



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

**POSTGRADO EN RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD**

**FRUTICULTURA**

**MALFORMACION DE RAÍZ EN VIVERO DE PORTAINJERTOS DE  
CÍTRICOS TOLERANTES A VTC. ASPECTOS ANATÓMICOS  
Y FISIOLÓGICOS**

**BEATRÍZ GUILLERMINA ARRIETA RAMOS**

**T E S I S**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL**

**PARA OBTENER EL GRADO DE**

**DOCTORA EN CIENCIAS**

**MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO**

**2010**

La presente tesis titulada: "MALFORMACION DE RAÍZ EN VIVERO DE PORTAINJERTOS DE CÍTRICOS TOLERANTES A VTC. ASPECTOS ANATÓMICOS Y FISIOLÓGICOS" realizada por la alumna Beatriz Guillermina Arrieta Ramos, con la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS  
RECURSOS GENÉTICOS Y PRODUCTIVIDAD  
FRUTICULTURA**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. ANGEL VILLEGAS MONTER

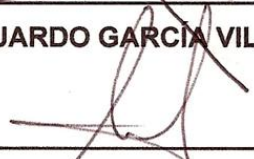
ASESORA:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. MA. DE LAS NIEVES RODRÍGUEZ MENDOZA

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. EDUARDO GARCÍA VILLANUEVA

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. SERGIO SEGURA LEDEZMA

ASESORA:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. LUCERO DEL MAR RUÍZ POSADAS

Montecillo Texcoco, Estado de México. Mayo de 2010

# **MALFORMACION DE RAÍZ EN VIVERO DE PORTAINJERTOS DE CÍTRICOS TOLERANTES A VTC. ASPECTOS ANATÓMICOS Y FISIOLÓGICOS**

**Beatriz Guillermina Arrieta Ramos, Dra.**

**Colegio de Posgraduados, 2010**

Durante el desarrollo de portainjertos en vivero, puede presentarse malformación de raíz, que crece en forma de 'bancal' o realizando un giro de 360°. Cuando son trasplantadas a raíz desnuda, las plantas que presentan este problema son eliminadas, sin embargo, con cepellón, muchos árboles con raíz malformada podrían ser establecidos en huertas comerciales. Se realizó el diagnóstico de la proporción y grado de malformación de raíz en seis portainjertos en dos viveros comerciales. Se determinó anatómicamente el punto donde ocurre la malformación y el efecto de la posición de la semilla en la malformación de la raíz. En vivero se evaluó el grado de malformación de raíz en el desarrollo de las plantas, contenido nutrimental, número y tamaño de estomas y características del xilema. El diagnóstico mostró que se deben eliminar del 27 al 45 % de las plantas al momento del trasplante, dependiendo del portainjerto. La malformación ocurre en raíz y tallo, aún cuando sólo se observe en la raíz. El contenido nutrimental de N (26.5 – 30.6 g kg<sup>-1</sup>), K ( 54.70 – 88.99 g kg<sup>-1</sup>) y Mg (6.55 – 11.86 g kg<sup>-1</sup>); el número (418 – 542 estomas mm<sup>2</sup>) y tamaño de estomas (16.23 18.78 µm); así como la densidad (116 – 179 vasos mm<sup>2</sup>) y diámetro de vasos (21.43 - 33.08 µm) fue diferente entre portainjertos. La malformación incrementó el área foliar, volumen y materia fresca de raíz.

Palabras clave: Portainjertos, Citrus, malformación en raíz, nutrición, vasos, estomas, vivero.

# **ROOT MALFORMATION AT NURSERY IN VTC TOLERANT CITRUS ROOTSTOCKS. ANATOMICAL AND PHYSIOLOGICAL ASPECTS**

**Beatríz Guillermina Arrieta Ramos, Dra.**

**Colegio de Posgraduados, 2010**

Rootstocks growth in nursery can arise root malformation, that it can growth in bench form or in a 360° twist. When they are transplanted in naked roots, the plants that presented this problem are eliminated, however when they are transplanted with plug, many trees with malformed root could be established in commercial orchards. The diagnoses of proportion and degree of root malformation were conducted in six rootstocks in two commercial nurseries. The point of malformation was anatomically determined. The effect of seed position in root malformation was studied. At nursery, the effect of root malformation in plants growth, nutrient content, stomatal number and size and xylem characteristics was evaluated. The diagnosis showed that between 27 to 45 % of plant, must be eliminated at transplanting moment, depending of the rootstock. The malformation occurs in root and stem of plants, even it was observed only in roots. The nutrient content of N (26.5 – 30.6 g kg<sup>-1</sup>), K ( 54.70 – 88.99 g kg<sup>-1</sup>) y Mg (6.55 – 11.86 g kg<sup>-1</sup>); the stomata number (418 – 542 estomas mm<sup>2</sup>) and size (16.23 18.78 µm); like that density (116 – 179 vasos mm<sup>2</sup>) and diameter vessels (21.43 - 33.08 µm) were different between rootstocks. The malformation increased the foliar area and root volume and fresh materia.

*Key words:* Rootstocks, Citrus, root malformation, nutrition, vessels, stomata, nursery.

***“...sí, yo no soy un árbol, soy el dibujo de un árbol, y está bien.  
Porque yo no quiero ser un árbol, sino el significado de un árbol.”***

***Ferit Orhan Pamuk***

***Con infinito amor a mis adorados hijos:  
Gabriela y Carlos***

***A mis padres:  
con eterno amor y agradecimiento***

***Con cariño a mis hermanos:  
Taty, Toño, Pía, Luly, Paco, Salvador,  
Gaby, Eduardo, Gloria, Hugo y Manuel***

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y a la Universidad Autónoma de Nayarit por el financiamiento otorgado para la realización de mis estudios.

Al Dr. Angel Villegas Monter por la dirección técnico-científica del presente trabajo y desempeño como Profesor-consejero.

A la Dra. Ma de las Nieves Rodríguez Mendoza por su valiosa asesoría y calidez humana.

Al Dr. Eduardo García Villanueva por el enriquecimiento del presente trabajo y amistad brindada

Al Dr. Sergio Segura Ledezma y a la Dra. Lucero del Mar Ruíz Posadas por la revisión del presente trabajo y observaciones realizadas.

A la Dra. Amparo Borja de la Rosa por su desinteresado apoyo en el área de anatomía y sus valiosos consejos.

Al Dr. Refugio Espinoza por las facilidades brindadas en el trabajo de laboratorio.

Al Dr. Abel Muñoz por su valiosa orientación en el área de estadística

Al vivero 'Cazones', a la "Fundación Villegas" y a la familia Villegas-Monter por las facilidades otorgadas durante la realización de este trabajo.

A Carlos y a la familia Jiménez-González con el cariño de siempre.

Porque los amigos son como las estrellas, no siempre se ven, pero sabes que están ahí: A Goyo, Leo, Marcos, Arturo, Moy, Piedad, Caro, Raúl, Max, Sofía, Álvaro, Elia, Rosa María y Ana Luisa.

A Lupita, Anita, Ray, Hermila, y a todo el personal de la biblioteca, mi segunda casa.

## CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
ÍNDICE DE CUADROS EN EL ÁPENDICE.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
<b>CAPITULO I</b>	
<b>INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>CAPITULO II</b>	
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b>	4
Portainjertos de cítricos.....	5
Características de los portainjertos.....	6
Tolerancia a enfermedades de los portainjertos de cítricos.....	8
Adaptación de los portainjertos de cítricos a condiciones Edafoclimáticas.....	8
Apomixis.....	10
Poliembrionía en cítricos.....	10
Producción de plantas en vivero.....	12
Sistema radical.....	13
Factores que afectan el desarrollo radical.....	13
Desarrollo radical en portainjertos de cítricos.....	14
Malformación de la raíz.....	16
Intercambio gaseoso: transpiración y fotosíntesis.....	17
Estomas.....	18
Balance hídrico y Conductividad hidráulica.....	19
Tejido conductor.....	21
Obstrucciones en el tejido conductor.....	23
Nutrición mineral.....	23
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b>	27
Diagnóstico: Evaluación del grado de malformación de raíz en plantas en dos viveros comerciales.....	27
Ubicación y material vegetal.....	27
Muestreo.....	27
Experimento 1. Determinación del punto en que ocurre la malformación en las plantas.....	29
Ubicación.....	29
Material vegetal.....	29
Muestreo.....	29
Cortes y tinción.....	29
Experimento 2: Efecto de la posición de la semilla al momento de la	



siembra en la malformación de raíz.....	30
Ubicación.....	30
Material vegetal.....	30
Caracterización de los frutos y las semillas.....	31
Sustrato.....	31
Tratamientos.....	31
Diseño Experimental.....	32
Porcentaje de germinación.....	32
Número de plantas por semilla.....	32
Porcentaje de plantas con malformación en tallo y raíz.....	32
Experimento 3. Desarrollo de plantas con diferentes grados de malformación de raíz.....	33
Ubicación.....	33
Material vegetal.....	33
Sustrato.....	33
Tratamientos.....	34
Diseño experimental.....	34
Variables.....	35
Altura de planta.....	35
Número y longitud de brotes laterales.....	35
Longitud del tallo.....	36
Diámetro del tallo.....	36
Número de hojas.....	36
Área foliar.....	36
Longitud de la raíz.....	36
Número y longitud de raíces secundarias.....	36
Volumen de raíz.....	36
Materia fresca, seca y contenido de agua en hojas, tallo y raíz.....	36
Relación raíz-parte aérea.....	37
Contenido nutrimental.....	37
Experimento 4. Estudio anatómico de plantas con diferentes grados de malformación de raíz.....	37
Ubicación.....	37
Anatomía de la hoja.....	37
Material vegetal.....	38
Tratamientos.....	38
Diseño experimental.....	38
Variables.....	38
Densidad estomática y diámetro longitudinal de estomas.....	38
Anatomía del tallo.....	39
Material vegetal.....	39
Tratamientos.....	39
Diseño experimental.....	40
Variables.....	40
Densidad, área del lumen, perímetro, diámetro longitudinal y	

transversal de vasos.....	40
Área del xilema (mm <sup>2</sup> ).....	40
Área conductora total (mm <sup>2</sup> ).....	41
Grosor de la corteza (µm).....	41
<b>CAPÍTULO IV</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	42
Diagnóstico. Proporción de plantas con malformación de raíz en vivero.....	42
Experimento 1. Determinación del tejido en el que ocurre la malformación de la raíz y tallo en plantas de portainjertos de cítricos.....	45
Experimento 2. Efecto de la posición de la semilla al momento de la siembra en la malformación de raíz.....	49
Caracterización del fruto y las semillas.....	49
Porcentaje de germinación.....	52
Número de plantas por semilla.....	53
Porcentaje de plantas con los diferentes grados de malformación de raíz.....	54
Experimento 3. Desarrollo de plantas con diferentes grados de malformación de raíz.....	56
Número de brotes laterales.....	57
Longitud del tallo.....	60
Diámetro del tallo.....	60
Número y longitud de brotes laterales.....	60
Número de hojas y área foliar.....	61
Longitud y volumen de raíz.....	64
Número y longitud de raíces secundarias.....	66
Relación parte aérea-raíz.....	67
Materia fresca, seca y contenido de agua en hojas, tallo y raíz.....	69
Concentración nutrimental en hojas.....	72
Concentración nutrimental en tallo.....	75
Extracción Nutrimental por las hojas.....	77
Extracción nutrimental por el tallo.....	79
Experimento 4. Estudio anatómico de plantas con diferentes grados de malformación de raíz.....	83
Densidad y longitud de estomas.....	83
Densidad de vasos y área del lumen.....	85
Grosor de la peridermis, del floema y área del xilema.....	88
<b>CONCLUSIONES</b> .....	95
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	96
<b>APÉNDICE</b> .....	111

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Grado de tolerancia de los portainjertos de cítricos más utilizados a las principales enfermedades.....	9
Cuadro 2.	Efecto de los portainjertos en el contenido de nutrientes de la hoja, en diferentes especies de cítricos.....	26
Cuadro 3.	Tratamientos evaluados para determinar el efecto de la posición de la semilla en el grado de malformación de raíz en cuatro portainjertos. Montecillo, 2009.....	32
Cuadro 4.	Características químicas y contenido nutrimental del sustrato utilizado para el desarrollo de plantas de portainjertos de cítricos, con diferentes grados de malformación en raíz. Cazones, Ver. 2008.....	34
Cuadro 5.	Tratamientos evaluados para determinar el efecto del grado de malformación de raíz, en el desarrollo y nutrición de tres portainjertos de cítricos. Cazones, Ver. 2008.....	35
Cuadro 6.	Tratamientos evaluados para determinar el efecto del grado de malformación de raíz, en la anatomía de tres portainjertos. Cazones, Ver. 2008.....	38
Cuadro 7.	Tratamientos evaluados para determinar el efecto del grado de malformación de raíz, en la anatomía de tres portainjertos. Cazones, Ver. 2008.....	39
Cuadro 8.	Número de plantas por m <sup>2</sup> de almácigo, desechadas y trasplantadas de los portainjertos evaluados. Ver. 2008.....	43
Cuadro 9.	Porcentaje de plantas con malformación de raíz, en dos viveros productores de planta certificada. Ver. 2008.....	43
Cuadro 10.	Número y porcentaje de plantas con malformación en tallo en los portainjertos evaluados. Ver. 2008.....	45
Cuadro 11.	Peso del fruto (g), grosor del albedo-flavedo (mm), número de carpelos, por fruto, de cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver., 2008.....	50
Cuadro 12.	Número de semillas, peso de las semillas (g), número de semillas abortivas, por fruto de cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver. 2008.....	50

