conductance. The genotypes showed a great variation between the groups, the characteristics of these indicated that the genotypes of Group 4 showed some that could be related to small or dwarf plants (smaller stem diameter, high density of xylem vessels, higher rate of transpiration and stomatal conductance). In contrast to the genotypes of Group 3 which presented opposite characteristics in the previous variables, being able to associate with vigorous plants. The anatomical traits of the stem showed to be highly related to the behavior of the avocado

plants. Associating genotypes with physiological and anatomical variables in leaf and stem can have great value for the selection of rootstocks at an early stage of development.

Keywords: *Persea americana* Mill., stem anatomy, xylem vessels, gas exchange, stomatal conductance, transpiration.

INTRODUCCIÓN

Los árboles frutales utilizados para el establecimiento de plantaciones están formados por una combinación variedad/portainjerto, donde la variedad aporta la parte área y el portainjerto proporciona el sistema radical del árbol (Dolgun, Yildirim, Polat, Yildirim & Aşkin, 2009). Actualmente los portainjertos proporcionan un manejo simplificado de las plantaciones, incrementan la productividad, aseguran la supervivencia de los árboles, controlan el vigor confiriendo enanismo y permitiendo el uso de altas densidades de siembra y el balance hídrico de la planta (Solari, Perniceb & Dejonga, 2006), influyen en los atributos cualitativos y nutricionales de los frutos (Remorini et al., 2008), también influyen en el desarrollo del injerto, así como su adaptación a diferentes tipos de suelo, condiciones de estrés hídrico y otras condiciones climáticas (Giorgi et al., 2005), así como tolerancia a estrés por sales (Massai, Remorini & Tattini, 2004).

Por lo expuesto anteriormente, la selección del portainjerto y el cultivar o variedades a explotarse es una decisión económicamente importante, ya que de las combinaciones variedad/portainjerto dependerá el grado de productividad y calidad de la producción (Pinochet, 2010), dichas combinaciones están en función del grado de afinidad en términos de conexiones vasculares entre el injerto y el portainjerto, debido a que la regeneración vascular es un proceso complejo que incluye la diferenciación del xilema y floema (Aloni, Cohen, Karni, Aktas & Edelstein, 2010).

La producción de aguacate en México está fundamentada en el uso de portainjertos derivados de semilla los cuales generan árboles de gran tamaño que al pasar del tiempo dificultan el manejo agronómico de los mismos; por esta razón, una de las prioridades en la investigación de aguacate es encontrar cultivares enanos que sean altamente productivos, con buena calidad de fruta y resistentes a plagas y enfermedades a fin de establecer plantaciones de alta densidad y reducir costos de producción (Sánchez-Colín, Rubí-Arriaga & De La Cruz-Torres, 1992).

El uso de portainjertos en el cultivo intensivo de aguacate es de gran importancia; han sido reportados portainjertos con capacidad para influir en el tamaño del árbol y su productividad (Bergh & Whitsell, 1962). Patrones potencialmente enanizantes como 'Wilg', 'Ryan', 'Colin V-33' se han evaluado frente a 'Duke 7', por su capacidad para limitar el crecimiento de 'Hass'.

El aguacate 'Colín V-33' es una selección mexicana que tiene bajo vigor y un hábito de crecimiento expandido (Roe, Conradie & Köhne, 1995), considerado como un posible portainjerto enanizante ya que ha sido utilizado como injerto intermedio en la reducción de 43 % de la altura de árboles de 'Fuerte' (Barrientos, López & Sánchez, 1987) y 'Hass' (Barrientos-Villaseñor, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí & Muñoz-Pérez, 1999). Por otra parte, dada la variabilidad genética para altura de los segregantes de este cultivar (Rubí, 1988), lo hace un material valioso para mejoramiento de portainjertos enanizantes de aguacate. Al respecto, Barrientos-Priego et al. (1992) han encontrado que este cultivar produce individuos enanizantes cuando es utilizado como portainjerto derivado de semilla.

Se ha estado trabajando principalmente con 'Colín V33' para la selección de portainjertos enanos que satisfagan las necesidades de los nuevos sistemas de producción, donde se ha propuesto como posible índice de pre-selección la densidad de estomas (Barrientos-Pérez & Sánchez-Colin, 1982; Barrientos-Priego & Sánchez-Colín, 1987).

Para determinar la condición hídrica de la planta y su productividad, se pueden medir una serie de indicadores fisiológicos y caracteres anatómicos y morfológicos del tallo. A nivel fisiológico se puede estudiar el intercambio de gases (Vilagrosa et al., 2010). Para determinar los mecanismos de afinidad entre variedad/portainjerto se puede estudiar la estructura anatómica de xilema (Toure et al., 2010; Leal-Fernández et al., 2013).

Las características anatómicas de tamaño de elementos de vaso y los porcentajes de xilema y floema, en tallos principales de frutales, son importantes para poder definir la cantidad de agua que pueda transportarse a través de ellos, ya que a medida que los porcentajes de estos tejidos son mayores y el diámetro de elementos de vaso menores, la cantidad de agua transportada será mayor, por lo tanto, habrá una mejor adaptación de las plantas a condiciones de alta humedad (Vasconcellos & Castle, 1994; Reyes-Santamaría, Terrazas, Barrientos-Priego & Trejo, 2002).

Reyes-Santamaría, Terrazas, Barrientos-Priego & Trejo (2002) encontraron presencia de elementos de vasos con diámetros menores, para aquellos genotipos de aguacate que tienen una menor vulnerabilidad a sequía. La densidad estomática (DE) y el grosor de la epidermis son características que pueden estar relacionadas con la tolerancia a sequía (Baas, 1982), al ser las características anatómicas más expuestas de la planta, que representan el último eslabón del torrente transpiratorio hacia la atmósfera (Faust, 1989).

El uso de portainjertos de semilla de aguacate tipo local o “criollo” es muy común, pero pocas veces estudiado desde el punto de vista anatómico y fisiológico tanto a nivel de tallo como de la hoja, variables que pueden ser útiles para entender su papel al ser injertados. El objetivo de esta investigación fue describir la estructura anatómica y fisiológica del tallo y la hoja de plantas obtenidas de semilla de aguacate ‘Colín V-33’, a fin de seleccionar individuos contrastantes a nivel de plántula.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en un invernadero del Campo Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, en Chapingo, Estado de México, localizado a 19°29’25.7’’ LN y 98°52’24.5’’ LO con una altitud de 2240 msnm.

Material vegetal

Se utilizaron 89 plantas de aguacate ‘Colín V-33’, provenientes de semilla las cuales fueron donadas por el Banco de Germoplasma de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C. localizado en Coatepec Harinas, Estado de México. Las semillas fueron establecidas en bolsa negra de calibre 600 de 26 cm x 35 cm con perforaciones en el primer tercio inferior empleando como sustrato suelo, perlita y composta (3:1:1; v:v:v), se regaron dos veces por semana, y fueron ubicadas en un invernadero de cristal con temperaturas oscilantes entre 30 y 48 °C.

Variables de intercambio de gases (variables fisiológicas de hoja)

A cada una de las plantas se le seleccionó la hoja número once contada de la base hacia el ápice de la planta, completamente expandida y sana, tal como lo recomendaron Barrientos et al. (2003). Una vez marcada se evaluaron las variables tasa de asimilación de CO_2 (A), tasa de transpiración (E), temperatura de la hoja, concentración interna de CO_2 y conductancia estomática. Se realizó una medición puntual entre las 11:00 y las 13:30 horas del día con un analizador de gases infrarrojo (modelo CI-340, CID Bio-Science). Esto se realizó durante los días 16, 17 y 19 del mes de septiembre del año 2017 y la toma del dato puntual se realizó en el mismo orden de planta cada día. Los tres valores obtenidos se promediaron.