Cuadro 13.	Porcentaje de semillas por fruto, peso promedio de semilla (g) y porcentaje de semillas abortivas por fruto (%) en cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver. 2008.....	51
Cuadro 14.	Largo (mm), ancho (mm), grosor (mm) y relación ancho/largo, en semillas de cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver., 2008.....	52
Cuadro 15.	Porcentaje de germinación de semillas de cuatro portainjertos, colocadas en tres posiciones al momento de la siembra. Montecillo, 2009.....	53
Cuadro 16.	Efecto de la posición de la semilla, en el porcentaje de plantas con diferente grado de malformación de raíz y tallo. Montecillo, 2009.....	54
Cuadro 17.	Efecto de la posición de la semilla, en el porcentaje de plantas con diferente grado de malformación de raíz. Montecillo, 2009.....	55
Cuadro 18.	Altura de la planta de tres portainjertos 8, 16, 24, 32 y 40 semanas después del trasplante. Cazones, Ver. 2008.....	57
Cuadro 19.	Número promedio de brotes laterales en tres portainjertos, en cinco evaluaciones realizadas cada ocho semanas. Cazones, Ver. 2008.....	58
Cuadro 20.	Longitud (cm) y diámetro del tallo (mm), número y longitud de brotes laterales (mm), número de hojas y área foliar de 10 hojas en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	61
Cuadro 21.	Longitud (cm) y diámetro del tallo (mm), número y longitud de brotes laterales (cm) número de hojas y área foliar de 10 hojas en plantas con cuatro grados de malformación de raíz de tres portainjertos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	64
Cuadro 22.	Longitud (cm) y volumen de raíz (cm <sup>3</sup> ), número y longitud (cm) de raíces secundarias y relación raíz/parte aérea en tres portainjertos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	67
Cuadro 23.	Longitud (cm) y volumen de raíz (cm <sup>3</sup> ), número y longitud (cm) de raíces secundarias y relación raíz/parte aérea en plantas de tres portainjertos con cuatro grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	68

Cuadro 24.	Materia fresca y seca (g) y contenido de agua (%) en hoja, tallo, y raíz en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones Ver. 2009.....	69
Cuadro 25.	Materia fresca y seca (g) y contenido de agua (%) en hoja tallo y raíz en tres portainjertos de cítricos con cuatro grados de malformación en raíz, 10 meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	71
Cuadro 26.	Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones Ver. 2009.....	73
Cuadro 27.	Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas de plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	74
Cuadro 28.	Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009	75
Cuadro 29.	Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	75
Cuadro 30.	Concentración de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	77
Cuadro 31.	Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por hojas de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	78
Cuadro 32.	Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por las hojas de plantas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	80
Cuadro 33.	Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	80
Cuadro 34.	Porcentaje de materia seca que corresponde a hoja y tallo y extracción de nitrógeno fósforo y potasio. Cazones, Ver. 2009.....	81

Cuadro 35.	Proporción de biomasa aérea que corresponde a hoja y tallo y porcentaje de calcio, magnesio y zinc contenidos en ellos. Cazones, Ver. 2009.....	82
Cuadro 36.	Densidad estomática (número de estomas $\text{mm}^{-2}$ ), longitud de estomas ( $\mu\text{m}$ ) en tres portainjertos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	83
Cuadro 37..	Densidad de vasos ( $\text{mm}^2$ ), área del lumen ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro de vaso ( $\mu\text{m}$ ), diámetro longitudinal del vaso ( $\mu\text{m}$ ), diámetro transversal del vaso ( $\mu\text{m}$ ) en tres portainjertos de cítricos, diez meses después de trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	87
Cuadro 38.	Densidad de vasos (número de vasos por $\text{mm}^2$ ), área del lumen ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro de vaso ( $\mu\text{m}$ ), diámetro longitudinal ( $\mu\text{m}$ ), diámetro transversal ( $\mu\text{m}$ ) plantas con dos grados de malformación de raíz, de tres portainjertos de cítricos, diez meses después de trasplante. Cazones, Ver. 2009.....	88
Cuadro 39.	Grosor de la peridermis ( $\mu\text{m}$ ), grosor del floema ( $\mu\text{m}$ ) y área del xilema (mm) de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	89
Cuadro 40.	Grosor de la peridermis ( $\mu\text{m}$ ), grosor del floema ( $\mu\text{m}$ ) y área del xilema (mm) de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.	93
Cuadro 41.	Grosor de la corteza externa ( $\mu\text{m}$ ), grosor del floema ( $\mu\text{m}$ ) y área del xilema (mm) de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación en raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	94

## ÍNDICE DE CUADROS EN EL ÁPENDICE

Cuadro 1 A.	Análisis de con diseño en parcelas divididas divididas para las variables: porcentaje de germinación, malformación de tallo y malformación de raíz grados 0, 1, 2, y 3 de cinco portainjertos colocados en tres posiciones.....	112
Cuadro 2 A.	Análisis de varianza en diseño factorial para las variables: longitud y diámetro del tallo, número y longitud de brotes laterales, número de hojas y área foliar de 10 hojas, longitud y volumen de raíz, relación raíz/parte aérea, materia fresca, seca y contenido de agua en hoja, tallo y raíz en plantas de tres portainjertos con cuatro grados de malformación de raíz.....	112
Cuadro 3 A.	Longitud (cm) y diámetro del tallo (mm), número y longitud de brotes laterales (cm) número de hojas y área foliar de 10 hojas en plantas con cuatro grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.	113
Cuadro 4 A.	Longitud (cm) y volumen de raíz (cm <sup>3</sup> ), número y longitud (cm) de raíces secundarias y relación raíz/parte aérea en plantas con cuatro grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	113
Cuadro 5 A.	Materia fresca y seca (g) y contenido de agua (%) en hoja, tallo, y raíz en plantas con cuatro grados de malformación de raíz en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazonas Ver. 2008.....	114
Cuadro 6 A.	Análisis de varianza en parcelas divididas para las variables: contenido y extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por las hojas y el tallo de plantas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz.....	114
Cuadro 7 A.	Nivel de suficiencia de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas maduras de diversos cítricos (Mills y Benton, 1996).....	115
Cuadro 8 A.	Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por el tallo de plantas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazonas, Ver. 2009.....	115
Cuadro 9 A.	Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	116

Cuadro 10 A.	Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por las hojas de plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	116
Cuadro 11 A.	Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por el tallo de plantas con dos grados de malformación de raíz de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	116
Cuadro 12 A.	Análisis de varianza en diseño anidado para las variables densidad estomática y longitud de estomas en plantas de tres portainjertos y dos grados de malformación de raíz.....	117
Cuadro 13 A.	Densidad estomática (número de estomas mm <sup>-2</sup> ) y longitud de estomas (μm) en plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	117
Cuadro 14 A.	Densidad estomática (número de estomas mm <sup>-2</sup> ) y longitud de estomas (μm) en plantas de tres portainjertos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.....	117
Cuadro 15 A.	Análisis de varianza en diseño parcelas divididas para las variables: densidad, área del lumen, perímetro, diámetro longitudinal y transversal de vasos en plantas de tres portainjertos y dos grados de malformación de raíz.....	118
Cuadro 16 A.	Densidad de vasos (mm <sup>-2</sup> ), área del lumen (μm <sup>2</sup> ), perímetro de vaso (μm), diámetro longitudinal (μm), diámetro transversal (μm), en plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después de trasplante. Montecillo, 2009.....	118
Cuadro 17 A.	Análisis de varianza en diseño parcelas divididas para las variables: grosor de la corteza externa (μm), grosor del floema (μm) y área del xilema (mm) de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación en raíz.....	118



## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Clasificación de raíces de acuerdo al grado de malformación observada en la planta.....	28
Figura 2.	Malformación de tallo en plantas de citrumelo ‘Swingle’ proveniente de semilla en vivero.....	45
Figura 3.	Malformación en raíz en plantas de limón ‘Volkameriano’ se observa incremento en el grosor de la región “corteza” (c) y disminución del diámetro de la región “cambium vascular”. No se observó la región de la médula, por lo que toda la región mostrada corresponde a raíz.....	48
Figura 4.	Corte longitudinal en cuello de limón ‘Volkameriano’ la malformación se encuentra justo en la unión del tallo con la raíz, se observa incremento en grosor de la región “corteza” (c) y la disminución del diámetro de la región “cambium vascular” (cv). (m) = médula.....	48
Figura 5.	Corte longitudinal de tallo en planta de limón ‘Volkameriano’, con raíz adventicia (RA) desarrollada por encima de la malformación (c= región “corteza” y cv = región “cambium vascular”).....	48
Figura 6.	Dinámica de crecimiento (altura) de los portainjertos citrange ‘Carrizo’, citrumelo ‘Swingle’ y limón ‘Volkameriano’ con cuatro grados de malformación de raíz, en 40 semanas. (0 = raíz recta; 1 = raíz sinuosa; 2 = raíz con dos ángulos < 90°; 3 =raíz con tres ángulos > 90°).....	59
Figura 7.	Efecto del grado de malformación de raíz en el área foliar de las plantas de portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. ZMedias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$ ). xGrado 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos < 90°; 3 = con tres ángulos > 90°. n = 10 hojas.....	62
Figura 8.	Interacción entre portainjertos y grado de malformación en raíz en el volumen de raíz de tres portainjertos, diez meses después del trasplante z (raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos < 90°; 3 = con tres ángulos > 90°).....	65

Figura 9.	Densidad y tamaño de estomas en plantas de a) limón 'Volkameriano', b) citrumelo 'Swingle' y c) citrange 'Carrizo', con raíz recta (grado 0) izquierda; y grado 3 (con tres ángulos > 90°) derecha.(e= estomas; ce= células epidérmicas).....	84
Figura 10.	Interacción entre portainjertos y grado de malformación de raíz en la densidad de vasos (Número de vasos mm <sup>2</sup> ) de plantas, diez meses después del trasplante <sup>z</sup> (Raíz 0 = recta; y 3 = con tres ángulos ≥ 90°). n = 3 cortes transversales.....	86
Figura 11.	Interacción entre portainjertos y grado de malformación de raíz en el área del lumen de los vasos en plantas, diez meses después del trasplante (Raíz 0 = recta; y 3 = con tres ángulos > 90°). n= 3 cortes transversales.....	86
Figura 12.	Corte transversal de tallo de citrumelo 'Swingle' con raíz a) recta (grado 0); y b) malformación 3 (con tres ángulos ≥ 90°) (ff= fibras del floema; fs = floema secundario; p= peridermis= rayo; rf = rayo floemático; v= vaso;xs = xilema secundario; zc = zona cambial) (Fotografía 40x).....	90
Figura 13.	Corte transversal de tallo de limón 'Volkameriano' con raíz a) recta (grado 0); y b) malformación 3 (con tres ángulos ≥ 90°) (ca= conducto de aceites; ff = fibras del floema; fs = floema secundario; p=peridermis; r= rayo; rf = rayo floemático; v= vaso; xs = xilema secundario; zc = zona cambial) (Fotografía 40x).....	91
Figura 14.	Corte transversal de tallo. a) citrange 'Carrizo', b) citrumelo 'Swingle' y c) limón 'Volkameriano' con malformación de raíz grado 0 (recta) izquierda; y grado 3 (con tres curvaturas) derecha (Fotografía 10x). (Fs = Floema secundario; p = peridermis; Xs= xilema secundario).....	9

## CAPITULO I INTRODUCCIÓN

Los cítricos son frutales importantes para nuestro país, en 2008 la superficie plantada fue de 681 300 ha. Las principales especies cultivadas son: Naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) con 344 687 ha, limón mexicano (*C. aurantifolia* Swingle (Cristm)) 90 099 ha, lima persa (*C. latifolia*) 58 395 ha, mandarina (*C. reticulata* Blanco) 35 595 ha, pomelo (*C. paradisi* Macf.) 18 217 ha, limón (*C. limon* L. Burmf.) 4 643 ha, lima (*C. limettioides* Tan.) 1 423 ha (SIACON, 2009).

La importancia de conocer el comportamiento de los diferentes portainjertos, radica en que más 85 % de los árboles de cítricos en México se encuentran injertados en naranja 'Agrio' (SAGARPA, 2006), que es susceptible al complejo viral de la tristeza de los cítricos (VTC) cuando está injertado en naranja dulce, pomelo, mandarino, y lima persa, que representan el 91 % de la superficie cultivada con cítricos en México (SAGARPA, 2009). La tristeza de los cítricos (*Citrus tristeza* closterovirus), es una enfermedad que ha causado la muerte de más de 100 millones de árboles en Brasil, Argentina, Venezuela, Estados Unidos, Israel y España, donde han sustituido a naranja "Agrio" por portainjertos tolerantes a esta enfermedad (Müller *et al.*, 2000; Cambra y Moreno, 2000; Rocha-Peña y Padrón-Chávez, 1992 ).

En México no existen aislamientos severos del virus de la tristeza de los cítricos, sin embargo, debido a la presencia de *Toxoptera citricida*, el vector más eficiente en la transmisión del virus (Rivas-Valencia *et al.*, 2008); desde 2002 se instituyó el Programa de Reconversión Citrícola que pretende el cambio de naranja 'Agrio' por portainjertos tolerantes a VTC, y junto con ella la diversificación de portainjertos (SAGARPA, 2006). Actualmente, los principales trabajos acerca de portainjertos de *Citrus* provienen de Estados Unidos, España, Brasil y Venezuela, (García-Sánchez *et al.*, 2007; Girardi *et al.*, 2007; Cañizares *et al.*, 2003) mientras que en México estos estudios son limitados, en especial con plantas en vivero.

Durante el desarrollo de los portainjertos en vivero, pueden presentar malformación de raíz, la cual puede desarrollarse en forma de 'bancal' o realizando un giro de 360°, que es conocida como 'cola de cochino'. Cuando son detectadas en vivero son eliminadas, en caso contrario, el problema se presentará en campo 4 o 6 años después y la pérdida agronómica será mayor. Sin embargo, no existen referencias acerca del porcentaje de pérdidas que esto representa. A pesar de lo anterior, actualmente se pretende comercializar plantas de cítricos en tubo y no a raíz desnuda como se hacía, lo que significa que muchos árboles con malformación de raíz podrán ser establecidos en campo. Por lo tanto, es necesario definir la magnitud del problema en los diferentes portainjertos de cítricos que se utilizan en México.

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo fue determinar el porcentaje de portainjertos con diferente grado de malformación de raíz en vivero, y estudiar su efecto en la anatomía y fisiología de tres portainjertos.

### **Objetivos específicos**

- 1) Realizar el diagnóstico de la incidencia de malformación en plantas de los portainjertos: citrange 'Carrizo' (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* L.), citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475), citrange 'Troyer' (*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* L.), lima 'Rangpur' (*C. limonia* Osbeck), limón 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.) y mandarino 'Amblicarpa' (*C. amblycarpa* Hassk. Ochse) producidas en dos viveros comerciales.
- 2) Definir los sitios donde se presenta la malformación de raíz.
- 3) Determinar la incidencia del grado de malformación de raíz debido a la posición de la semilla.
- 4) Evaluar el efecto de la malformación de raíz en el desarrollo de las plantas de portainjertos de hoja simple y compuesta.
- 5) Evaluar el efecto de la malformación en la absorción y extracción nutrimental de citrange 'Carrizo', citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano' en vivero.