Se calculó el índice de eficiencia de uso de agua (WUE) basado en las variables asimilación de CO_2 (A) y tasa de transpiración (T), mediante la fórmula WUE = A/T

Variables anatómicas en hoja

Después de haber tomado las variables de intercambio de gases, en la misma hoja previamente marcada, se obtuvo una impresión del envés de la parte media de la hoja con silicón para impresiones dentales (Exactoden). Mediante la aplicación de barniz transparente para uñas sobre la impresión (negativo) se obtuvo la impresión positiva, la cual se colocó sobre un portaobjeto.

En las impresiones positivas de cada muestra se calculó el área con un micrómetro objeto, se determinó la densidad estomática (DE) por mm^2 y densidad de células epidérmicas (DCE) por mm^2. Dichas variables fueron evaluadas en cinco campos [40x de objetivo y 10x de ocular, Ayala-Arreola, Barrientos-Priego, Colinas-León, Sahagún-Castellanos & Reyes-Alemán (2010)] en un microscopio Motic B3 Profesional Series, con la adaptación de una cámara Moticam 480 con un adaptador de 16 mm. Sumado a ello, se midieron 10 estomas en cada muestra. Los conteos de estomas, células epidérmicas y medición de longitud de estomas se realizaron con la ayuda del analizador de imágenes ImageJ 1.52a.

Con toda esta información se calculó el índice estomático (IE) que es igual a: IE = [DE/(DE+DCE)] x 100.

Variables anatómicas de tallo

Se obtuvieron muestras de tallo de las plantas de aproximadamente 1 cm cada una, las cuales se fijaron en etanol 96 %:ácido acético glacial 100 % (2:1; v:v) y se procesaron en un cambiador automático de tejidos (Tissuematon Fisher) con cellosolve y xileno, para transferirse a parafina (55 °C) permaneciendo 72 horas dentro de la estufa. Se elaboró el taquete y pirámide de parafina de acuerdo con Sass (1968). En un micrótomo rotatorio (American Optical, modelo 820), se realizaron cortes transversales con grosor de 10 µm, y su tinción se realizó con safranina y verde fijo (Sass, 1968). Para después ser montados en porta y cubreobjetos, mediante adhesivo Haupt y formol al 10 %.

Se observaron 15 campos en cada preparación por repetición (tres repeticiones). Para lo cual se utilizaron los objetivos 4x, 10x y 40x según el caso, en un microscopio Motic B3 Profesional Series, con la adaptación de una cámara Moticam 480 con un adaptador de 16 mm se obtuvieron imágenes digitales que guardaron en formato jpg. Se calculó el área de las imágenes con un micrómetro objeto y se determinó: estratos celulares de los tejidos y las dimensiones de elementos de vaso. Estas mediciones se realizaron con la ayuda del analizador de imágenes ImageJ 1.52a.

Los tejidos evaluados fueron: epidermis, parénquima, fibras de floema, floema, cambium, xilema y médula. Donde se midió el espesor de cada capa y el diámetro total del tallo. Para las dimensiones de xilema se obtuvo: número de elementos de vaso por área (densidad de vasos), área de elemento de vaso, eje mayor de elemento de vaso, eje menor de elemento de vaso, espesor de pared celular de dos elementos de vaso contiguos, índice de redondez (IR) de vaso y diámetro Feret.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de agrupamiento utilizando el método de aglomeramiento de varianza mínima de Ward para generar un dendrograma jerárquico (Núñez-Colín & Escobedo-López, 2011). El dendrograma resultante fue dividido de acuerdo con el pseudo-estadístico t^2 de Hotelling (Johnson, 1998). Se realizó un análisis discriminante canónico (ADC) con la distancia de Mahalanobis para determinar las variables más discriminantes con mayor importancia que describen a los grupos (Núñez-Colín y Escobedo-López, 2014). Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SAS V.9.2 (SAS Institute, 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el propósito de explorar la homogeneidad dentro de cada variable evaluada y con base en los coeficientes de variación (CV), se determinó que las variables fisiológicas de hoja: tasa de asimilación de CO_2, conductancia

estomática y el índice de eficiencia de uso de agua (WUE), fueron las características con mayor variación (Cuadro 1), presentando CV de 60.84 %, 57.65 % y 62.5 %, respectivamente, siendo estas características pocos estables dentro de las plantas estudiadas (más heterogéneas). Por el contrario, todas las variables anatómicas de tallo y hoja presentaron menores coeficientes de variación por debajo de 28 %, por lo que se podrían considerar variables más homogéneas.

Cuadro 1. Valores medios de algunas variables anatómicas de hoja y tallo, y fisiológicas de hoja de plántulas derivadas de 'Colín V-33'.

Variable	Máximo	Media	Mínimo	CV (%)
Epidermis (µm)	1.72	1.12	0.74	18.43
Parénquima (µm)	36.00	19.79	12.48	21.66
Fibras floema (µm)	22.96	15.99	9.19	20.36
Floema (µm)	66.46	39.72	21.46	22.56
Cambium (µm)	10.69	7.14	4.24	21.01
Xilema (µm)	115.22	76.05	28.40	25.42
Médula (µm)	98.49	60.02	19.41	27.20
Ø Tallo (µm)	197.78	152.08	107.85	14.36
Densidad de vasos por área (vasos·µm^{-2})	6.13	3.11	1.73	25.20
Área vaso (µm^2)	2688.49	1868.91	1096.34	16.99
Eje mayor (µm)	40.59	29.40	20.27	14.68
Eje menor (µm)	22.80	17.63	12.05	15.04
Espesor de pared celular de dos vasos (µm)	3.57	2.80	2.19	11.06
Índice de redondez	0.59	0.35	0.18	24.03
Ø Feret	87.80	49.53	30.63	18.48
Temperatura de la hoja (°C)	28.53	26.52	23.23	4.47
Tasa de asimilación de CO_2 (umol·m^{-2}·s^{-1})	3.97	1.28	-0.06	**60.84**
Tasa de transpiración (mmol·m^{-2}·s^{-1})	2.00	0.89	0.32	**45.69**
Conductancia estomática (mmol·m^{-2}·s^{-1})	105.18	33.04	9.33	**57.65**
Concentración interna CO_2 (ppm)	352.87	232.58	67.33	20.53
WUE	4.69	1.56	-0.19	**62.50**
Densidad estomática (estomas·mm^{-2})	317.65	190.66	105.88	19.80
Densidad células epidérmicas (células·mm^{-2})	1267.65	818.88	582.35	17.56
Índice estomático (%)	25.16	19.03	11.78	13.89
Longitud de estoma (µm)	19.64	15.99	13.11	8.60

WUE: Índice de eficiencia de uso de agua. CV: coeficiente de variación.

Análisis de agrupamiento

Basados en el pseudo-estadistico t^2 de Hotelling (Figura 1), el agrupamiento por el método de Ward mostró la identificación de seis grupos de

plantas (Figura 2). El Grupo 1 integrado por 21 plantas, el Grupo 2 por 9, el Grupo 3 con 13, el Grupo 4 con 13, el Grupo 5 con 16 y el grupo 6 con 17 plantas (Cuadro 2).