- 6) Evaluar la acumulación de biomasa en los portainjertos: citrange 'Carrizo', citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano' con diferente grado de malformación de raíz y su correlación con la densidad y longitud de estomas.
- 7) Estudiar la anatomía del xilema, densidad y tamaño de vasos, en los portainjertos: citrange 'Carrizo', citrumelo 'Swingle', y limón 'Volkameriano' con diferente grado de malformación de raíz y su relación con la fisiología de la planta.

## CAPITULO II REVISIÓN DE LITERATURA

El uso de portainjertos para la producción de cítricos ha resuelto problemas causados por suelo y clima, además de presentar beneficios adicionales como mayor productividad y calidad (Toplu *et al.*, 2008). Sin embargo, fue la tolerancia a enfermedades lo que propició su desarrollo (Amorós, 2003).

El naranjo 'Agrio' fue el primer portainjerto utilizado en cítricos con la finalidad de evitar daños ocasionados por *Phytophthora* (Cambra y Moreno, 2000). Pero fue después del descubrimiento de la tristeza de los cítricos en los años 30's cuando los portainjertos cobraron mayor importancia, ya que naranjo 'Agrio' era susceptible a esta enfermedad. Esto trajo como consecuencia el cambio en el uso de portainjertos, citrange 'Carrizo', citrange 'Troyer', mandarino 'Cleopatra', limón 'Volkameriano, lima 'Rangpur', fueron utilizados para sustituir a naranjo 'Agrio'. En los 80's la mayoría de los portainjertos utilizados en Florida eran susceptibles a blight, enfermedad que era de etiología desconocida (Young *et al.*, 1982). En Brasil, el portainjerto más utilizado en los años 90's era la lima 'Rangpur', el 80 % de los cítricos estaban injertados en este portainjerto. Pero en 1999 se descubrió que los árboles de naranjo dulce sobre este portainjerto eran susceptibles a muerte súbita de los cítricos, enfermedad que había tomado proporciones alarmantes (Román *et al.*, 2004). En Florida, desde 2005, que se descubrió la presencia del huanglongbing las pérdidas de la industria han ascendido a más de 9.3 billones de dólares, ya que no hay plantas de cítricos resistentes a ésta enfermedad (NAS, 2010) Aún cuando un portainjerto se adapte a las condiciones de una determinada área citrícola, no es recomendable su empleo masivo debido al riesgo de infección de un patógeno (Agustí, 2003). Para evitar lo anterior, es necesario diversificar los portainjertos (Schäfer *et al.*, 2005).

La presencia de nuevas enfermedades, factores climáticos y prácticas de manejo crean la demanda de nuevos portainjertos de cítricos (Wutscher y Bowman, 1999). Sin embargo, aún cuando se han utilizado varias especies o

híbridos, sólo algunos de ellos han probado ser comercialmente adecuados (Jackson y Davies, 1999) y hasta la fecha no existe un portainjerto ideal.

### **Portainjertos de cítricos**

Algunos portainjertos utilizados son especies de cítricos, híbridos interespecíficos o aún, géneros diferentes o híbridos intergenéricos con naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata* [L] Raf) que es la única especie del género *Poncirus*, el cual aun cuando se originó de un ancestro común con los Citrus presenta hojas trifoliadas, estos híbridos tienen la característica de hojas trifoliadas, por lo que se les denomina trifoliados (Jackson y Davies, 1999). Aunque existen diversas formas de clasificarlos, por su resistencia al frío, a condiciones de suelo, o a enfermedades (Agustí, 2003; Jackson y Davies (1999) agrupan de la siguiente forma.

**Tipo limón.** En éste grupo se encuentran: limón ‘Rugoso’ (*C. jambhiri* Lush.), “Macophylla” (*C. macrophylla* Wester) probablemente híbrido entre *C. celebica* y *C. paradisi*; “Volkameriano” (*C. volkameriana* Ten. y Pasq.) llamado también limón híbrido, con muchas características de limón rugoso; lima dulce ‘Palestina’ (*C. limettioides* Tan.); lima ‘Rangpur’ (*C. limonia*) (Jackson y Davies, 1999; Pérez-Zamora *et al.*, 2003).

**Tipo mandarina.** Mandarino ‘Cleopatra’ (*Citrus reshni* Hort. Ex Tan), “Sun Chu Sha” (*C. reshni* Hort. Ex Tan), ‘Shekwasha’ (*C. depressa* Hayata) (Pérez-Zamora *et al.*, 2003; Jackson y Davies, 1999) ‘Amblicarpa’ (*C. amblycarpa* Hassk. Ochse) (Pérez-Zamora *et al.*, 2002) ‘Sunki’.

**Trifoliados.** En este grupo se encuentra naranjo trifoliado (*Poncirus trifoliata* [L] Raf) es la única especie del género *Poncirus*. Aún cuando se originó de un ancestro común con los Citrus tiene hábito deciduo, ya que se adaptó a condiciones de frío (Jackson y Davies, 1999) y algunos portainjertos que son

híbridos intergenéricos como los citranges que provienen de la cruce de *C. sinensis* y *P. trifoliata* algunos de los híbridos producidos son: 'Rusk', 'Morton', 'Cuninham', 'Savage', 'Benton', 'Uvalde', 'Troyer' y 'Carrizo'. Los citrumelos son cruces entre pomelo (*C. paradisi*) y *P. trifoliata*, el más conocido es CPB4475 al que se le conoce como 'Swingle' (Agustí, 2003). Actualmente muchos portainjertos se encuentran en estudio (Forner-Giner *et al.*, 2003; Pompeu Jr. *et al.*, 2007).

### **Características de los portainjertos**

**Limón 'Volkameriano'**. (*C. volkameriana*). Originario de Italia híbrido entre limón (*Citrus limonia*) y naranjo 'Agrio' (*C. aurantium*). Crece rápidamente en climas cálidos (Castle, 1987). Sus semillas presentan 37 % de poliembrionía. En vivero tiene crecimiento rápido y origina plantas uniformes, vigorosas y precoces (Jiménez *et al.*, 1989). Es compatible con todos los cultivares cítricos. El árbol presenta tallos rectos, poco ramificados. En campo propicia crecimiento rápido y desarrolla sistema radical extenso, presenta tolerancia a *Phytophthora parasitica* y *Alternaria citri*, y a VTC (Saunt, 1990), es susceptible a blight (Young *et al.*, 1980) y un poco menos susceptible que lima 'Rangpur' a muerte súbita de los cítricos (UF/IFAS, 2008). Es tolerante a sales, crece bien en suelos calcáreos (Saunt, 1990).

**Lima 'Rangpur'**. Es una de las limas ácidas más utilizadas, algunas veces llamada lima mandarina. En Brasil se le conoce como limao cravo y es el portainjerto más utilizado. El porcentaje de germinación de la semilla es alto (98 %) pero su porcentaje de poliembrionía es de 12 %- 23 % (Schäfer *et al.*, 2005; Shinde *et al.*, 2007). Aunque es susceptible a exocortis y xiloporosis es resistente a tristeza (Wutscher, 1979). Es susceptible a blight (Letado *et al.*, 2002) y muy susceptible a muerte súbita de los cítricos (UF/IFAS, 2008). Es tolerante a sales y resistente al frío (Cooper *et al.*, 1956).



**Mandarino ‘Amblicarpa’.** (*C. amblycarpa* Hassk. Ochse). Conocida como ‘Nasranan’ obtuvo reportes favorables primero en India (Kirpal Singh, 1954), en Egipto (Nour-Eldin y Tolba, 1974 y posteriormente en California (Bitters, 1974). Se ha reportado que el porcentaje de germinación de la semilla es bajo en comparación con otros portainjertos 65 % (Simbolon y Panggabean, 1986) el porcentaje de poliembrionía es de 82 % este porcentaje es ecoestable (Villegas y Andrade 2008).

**Citrango ‘Carrizo’.** Proviene de la cruce de *Citrus sinensis* Osb. x *P. trifoliata* L. Raf. Algunos consideran que ‘Carrizo’ y ‘Troyer’ son idénticos (Wutscher, 1979). El porcentaje de germinación es de 80 % y el porcentaje de poliembrionía de 32.7 % (Nava *et al.*, 1996). Las plantas en vivero son muy vigorosas (Jackson y Davies, 1999). Es susceptible a exocortis, *Phytophthora*. (Cameron y Soost, 1986), psoriasis y xiloporiosis (Castle, 1993) Carrizo es resistente a nemátodos y a tristeza, (Wutscher, 1979) pero muy susceptible a blight (Young *et al.*, 1980). Los citrangeros son sensibles a sales y resistentes al frío (Cameron y Soost, 1986).

**Citrumelo ‘Swingle’.** Los citrumelos provienen de la cruce entre *C. paradisi* X *P. trifoliata*. ‘Swingle’ (C.P.B. 4475) fue liberado en 1987 por la Universidad de California (Cameron y Soost, 1986). Las semillas tienen alto porcentaje de germinación (97 %) y presentan 39.5 % de poliembrionía (Shãfer, *et al.*, 2005). Es extremadamente vigoroso con crecimiento recto y pocos brotes laterales (Jackson y Frederick, 1999). Es resistente a tristeza (Salibe, 1974) *Phytophthora* (Carpenter y Furr, 1962) y nemátodos (O’Bannon y Ford, 1977). Pero susceptible a blight. Es moderadamente tolerante a sales y no se adapta a suelos calcáreos, ni a suelos arcillosos pesados (Wutscher, 1979).

Las características que se buscan en un portainjerto son: dosel pequeño, que produzca fruta de calidad, resistente a las principales enfermedades (Wutscher y Bowman, 1999) y que se adapten a las diferentes condiciones edafoclimáticas.

El enanismo puede ser un síntoma de incompatibilidad o de la presencia de una enfermedad sistémica, también puede deberse a la producción reducida de reguladores del crecimiento (Hartmann y Kester, 1990) o bajo transporte basipetalo de auxinas en sus tejidos (Lockard y Schneider, 1981). Sin embargo, el rendimiento puede ser bueno para el tamaño del árbol y la calidad de la fruta excelente, algunos portainjertos con estas características son: 'Rusk', 'Swingle' y 'Naranja trifoliado' (*P. trifoliata*) (Jackson y Davies, 1999). Algunas selecciones de *P. trifoliata* producen enanismo entre estos destaca "Flying dragon" (Ferguson y Chaparro, 2004). Los portainjertos tipo limón en cambio inducen vigor en la copa y menores valores de SST en la fruta (Pérez-Zamora *et al.*, 2002).

### **Tolerancia a enfermedades de los portainjertos de cítricos**

Los portainjertos han sido utilizados para hacer frente a las numerosas enfermedades que atacan a los cítricos, desde la aparición de *Phytophthora*; posteriormente al cancro que llegó a Estados Unidos alrededor de 1910 proveniente de Japón (Dopson 1964); a la tristeza de los cítricos, detectada por primera vez en Brasil en 1934 (Cambra y Moreno, 2000; Müller *et al.*, 2002); el Huanglongbing que apareció en Tailandia en los años 60's (Schuartz *et al.*, citado por Roistacher, 1996); la clorosis variegada de los cítricos, identificada en Brasil en 1987 (Chang *et al.*, 1993); hasta la muerte súbita de los cítricos, observada por primera vez en 1999 (Bassanezi *et al.*, 2003). El grado de tolerancia a las principales enfermedades varía entre portainjertos, ésta se resume en el Cuadro 1.

### **Adaptación de los portainjertos a condiciones edafoclimáticas**

Las condiciones climatológicas son importantes para la elección de un portainjerto. En el caso de heladas *P. trifoliata* es el más resistente a frío, seguido por Mandarino 'Cleopatra'; y en caso de sequía los más resistentes son: Citrumelo 'Swingle' y mandarino 'Cleopatra' (Agustí, 2003).

Cuadro 1. Grado de tolerancia de los portainjertos de cítricos más utilizados a las principales enfermedades.

Portainjerto	VTC <sup>1</sup>	Cancro	MSC <sup>2</sup>	Blight	CVC <sup>3</sup>	Phytophthora
Naranja 'Agrio'	S <sup>x</sup>	M <sup>o</sup>				T <sup>x</sup>
Limón 'Rugoso'				M <sup>v</sup>		S <sup>u</sup>
Limón 'Volkameriano'			S <sup>w</sup>			
Lima Rangpur'	T <sup>z</sup>		S <sup>yt</sup>	M <sup>v</sup>	S <sup>q</sup>	
Mandarino 'Cleopatra'			T <sup>t</sup>	T <sup>s</sup>		
Mandarino 'Sunki'			T <sup>t</sup>	T <sup>s</sup>		
<i>Poncirus trifoliata</i>		A <sup>o</sup>		M <sup>v</sup>		
Citrango 'Troyer'		A <sup>o</sup>				S <sup>u</sup>
Citrango 'Carrizo'		A <sup>o</sup>				
Citrumelo 'Swingle'		A <sup>o</sup>	T <sup>t</sup>			T <sup>r</sup>

<sup>1</sup> Virus de la tristeza de los cítricos <sup>2</sup> Muerte súbita de los cítricos <sup>3</sup> Clorosis variegada de los cítricos. A=altamente, susceptible; S= susceptible; M=moderadamente susceptible; T= tolerante. <sup>z</sup> Colauto y Janeiro (2004); <sup>x</sup> Montilla y Gallardo (1994); <sup>y</sup>Rivas-Valencia *et al.* (2008); <sup>w</sup>Roman *et al.* (2004); <sup>v</sup>Bralansky *et al.* (1984) <sup>u</sup>Maseko y Coutinho (2002); <sup>t</sup>Müller *et al.* (2002); <sup>s</sup>Timmer *et al.* (2000); <sup>r</sup>Castle *et al.* (1993); <sup>q</sup>Gomes *et al.* (2003); <sup>o</sup> Schubert y Sun (2003).

La adaptación a los diferentes tipos de suelo varía entre los portainjertos. En suelos arcillosos, con tendencia al encharcamiento se requiere resistencia a la asfixia radical, *P. trifoliata* es el que mejor se adapta a estas condiciones. En el caso de suelos calcáreos *P. trifoliata* y sus híbridos presentan síntomas de clorosis férrica, en cambio 'Cleopatra' puede tolerar suelos con contenido activo de caliza del 13 % (Agustí, 2003).