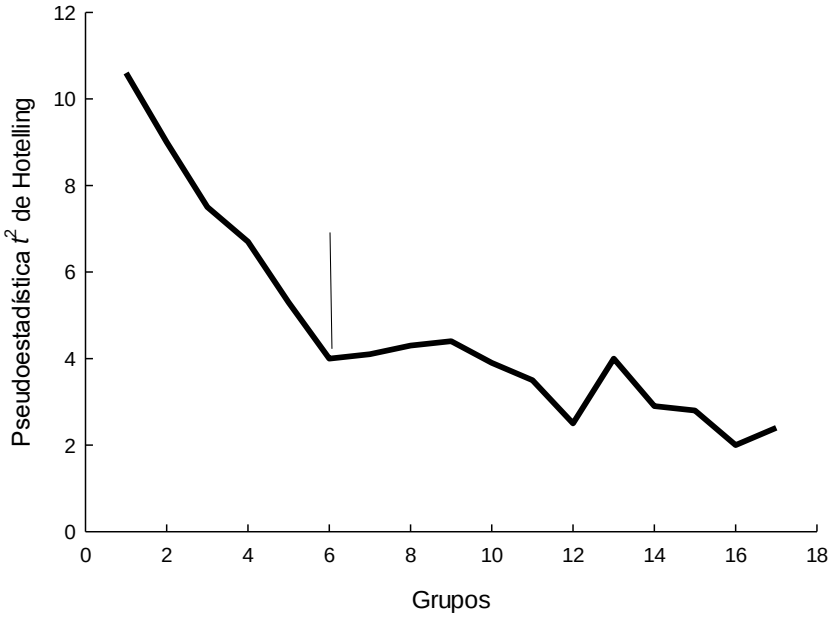


Figura 1. Pseudo-estadístico t^2 de Hotelling y el número recomendado de grupos como una prueba de la división del dendrograma usando variables fisiológicas y anatómicas de hoja y tallo de 89 plantas derivadas de semilla de aguacate 'Colín V-33'.

Cuadro 2. Grupos formados de acuerdo con el análisis de conglomerado con 89 plantas derivadas de semilla de aguacate 'Colín V-33', derivadas de características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja.

	Plantas que lo conforman
Grupo 1	16, 103, 106, 113, 118, 121, 126, 129, 131, 133, 138, 139, 142, 143, 145, 146, 147, 148, 150, 152, 156.
Grupo 2	1, 73, 110, 112, 137, 141, 144, 157, 159.
Grupo 3	5, 13, 14, 21, 22, 23, 57, 72, 74, 80, 86, 96, 123
Grupo 4	8, 18, 65, 76, 81, 85, 88, 93, 105, 127, 155, 160, 162
Grupo 5	3, 7, 10, 17, 19, 28, 32, 33, 41, 52, 56, 77, 78, 79, 82, 111.
Grupo 6	62, 87, 92, 99, 101, 104, 107, 114, 115, 117, 119, 120, 122, 124, 128, 130, 158.

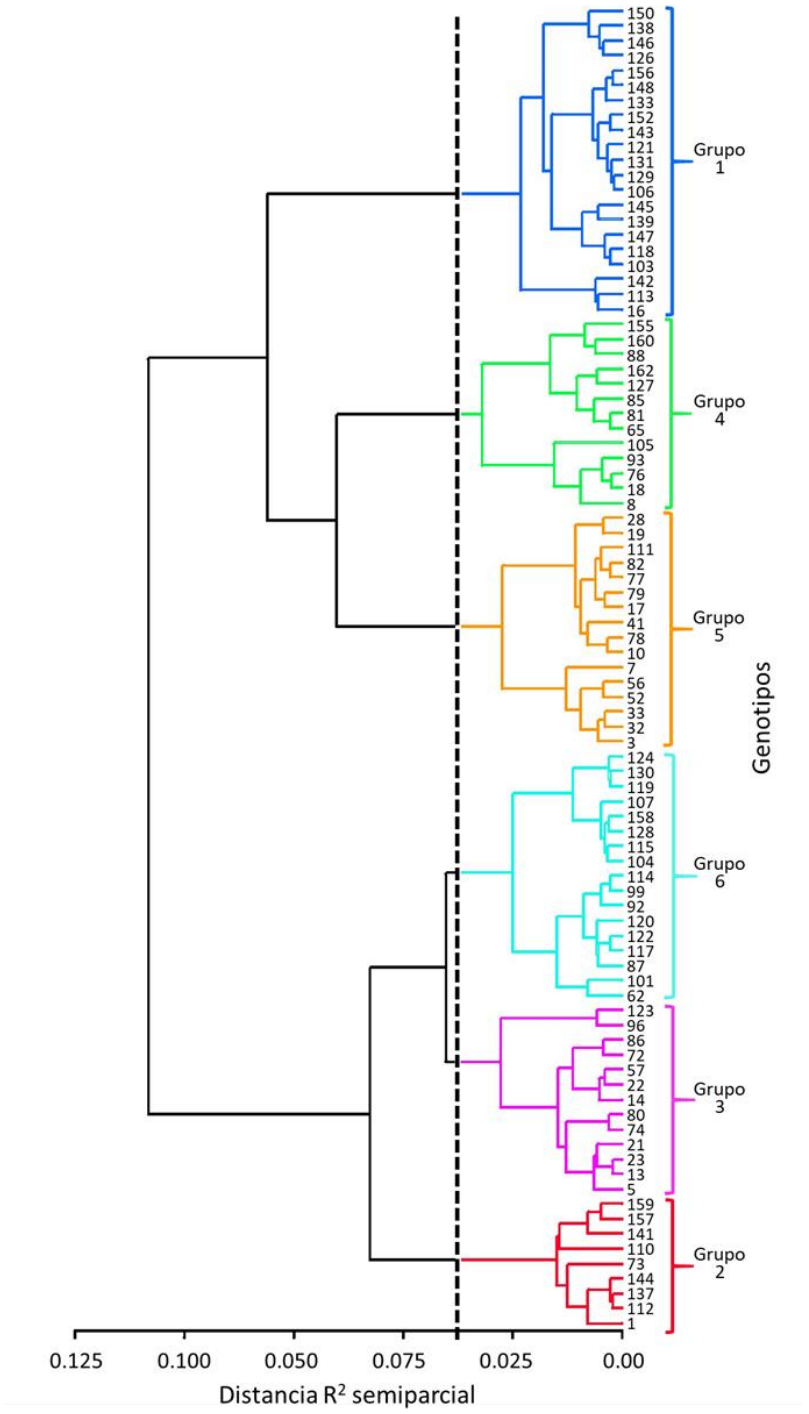


Figura 2. Agrupación por el método de Ward en seis grupos formados por las características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja de plantas de aguacate proveniente de semilla 'Colín V-33'. La línea negra punteada representa el corte del dendrograma según el pseudo-estadístico t^2 de Hotelling.

El dendrograma obtenido dónde se usó una partición de seis grupos aproximadamente a una distancia de corte R^2 semiparcial cercana a 0.050 (Figura 1). La distancia mayor corresponde al Grupo 4 corroborando que es el grupo diferente al resto, lo cual se confirmó también con el análisis canónico, así como la separación del resto de los grupos, esto conforme a las características ya discutidas anteriormente.

Análisis Discriminante Canónico (ADC):

Para este análisis se incluyó a todas las plantas y variables evaluadas en este estudio, donde solamente fueron necesarios tres componentes canónicos para explicar la variabilidad existente entre grupos, las cuales acumularon el 84.5 % de la variación total (Cuadro 3). Los valores obtenidos de las correlaciones canónicas en las tres primeras funciones canónicas indicaron que las variables discriminantes permiten diferenciar muy bien los grupos.

Cuadro 3. Valores propios del analisis discriminante canónico de variables anatómicas de tallo y hoja y variables fisiologicas de hoja de 89 plantas de aguacate derivadas de semilla de ‘Colín V-33’.

Componente canónico	Valor propio	Varianza (%)	Varianza acumulada (%)	Correlación Canónica	*F* calculada aproximada	*P>F*
1	4.7504	39.91	39.91	0.909	4.93	<0.0001
2	3.4405	28.90	68.81	0.880	4.02	<0.0001
3	1.8683	15.69	84.50	0.807	3.09	<0.0001
4	1.3703	11.51	96.01	0.760	2.45	<0.0001
5	0.4746	3.99	100	0.567	1.42	0.1419

El primer componente canónico (CC) explicó el 39.91 % de la variabilidad total (Cuadro 3) y la estructura canónica total (Cuadro 4) detectó a las variables: diámetro de tallo y densidad de elementos de vaso, como las que diferenciaron con mayor énfasis a los grupos. Altos valores de estas variables en el CC 1 identificó a plantas con mayor diámetro de tallo y mayor número de elementos de vaso por área estudiada (densidad de elementos de vaso). Este representó la capacidad del sistema de conducción para suministrar agua debido a la densidad de elementos de vaso presente, dicha variable se fue muy ligada al

ambiente en el cual se desarrollaron las plantas. Generalmente plantas con un mayor número de elementos de vaso relativamente pequeños están asociados a genotipos resistentes a sequía (Vasconcellos & Castle, 1994; Reyes-Santamaría, Terrazas, Barrientos-Priego & Trejo, 2002; Núñez-Colín, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, & Nieto-Ángel, 2006).