Los portainjertos difieren desde su desarrollo en vivero: en porcentaje de germinación y poliembriónía (Shinde *et al.*, 2007), vigor de las plantas producidas (área foliar y altura), contenido nutrimental de hojas, relaciones hídricas (Shãfer *et al.*, 2005), resistencia a estrés por inundación y sequía (García Sánchez *et al.*, 2007), conductividad hidráulica, longitud de raíces y transpiración (Syverstsen y Graham, 1985).

Posteriormente el portainjerto influye en la variedad en características como: diámetro del tallo, tamaño del árbol, diámetro de la copa, volumen del dosel, rendimiento y calidad de la fruta, calidad del jugo, relaciones hídricas, resistencia a enfermedades, suelos calcáreos y concentración nutrimental (Fallahi y Rodney,

1992; Lallam *et al.*, 1999; Pérez-Zamora, *et al.*, 2003; Pérez-Zamora, 2004; Roman *et al.*, 2004).

## **Apomixis**

En los cítricos es frecuente la apomixis, que es la formación de embrión sin que haya existido la unión de la ovocélula con el núcleo espermático, y por lo tanto el embrión recibe todos sus cromosomas de la planta madre (Borges Do Valle y Miles, 2001). Los cítricos presentan apomixis en tres formas: 1) Partenogénesis, en la que el embrión se origina a partir de la ovocélula no fecundada, que puede ser haploide o diploide; 2) Apogamia, en la que el embrión se desarrolla a partir de las células del gametofito, por ejemplo de las sinérgidas o antípodas y solo ocurre cuando éstas células son diploides; y 3) poliembrionía que es la producción de embriones adventicios a partir de células somáticas del esporófito, de la nucela o los tegumentos, y que penetran posteriormente al saco embrionario (Amorós, 2003).

Seleccionar plantas con alto porcentaje de embriones nucelares es importante para la producción de portainjertos de cítricos, que sean uniformes y porque estos están usualmente libres de virus debido a que la mayoría de virus o viroides no son transmitidos al embrión en desarrollo (Villegas y Andrade, 2008).

## **Poliembrionía en cítricos**

En el caso de los cítricos además del embrión procedente de la ovocélula fecundada es probable que se desarrollen embriones procedentes de las células de la nucela, las cuales poseen los 18 cromosomas propios de la planta madre.

El número de embriones en una semilla varía con la edad, el estado nutricional y fisiológico de la planta, el polen del progenitor, posición de los frutos en el árbol, número de frutos y debido a factores ambientales (Soares *et al.*, 1995).

La poliembrionía puede ser evaluada en laboratorio, contando el número de embriones presentes en una semilla, o en campo, evaluando el número de embriones que germinan y desarrollan (Shinde *et al.*, 2007; Villegas y Andrade, 2008)

Los portainjertos difieren en el grado de poliembrionía de sus semillas. En un trabajo realizado en vivero, Shinde *et al.* (2007) encontraron que lima 'Rangpur' presentó 45.2 %, citrange 'Troyer' 33.8 %, citrange 'Morton' 30.3 %, mandarino 'Cleopatra' 29.4 % y citrange 'Carrizo' 17.2 %.; mientras que Shãfer *et al.* (2005) encontraron que citrange 'Troyer' presentó 67 %, citrumelo 'Swingle' 39.5 % y lima 'Rangpur' 12.7 %, el número de embriones emergidos por semilla en el caso de citrange 'Troyer' fue de uno a cinco, mientras que en el caso de citrumelo 'Swingle' y lima 'Rangpur' solo emergieron uno o dos.

Shinde *et al.* (2007) al estudiar 27 portainjertos de cítricos, no encontraron relación entre la poliembrionía y características de vigor del portainjerto y atribuyen estas diferencias a las características de las especies o variedades.

Se ha observado que cuando el número de embriones en la semilla aumenta, la proporción de embriones pequeños es mayor y estos no emergen o tienen menor crecimiento inicial (Shãfer *et al.*, 2005). Esto es debido a que cuando se forma más de un embrión, presentan tamaños diferentes, los cotiledones pequeños son una desventaja para el desarrollo del eje embrionario, ya que en estos acumulan el almidón que servirá para alimentar al nuevo vástago cuando la semilla germine (Sánchez-Damas *et al.*, 2006 ).

La poliembrionía también tiene efecto en la posición del embrión dentro de la semilla. Cuando se desarrolla un solo embrión, este no se flexiona, sin embargo, cuando hay más de uno, pueden flexionarse para acomodarse en la semilla (Sánchez-Damas *et al.*, 2006).

## Producción de plantas en vivero

La mayoría de los portainjertos de cítricos se propagan por semilla, ya que casi todas las especies y sus híbridos presentan alto grado de poliembrionía, (Wutscher, 1979).

Se ha encontrado que el porcentaje de germinación de la semilla varía entre portainjertos, siendo los más vigorosos los que presentaron mayor porcentaje, el cual disminuye en el siguiente orden: lima 'Rangpur' (81 %), limón 'Rugoso' (68.3 %), limón 'Eureka' (66.6 %), mandarino 'Cleopatra' (42 %), citrange 'Troyer' (31 %) (Shinde *et al.*, 2007). Sin embargo, estos porcentajes son bajos, para producción de plantas se requiere de porcentajes de germinación superiores al 80 o 90 % (Amorós, 2003).

La velocidad de emergencia también varía entre portainjertos dependiendo de las condiciones ambientales. Nava *et al.* (1996) en condiciones tropicales, encontraron que los citrangeros 'Troyer' y 'Carrizo' empezaron a germinar 17 días después de sembrados, mientras que mandarino 'Cleopatra' y naranjo 'Agrio' a los 21 y 22 días. En contraste, cuando el rango de variación de temperatura fue de 14.5 a 30°C, Shãfer *et al.* (2005) encontraron que lima 'Rangpur' tuvo la mayor velocidad (95 %) a los 114 días de sembrado, seguido por citrumelo 'Swingle' y 'Naranja Trifoliado' a los 132 días, citrange 'Troyer' requirió de 150 días para alcanzar el 93.3 % de semillas germinadas. Lo anterior muestra el efecto de las condiciones ambientales en el porcentaje y velocidad de germinación.

Por lo tanto, se ha determinado que el principal factor que afecta la velocidad de emergencia es la temperatura. Wiltbank *et al.* (1995) al germinar semillas en diferentes temperaturas encontraron que limón 'Rugoso' germinaba entre 19 y 99 días (13°- 36.5°C); naranjo 'Agrio' entre 28 y 104 días (17°- 32°C) y *Poncirus* entre 17 y 101 días (11°- 36.5°C), la germinación fue más rápida en temperaturas más altas. Shãfer *et al.* (2005) encontraron correlación positiva simple entre la temperatura media y la velocidad de germinación de cuatro portainjertos: Trifoliata

EEA/UFRGS, citrange 'Troyer', citrumelo 'Swingle' y lima 'Rangpur' cuando las temperaturas medias fluctuaron de 14.5°- 30°C. Girardi *et al.* (2007) lograron acelerar la velocidad de germinación eliminando la testa de la semilla y aplicando fertilizantes de liberación lenta en portainjertos de lima 'Rangpur' y citrumelo 'Swingle'.