Cuadro 4. Coeficientes canónicos totales del análisis discriminante canónico (ADC) de características anatómicas del tallo y, características anatómicas y fisiológicas de la hoja de plantas derivadas de semilla del aguacate 'Colín V-33'. Los valores más altos se presentan en letras negritas en los tres componentes canónicos.

Variable estudiada	Can 1	Can 2	Can 3	Can 4	Can 5
Epidermis (µm)	0.166274	**0.677758**	0.107810	-0.136872	0.076201
Parénquima (µm)	0.250557	0.442521	-0.254777	-0.069388	0.232325
Fibras floema (µm)	0.431579	0.577674	0.439686	-0.030758	0.020814
Floema (µm)	0.432130	-0.365082	0.103285	0.028883	0.067597
Cambium (µm)	0.136514	-0.145255	**0.545261**	0.168825	-0.111704
Xilema (µm)	0.408444	-0.551603	-0.038947	0.244313	-0.159389
Médula (µm)	0.061974	0.521382	0.194067	0.087974	-0.233069
Ø Tallo (µm)	**0.601144**	-0.122358	0.233650	0.369948	-0.235378
Densidad de vasos por área (vasos·µm^{-2})	**-0.642113**	0.285704	-0.040889	-0.295962	0.234301
Área vaso (µm^2)	0.198248	0.296278	0.035828	0.557918	0.230066
Eje mayor (µm)	0.540765	-0.053647	-0.094319	0.682230	0.145237
Eje menor (µm)	0.464509	0.339487	0.238300	0.596176	0.043128
Espesor de pared celular de dos vasos (µm)	0.262160	0.553793	0.219939	0.168747	-0.051240
Índice de redondez	0.521700	-0.516643	-0.056714	0.381362	-0.115487
Ø Feret	-0.415188	0.247956	-0.183468	-0.143826	0.263973
Temperatura de la hoja (°C)	-0.055325	**0.671497**	0.197631	-0.080977	0.002190
Tasa de asimilación de CO_2 (µmol·m^{-2}·s^{-1})	-0.346322	0.209754	-0.090718	0.653934	-0.383860
Tasa de transpiración (mmol·m^{-2}·s^{-1})	-0.538189	0.110232	**0.546988**	0.242327	0.023917
Conductancia estomática (mmol·m^{-2}·s^{-1})	-0.530059	-0.016900	**0.502987**	0.237708	0.022604
Concentración interna CO_2 (ppm)	-0.035307	-0.155754	0.408420	-0.518668	0.491616
WUE	0.010946	0.092531	-0.434341	0.556483	-0.488497
Densidad estomática (estomas·mm^{-2})	0.059033	-0.043825	0.165589	0.198190	0.023354
Densidad células epidérmicas (células·mm^{-2})	-0.032255	0.110568	0.025203	-0.166117	0.273310
Índice estomático (%)	0.098199	-0.132837	0.100880	0.400103	-0.233939
Longitud de estoma (µm)	0.087852	**0.636119**	-0.014346	-0.140672	-0.173689

WUE: Índice de eficiencia de uso de agua. PC: pared celular.

El CC 2 representó el 28.90 % de la variación total y estuvo asociado a las variables: epidermis, temperatura de la hoja y longitud de estoma. La variable anatómica de tallo (grosor de epidermis) presente en el CC 2 está asociada a la resistencia a sequía (Baas, 1982), que presentó cada grupo, y es posible relacionarla como adaptaciones adquiridas, para tolerar las condiciones ambientales prevalecientes. Por su parte, el tamaño de estomas es una de las variables anatómicas de hoja más sensible al cambio en las condiciones ambientales (Hetherington & Woodward, 2003). En consecuencia, estas características pueden considerarse como representativas de la adaptación al medio ambiente de la planta que, como un rasgo constante de valor taxonómico, de ahí la relación entre estas dos variables anatómicas (epidermis y longitud de estoma) con la variable temperatura del aire.

El CC 3 estuvo asociado a las variables grosor del cambium, tasa de transpiración y conductancia estomática, mayormente representado por variables fisiológicas de hoja. La conductancia se refiere al control ejercido por estomas sobre la tasa de transpiración, representando la capacidad que tiene una molécula de agua de difundirse a través de la hoja por unidad de tiempo. Una conductancia estomática menor, puede ser la explicación de una menor asimilación de CO_2 y a su vez una menor tasa de transpiración (Sholefield, Walcott, Kriedemann & Ramadasan,1980; Barrientos-Villaseñor, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí & Muñoz-Pérez, 1999)

El tamaño de estoma es considerado una variable ecofisiológica clave sobre la conductancia estomática (Holland & Richardson, 2009), es por ello por lo que puede considerarse el uso de la conductancia estomática como una prueba rápida en la selección de genotipos, como una medida indirecta de la densidad estomática, puesto que esta puede ser también una forma de realizar una separación de genotipos hacia porte bajo como lo proponen Barrientos & Sánchez (1987).

La prueba de significación de *F* de la distancia de Mahalanobis (Cuadro 5) indicó que existen diferencias altamente significativas entre los grupos de plantas a un nivel de *P*<0.0001.

Con el propósito de tener una mejor y más clara visualización (distribución) de los grupos de plantas se realizó la representación gráfica en el primer plano factorial de los dos primeros componentes canónicos (Figura 3).

Cuadro 5. Distancia de Mahalanobis y su significancia, de características anatómicas de tallo y hoja y características fisiológicas de hoja de 89 plantas derivadas de semilla de aguacate 'Colín V-33'

Grupo	1	2	3	4	5	6
1	-					
2	18.20***	-				
3	24.83***	36.28***	-			
4	37.84***	39.65***	55.11***	-		
5	22.39***	34.87***	16.52***	29.83***	-	
6	12.92***	22.02***	16.19***	36.78***	23.52***	-

***Significativo a *P*<0.0001 de probabilidad.

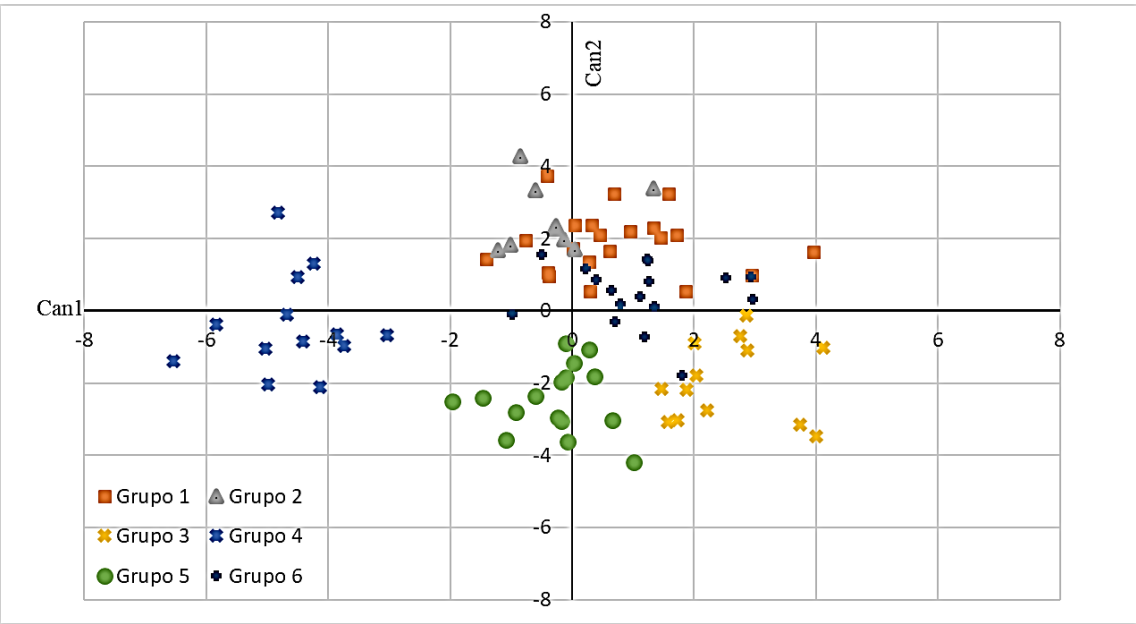


Figura 3. Dispersión de los seis grupos de plantas derivadas de aguacate cv. Colín V-33 en el primer plano factorial de las dos primeras componentes canónicas del Análisis Discriminante Canónico, derivadas de características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja.

La representación gráfica de los grupos en el primer plano factorial (Figura 3) dio como resultado la distribución de los grupos en el espacio, en las dos primeras componentes canónicas (Can 1 y Can 2). En ellas el Grupo 4 es el único que se encuentra aislado (fue diferente), del resto de los grupos de plantas, encontrándose la mayoría de sus plantas en el cuadrante inferior izquierdo.

Los grupos 1, 2 y 6 se encuentran conglomerados probablemente porque son plantas (genotipos), anatómicamente y/o fisiológicamente similares de acuerdo con las variables evaluadas en este estudio (Figura 3). Estos grupos son los que presentan dispersión en ambos planos por lo que se consideran los grupos más heterogéneos dentro de las plantas estudiadas.

Los grupos 3 y 5 están un poco separados del resto de los grupos, pero entre ellos dos hay cierta cercanía (menor dispersión), lo que pudiera inferirse como grupos parecidos de acuerdo con el comportamiento de las variables evaluadas (Figura 3).

En el patrón de dispersión de las plantas en una gráfica tridimensional formada por los tres componentes canónicos (CC), se observó que las plantas del grupo 4 se separan totalmente del resto de grupos de plantas ubicándose hacia los valores más negativos del CC 1 y del CC 3 (Figura 4), también se observó que los grupos 3, 5 y 6 no se encontraron tan separados del resto de grupos (menos dispersos), como el 4, y si se pudieron diferenciar fácilmente en la gráfica ubicadas hacia los valores positivos del CC 1 y el CC 2; por su parte los grupos más dispersos fueron el 1 y el 2, mezclándose entre ellos, indicando que seguramente tienen características similares. Pudiendo llegar a formar un grupo.

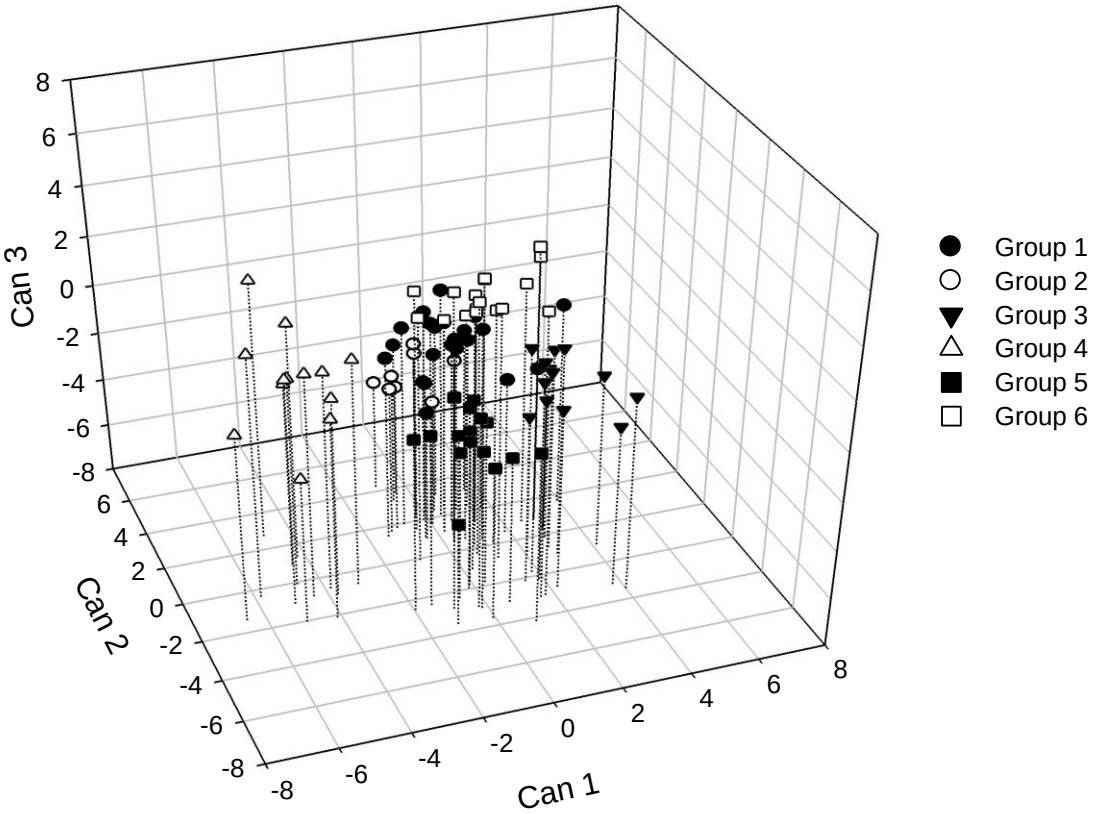


Figura 4. Dispersión de 89 plantas de aguacate ‘Colín V-33’ provenientes de semilla en las tres primeras funciones canónicas con base a variables fisiológicas y anatómicas de hoja y tallo.

El Grupo 1 está formado por plantas con el mayor espesor de epidermis y la mayor longitud de estoma pero la menor conductancia estomática de todos los demás grupos (Figura 5). El grosor de la epidermis es una característica que puede estar relacionada con la tolerancia a sequía según Baas (1982), al ser la característica anatómica más expuesta de la planta junto con la densidad estomática, representando el último eslabón del torrente transpiratorio hacia la atmósfera (Faust, 1989).

Las plantas del grupo 2 se caracterizaron por tener el cambium con menor espesor, altos valores promedio de diámetro de tallo y de longitud de estoma.

El grupo 3 se caracterizó por tener las plantas con mayor diámetro de tallo, menor densidad de elementos de vaso y menor longitud de estoma, valores promedio bajos en transpiración y conductancia estomática. Este grupo de plantas probablemente tenga mayor vulnerabilidad a sufrir problemas fisiológicos como la sequía según lo reportado por Reyes-Santamaría, Terrazas, Barrientos-Priego, & Trejo (2002).

Las plantas del grupo 4 presentaron los menores valores para diámetro de tallo, pero la mayor densidad de elementos de vaso de xilema, también la mayor tasa de transpiración y la mayor conductancia estomática, siendo este el grupo que se separó totalmente del resto (Figura 2). Pudiese estar indicando estos resultados, que las plantas pertenecientes a este grupo son más eficientes en el uso del agua, pues al disminuir la apertura y cierre estomático contribuye a disminuir la perdida de agua por evapotranspiración (Núñez-Colín, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez & Nieto-Ángel, 2006). Resultados anteriores (Sholefield, Walcott, Kriedemann & Ramadasan,1980; Barrientos-Villaseñor, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez, Peña-Lomelí & Muñoz-Pérez, 1999) señalaron que existe correlación positiva entre las variables asimilación de CO_2, conductancia estomática y tasa de transpiración, así un incremento en la conductancia estomática promueve el incremento en la tasa de transpiración y en la tasa fotosintética (Nava, 2009).

El grupo 5 estuvo representado por plantas con el menor grosor de la epidermis, la menor temperatura de la hoja, valores bajos de conductancia estomática y transpiración. El Grupo 6 (Figura 5), se caracterizó por tener el espesor de cambium mayor, altos valores promedio en las variables diámetro de tallo, espesor de epidermis, temperatura de la hoja, longitud de estoma, pero valores bajos de densidad de elementos de vaso, transpiración y conductancia estomática.

Los grupos 1 y 6 fueron los más cercanos entre sí, de acuerdo con las distancias de Mahalanobis (Cuadro 4), mientras que los grupos más distantes fueron el 3 y el 4 (Figura 3).

De los tejidos de conducción en los tallos para cualquier tipo de planta, el tamaño de los elementos de vaso del xilema, el porcentaje del xilema y del floema, y la relación entre xilema y floema, son características anatómicas que definen la capacidad de transporte de agua en las plantas, y se ha observado en especies arbóreas que, a medida que el porcentaje de los tejidos vasculares aumenta y el diámetro de los vasos es menor, la cantidad de agua transportada es mayor, y esta puede ser un indicador de mayor adaptación de las plantas a condiciones de baja humedad en el suelo (Vasconcellos & Castle, 1994; Reyes-Santamaría, Terrazas, Barrientos-Priego, & Trejo, 2002).

Diversos autores compararon árboles normales (vigorosos) con árboles enanos de cítricos, olivo, mango y *Copaifera langsdorfi* encontrado que los árboles enanos se caracterizan por tener elementos de vaso estrechos (pequeños) y una mayor densidad de elementos de vaso de xilema (Saeed, Dodd & Sohail., 2010; El Said, Hegazi & Allatif, 2013; Rashedy, El Kheshin & Allatif, 2014; Longui et al., 2014, respectivamente) lo cual también se ha encontrado en aguacate (Reyes-Santamaría, Terrazas, Barrientos-Priego, & Trejo, 2002). Los resultados obtenidos en este estudio indicaron que las plantas del Grupo 4 son las que presentaron mayores densidades de vasos y con ello probablemente, una menor área de estos, aumentando el transporte y confiriendo baja probabilidad de sufrir cavitación y embolismo (Núñez-Colín, Barrientos-Priego, Rodríguez-Pérez & Nieto-Ángel, 2006). Por su parte, Goncalves et al. (2007) y Tombesi, Johnson, Day & Dejong (2010) indicaron que en portainjertos enanizantes de cerezo y durazno, respectivamente, el diámetro de elementos de vaso de xilema es más pequeño y diámetros grandes de elementos de vaso de xilema son encontrados en portainjertos de durazno más vigorizantes (Bruckner & DeJong, 2014). Por todo lo anterior se infiere que los genotipos pertenecientes al Grupo 4 son plantas de porte bajo o con características enanizantes, dicha afirmación se refuerza al encontrar estudios los cuales concluyeron que las plantas de porte intermedio y bajo de forma frecuente presentan menor diámetro de tallo, como es el caso de las plantas del Grupo 4 que presentaron los menores valores promedio de diámetro de tallo

(Figura 5). Dichos resultados muestran una tendencia similar a lo reportado por López-Jiménez y Barrientos-Priego (1987) en árboles de ‘Colín V-33’ donde los troncos en árboles enanos tuvieron una circunferencia y diámetro promedio menor que la de árboles altos.

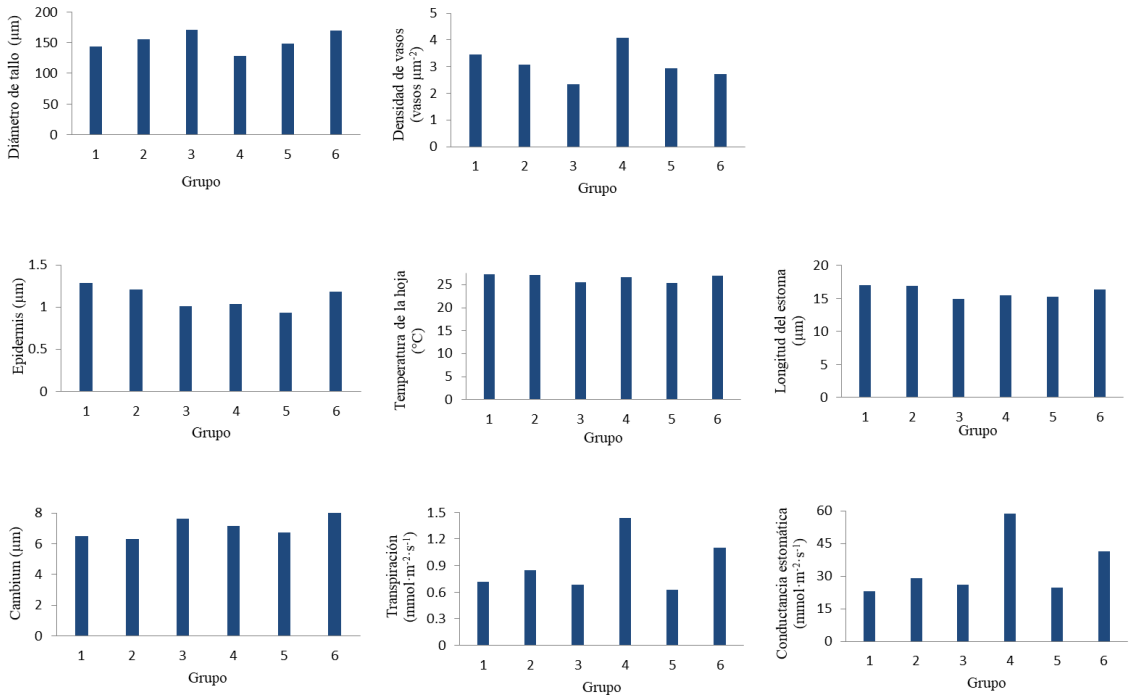


Figura 5. Variables discriminantes de plantas derivadas de semilla de aguacate cv. Colín V-33 en los seis grupos generados conforme al análisis discriminante canónico (ADC) y el agrupamiento Ward, derivadas de características anatómicas y fisiológicas de tallo y hoja.

Los resultados de clasificación muestran que 97.8 % de individuos agrupados originalmente fueron catalogados de forma correcta (Cuadro 6), lo que indicó que los seis grupos con base a esta son consistentes, mostrando la estabilidad de la pertenencia al grupo en el cual fueron ubicados cada uno de los genotipos. Donde solo dos individuos fueron atípicos de su grupo. Estos resultados dan certeza a los análisis realizados y la congruencia de las agrupaciones obtenidas.

Cuadro 6. Resumen de prueba de resubstitución a priori utilizando la función discriminante lineal de plantas de aguacate provenientes de semilla de ‘Colín V-33’ formadas por características anatómicas y fisiológicas, de tallo y hoja.

Número de observaciones y porcentaje clasificado por grupo							
Grupo	1	2	3	4	5	6	Total
1	20*	**1**	0	0	0	0	21
%	95.24	4.76	0.00	0.00	0.00	0.00	100
2	0	9*	0	0	0	0	9
%	0.00	100	0.00	0.00	0.00	0.00	100
3	0	0	12*	0	0	**1**	13
%	0.00	0.00	92.31	0.00	0.00	7.69	100
4	0	0	0	13*	0	0	13
%	0.00	0.00	0.00	100	0.00	0.00	100
5	0	0	0	0	16	0	16
%	0.00	0.00	0.00	0.00	100	0.00	100
6	0	0	0	0	0	17*	17
%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	100	100
Total	20	10	12	13	16	18	89
%	22.47	11.24	13.48	14.61	17.98	20.22	100

*97.8 % de individuos agrupados y clasificados correctamente.

CONCLUSIONES

Las variables: diámetro de tallo, densidad de elementos de vaso, grosor de epidermis, temperatura de la hoja, longitud de estoma, grosor de la capa de cambium, tasa de transpiración y conductancia estomática discriminaron al máximo a los grupos de plantas provenientes de semilla de aguacate ‘Colín V-33’ de manera correcta.

Las principales correlaciones obtenidas fueron: la correlación positiva entre la densidad de elementos de vaso de xilema con la tasa de transpiración y con la conductancia estomática. Estas correlaciones indicaron relación lineal de estas variables, pudiéndose determinar al conocer el valor de una de ellas, de forma indirecta el comportamiento de las otras dos.

Mayor densidad de elementos de vaso de xilema y menores diámetro de tallo parecen ser indicadores de enanismo en plantas de aguacate, por lo que estas características podrían permitir la selección de genotipos con comportamiento de este tipo de crecimiento.

Genotipos del Grupo 4 presentaron características anatómicas y fisiológicas probablemente asociadas con enanismo a diferencia del Grupo 3 que fueron plantas con características anatómicas y fisiológicas típicas de plantas vigorosos.

Literatura citada

Aloni, B., Cohen, R., Karni, L., Aktas, H., & Edelstein, M. (2010). Hormonal signaling in rootstock–scion interactions. *Scientia Horticulturae*, *127*, 119-126.

Ayala-Arreola, J., Barrientos-Priego, A. F., Colinas-León, M. T., Sahagún-Castellanos, J., & Reyes-Alemán, J. C. (2010). Relaciones injerto-interinjerto y características anatómicas y fisiológicas de la hoja de cuatro genotipos de aguacate. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *16*(2), 147-154.

Barrientos-Perez, F., & Sanchez-Colin, S. (1983). Height variability obtained from a new dwarf avocado tree population. *Acta Hoticulturae*, *140*, 163-168.

Barrientos Priego, A. F., & Sánchez Colín, S. (1987). Stomatal density and its relationship with growth habit in avocado. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, *10*, 66-67.

Barrientos P., A. F., López J., A. & Sánchez C., S. (1987). Effect of Colín V-33 as interstock on avocado (*Persea americana* Mill.) growth, cv. Fuerte. *South African Avocado Growers Association Yearbook*, *10*, 62-63.

Barrientos-Priego, A. F. Sánchez-Colín, S. Aguilar-Melchor, J. & López-Jimenez, A. (1992). Selection of avocado dwarfing rootstocks. *Proceedings of the Second World Avocado Congress*, *I*, 515-520

Barrientos-Priego, A. F., Borys, M. W., Trejo, C., & López-López, L. (2003). Índice y densidad estomática foliar en plántulas de tres razas de aguacatero. *Revista Fitotecnia Mexicana*, *26*(4), 285 – 290.

Barrientos-Villaseñor, A., Barrientos-Priego, A. F., Rodríguez-Pérez, J. E., Peña-Lomelí, A. & Muñoz-Pérez, R. (1999). Influencia del interinjerto 'Colin V33' sobre algunos aspectos fisiológicos en aguacatero (*Persea americana* Mill). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *5*, 103-116.

Baas, P. (1982). Systematic phylogenetic and ecological wood anatomy: history and perspectives. In P. Baas (Ed.), *New perspectives in wood anatomy* (Forestry Sciences, vol 1., pp. 23-58). Dordrecht: Springer.

Bergh, B. O., & Whitsell, R. H. (1962). A possible dwarfing rootstock for avocados. *California Avocado Society Yearbook*, *46*, 55-62.

Bruckner, C. H., & Dejong, T. M. (2014). Proposed pre-selection method for identification of dwarfing peach rootstocks based on rapid shoot xylem vessel analysis. *Scentia Horticulturae*, *165*, 404-409.

Dolgun, O., Yildirim, A., Polat, M., Yildirim, F., & Aşkin, A. (2009). Apple graft formation in relation to growth rate feature of rootstocks. *African Journal of Agricultural Research*, *4*(5), 530-534.

El Said, S. H., Hegazi, A. A., & Allatif, A. M. A. (2013). Histological indicators of dwarfism of some olive cultivars. *World Applied Sciences Journal*, *28*(6), 835-841.

Faust, M. (1989). *Physiology of temperate zone fruit trees* (338 p.). New York: Wiley.

Giorgi, M., Capocasa, F., Scalzo, J., Murri, G., Battino, M., & Mezzetti, B. (2005). The rootstock effects on plant adaptability, production, fruit quality, and nutrition in the peach (cv. 'Suncrest'). *Scientia Horticulturae*, *107*, 36-42.

Goncalves, B., Correia, C. M., Silva, A. P., Bacelar, E. A., Santos, A., Ferreira, H. & Moutinho-Pereira. (2007). Variation in xylem structure and function in roots and stems of scion-rootstock combinations of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.). *Trees*, *21*(2), 121-130.

Holland, N., & Richardson, A. D. (2009). Stomatal length correlates with elevation of growth in four temperate species. *Journal of Sustainable Forestry*, *28*(2), 63-73.

Johnson, D. E. (1998). *Métodos multivariados aplicados al análisis de datos* (traducido por H. Pérez Castellanos 566 p.). Distrito Federal: International Thomson Editores.

Leal-Fernández, C., Godoy-Hernández H., Núñez-Colín, C. A., Anaya-López, J. L., Villalobos-Reyes, S., & Castellanos, J. Z. (2013). Morphological response and fruit yield of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) grafted onto different commercial rootstocks. *Biological Agriculture*

& Horticulture, 29 (1), 1–11, http://dx.doi.org/10.1080/01448765.2012.746063

Longui, E. L., Costa, N. O., Cielo-Filho, R., Marcati, C. R., Romeiro, D., Rajput, K. S., Lima, I. L., & Florsheim, S. M. B. (2014). Wood and leaf anatomy of *Copaifera langsdorfii* dwarf trees. *IAWA Journal*, *35*(2), 170-185.

Massai, R., Remorini, D., & Tattini, M. (2004). Gas exchange, water relations and osmotic adjustment in two scion/rootstock combinations of *Prunus* under various salinity concentrations. *Plant and Soil*, *259*, 153-162.

Nava, A., Ramírez, I., Peña, C., Díaz, G., & González, V. (2009). Características del intercambio de gases en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *15*, 119-126.

Núñez-Colín, C. A., Barrientos-Priego, A. F., Rodríguez-Pérez, J. E., & Nieto-Ángel, R. (2006). Variabilidad anatómica de los sistemas de conducción y estomático de genotipos de *Prunus* spp. de diferentes orígenes. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, *41*(2), 233-241.

Núñez-Colín, C. A., & Escobedo-López, D. (2011). Uso correcto del análisis clúster en la caracterización de germoplasma vegetal. *Agronomía Mesoamericana*, *22*(2), 415-427.

Núñez-Colín, C. A., & Escobedo-López, D. (2014). Caracterización de germoplasma vegetal: la piedra angular en el estudio de los recursos fitogenéticos. *Acta Agrícola y Pecuaria*, *1*(1), 1-6.

Pinochet, J. (2010). 'Replantpac' (Rootpac® R), a plum–almond hybrid rootstock for replant situations. *HortScience*, *45*(2), 299–301.

Rashedy, A. A., El Kheshin, M. A., & Allatif, A. A. (2014). Histological parameters related to dwarfism in some mango cultivars. *World Journal of Agricultural Sciences*, *10*(5), 216-222.

Remorini, D., Tavarini, S., Degli., E., Loreti, F., Massai, R., & Guidi, L. (2008). Effect of rootstocks and harvesting time on the nutritional quality of peel and flesh of peach fruits. *Food Chemistry*, *110*, 361-367.

Reyes-Santamaría, I., Terrazas, T., Barrientos-Priego, A. F., & Trejo, C. (2002). Xylem conductivity and vulnerability in cultivars and races of avocado. *Scientia Horticulturae*, *92*, 97-105.

Roe, D. J, Conradie, W., & Köhne, J. S. (1995). Progress with rootstock research at Merensky Technological Services. *South African Gowers' Association Yearbook*, *18*, 10-11.

Rubí Arriaga, M. (1988). Efecto de la aplicación de aminoácidos y elementos menores en el amarre de frutos del cv. Colín V-33. In *Memoria de Actividades de la Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C.* (pp. 69-71). Coatepec Harinas: Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C.

Saeed, M., Dodd, P. B., & Sohail, L. (2010). Anatomical studies of stems, roots and leaves of selected citrus rootstock varieties in relation to their vigor. *Journal of Horticulture and Forestry*, *2*(4), 87-94.

Sánchez-Colín, S., Rubí-Arriaga, M., & De La Cruz-Torres, E. (1992). Selection of dwarf avocado trees within a population of seedlings of cv. Colin V-33. *Proceedings of Second World Avocado Congress* (pp. 527-530). Orange County: California Avocado Society.

Sass, J. E. (1968). *Botanical microtechnique* (3rd ed.; 227 p.) Ames: The Iowa State University Press.

Sholefield, P. B., Walcott, J. J., Kriedemann, P. E., & Ramadasan, A. (1980). Some environmental effects on photosynthesis and water relations of avocado leaves. *California Avocado Society Yearbook*, *64*, 93-105.

Solari, L. I., Perniceb, F., & Dejonga, T. M. (2006). The relationship of hydraulic conductance to root system characteristics of peach (*Prunus persica*) rootstocks. *Physiologia Plantarum*, *128*, 324–333.

Sory Toure, A., Nieto-Ángel, R., Rodríguez-Pérez, J. E., Barrientos-Priego, A. F., Ibáñez-Castillo, L. A., Romanchik K., E., & Núñez-Colín, C. A. (2010). Variación anatómica del xilema en tallo de cultivares de tomate injertado en un tipo criollo. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, *16*(1), 67-76.

Tombesi, S., Johnson, R. S., Day, K.R., & Dejong, T. M. (2010). Relationships between xylem vessel characteristics, calculated axial hydraulic conductance and size-controlling capacity of peach rootstocks. *Annals of Botany*, *105*, 327-331.

Vasconcellos, L.A.B., & Castle, W.S (1994). Trunk xylem anatomy of mature healthy and blighted grapefruit trees on several rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, *119*, 185-194.

Vilagrosa, A., Morales, F., Abadía, F., Bellot, J., Cochard, H., & Gil-Pelegrin, E. 2010. Are symplast tolerance to intense drought conditions and xylem vulnerability to cavitation coordinated? An integrated analysis of photosynthetic, hydraulic and leaf level processes in two Mediterranean drought-resistant species. *Environmental and Experimental Botany*, *69*, 233-242.

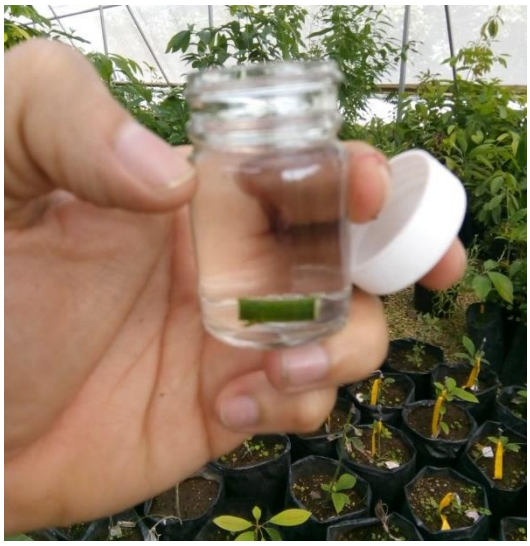
ANEXOS

Anexo 1. Proceso para la obtención de plantas segregantes de aguacate ‘Colín V-33’

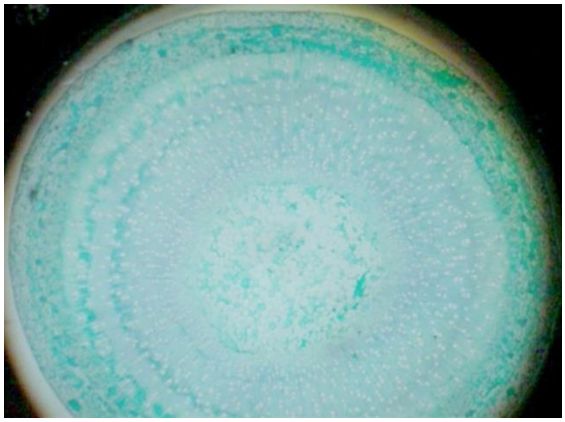
Anexo 2. Marcaje de hoja número once de cada planta y toma de datos de intercambio gaseoso

Anexo 3. Proceso de obtención de fotos para determinación de DE, DCE, IE y longitud del estoma e imágenes de estomas estudiados.

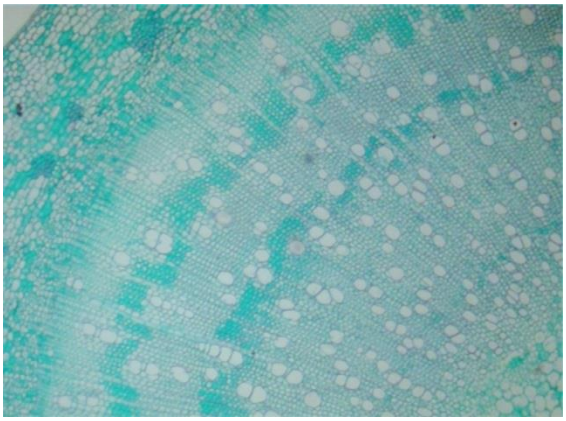
Anexo 4. Secciones de tallo fijadas en alcohol etílico y cortes histológicos montados en portaobjetos



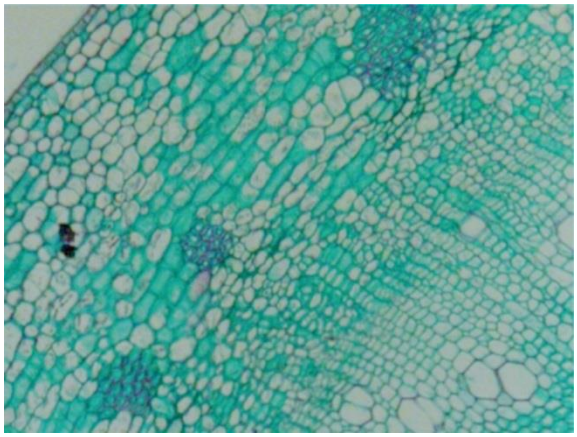
Anexo 5. Cortes transversales de tallo de plantas segregantes de aguacate 'Colín V-33':



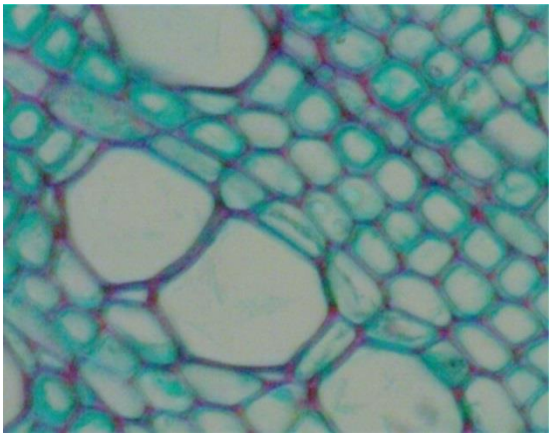
4. Corte histológico a 1.25 X



3. Corte histológico a 4X



2. Corte histológico a 10X



1. Corte histológico a 40X