## **Sistema radical**

La raíz desarrolla nuevo tejido conductor a partir de las células meristemáticas que se encuentran entre el xilema y el floema primarios, las cuales constituyen el cambium vascular en la región interna del xilema y externa del floema, esto resulta finalmente en el incremento del diámetro de la raíz (Salisbury y Ross, 1994). En una raíz sin crecimiento secundario el agua y los nutrimentos penetran a la planta a principalmente a través de los pelos radicales, enseguida pasan a las células del cortex, luego a la endodermis hasta el xilema primario hasta las partes más alejadas de la parte aérea.

En frutales se ha establecido que existe relación entre el desarrollo de la raíz y la parte aérea. El tamaño del dosel del árbol y la raíz se coordinan para optimizar la utilización de asimilados y otros recursos. El crecimiento expansivo de las hojas define el tamaño del dosel que captura luz para la fotosíntesis, el crecimiento de la raíz define el volumen de suelo que la planta explora para la obtención de agua y nutrientes (Hsiao, 2000).

## **Factores que afectan el desarrollo radical**

El desarrollo radical es afectado por todos los factores ambientales que influyen en la capacidad de los brotes para proveer a las raíces de los carbohidratos necesarios para su desarrollo. Sin embargo, son los factores edáficos los que tienen más influencia, debido a que las plantas responden

morfológicamente para ajustarse a las condiciones de crecimiento (Malamy y Ryan, 2001).

La plasticidad de la raíz se ha observado en el desarrollo de brotes laterales, que ocurre cuando las condiciones de humedad o nutrientes no son uniformes (Robinson, 1994); también cuando las plantas se desarrollan en condiciones de sequía, en ese caso, se puede incrementar la proporción de biomasa localizada bajo tierra (Nicotra *et al*, 2002) y cambiar la geometría del sistema radical (Ryser, 2006).

El estrés no solo provoca cambios en la forma de la raíz, también lo hace en los tejidos. Lijima y Kato (2007) estudiaron el desarrollo de plántulas de maíz, arroz, chícharo y algodón en condiciones de estrés por deshidratación del suelo, anaerobiosis e impedimento mecánico. Encontraron modificaciones anatómicas en el grosor de la corteza primaria y en el número y tamaño de estratos celulares. El estrés por suelo seco incrementó el diámetro de la corteza en algodón, lo que es un cambio morfológico típico inducido por etileno endógeno.

### **Desarrollo radical en portainjertos de cítricos**

El crecimiento de las raíces de cítricos en vivero, está más influenciado por la temperatura del suelo, que por el sustrato utilizado, la elongación de raíces esta correlacionada positivamente con la temperatura del suelo, siendo la óptima por encima de 27° C. La raíz crece de manera alterna con periodos de desarrollo de brotes (Kenneth y Castle, 1985).

Se ha observado que existen diferencias en el sistema radical de portainjertos de cítricos en vivero. Savage *et al.* (1945) observaron que Limón 'Rugoso' presentó un sistema radical extenso, mientras que las raíces de naranja 'Agrio' crecieron en la misma proporción en forma lateral y en profundidad. Estas diferencias afectan posteriormente el desarrollo de la parte aérea del árbol, la



productividad se relaciona positivamente con la profundidad que exploran las raíces de cítricos; limón 'Volkameriano' presentó mayor volumen de suelo explorado, seguido por naranjo 'Agrio' y mandarina 'Cleopatra' (Avilán *et al.* 1986)

La distribución de las raíces en el perfil del suelo varía con los portainjertos, Medina *et al.* (1980) encontraron que en árboles de pie franco de 'Macrophyla', citrange 'Troyer' y naranjo 'Agrio' desarrollan mayor número de raíces en los primeros 30 cm mientras que lima 'Rangpur', limón 'Rugoso' y citrange 'Carrizo' entre los 30 y 50 cm.

Una vez establecido el árbol, existen diferencias en el patrón de crecimiento de las raíces en función de la edad del árbol y de las condiciones climáticas y culturales entre otros (Kenneth y Castle, 1985). La distribución de las raíces en el suelo depende de las secuencias de textura en el perfil y su relación con la capacidad de retención de humedad; los cítricos tienen altos requerimientos de aireación, una zona con mayor retención de humedad inhibe el crecimiento de raíces (Avilán *et al.*, 1986). Sin embargo, baja disponibilidad de agua en el suelo reduce el crecimiento de la parte aérea (Bevington y Castle, 1985) lo que resulta en un aumento de la proporción raíces/parte aérea, (2.04 - 2.55), lo que asegura mayor suministro de agua al área foliar existente (Syvertsen, 1985).

El pH del suelo influye en el desarrollo del árbol. En suelo calcinomórfico con pH de 7.9, se encontró que los árboles de limón mexicano (*C. aurantifolia* Swingle (Cristm)) se adaptaron mejor en los portainjertos citrange 'Carrizo', mandarina 'Amblicarpa' y 'Sunki' x 'Trifoliado' los cuales presentaron mejores rendimientos y calidad de fruta; limón 'Volkameriano' y naranjo 'Agrio' presentaron buena adaptación, mientras que 'C32' y 'Rubidox' respondieron pobremente a la producción (Pérez-Zamora *et al.* 2003).

De esta forma, el comportamiento de un portainjerto en un determinado medio está relacionado con el volumen total, forma, distribución lateral y profundidad que

exploran las raíces (Cintra *et al.*, 1999). Así, por ejemplo, el volumen explorado por las raíces disminuye en el siguiente orden: limón 'Volkameriano', naranjo 'Agrio' y mandarina 'Cleopatra', de la misma forma que la resistencia a sequía de estos portainjertos (Avilán, 1986).

### **Malformación de la raíz**

La malformación de raíz ha sido estudiada en especies forestales (Hay y Woods, 1975; Halter *et al.*, 1993; Lindström y Rune, 1999). La importancia radica en que se ha encontrado que las raíces enroscadas, rizadas o deformes, de plantas de pino cultivadas en contenedores, tienen tasa de mortalidad mayor, pobre mecanismo de estabilidad y susceptibilidad a sequía después del trasplante (Nichols y Alm, 1983), así como mayor predisposición a enfermedades debido al estrés ocasionado por la deformación de la raíz (Szewczyk y Lechtański, 2008).

La malformación de raíz a nivel macroscópico, se debe principalmente a impedimento mecánico, debido a que cuando la raíz en desarrollo encuentra una barrera, gira en busca de menor resistencia mecánica. El impedimento puede ser causado por factores como: porosidad, densidad, contenido de humedad, textura, tamaño de los agregados, macroestructura y ausencia de bioporos continuos en el suelo (Lijama y Kato, 2007; Löfkvist *et al.*, 2005). De esta forma la deformación también puede ser causada por el tamaño del contenedor, lo cual ha sido un problema en la producción de plantas en vivero (Sven y Broschat, 1992).

En portainjertos de cítricos la malformación de raíz ha sido observada desde hace tiempo. Agustí (2003) afirma que el mantenimiento prolongado de las plántulas en contenedores de volumen reducido puede causar malformación de raíz e indica que cuando la raíz se dobla al momento del trasplante, esta debe girar para recuperar el sentido de su crecimiento geotrópico lo cual también provoca malformación.

Sin embargo, Palacios (1978) mostró fotografías de plantas de portainjertos de cítricos con malformaciones, que no pueden ser atribuidas al contenedor, ya que se observan a la altura del cuello y no en la parte inferior, pero no indicó las causas.

La malformación en semillero fue estudiada por Moreira y Donadio (1968), quienes encontraron que ésta se incrementó cuando la posición de la semilla era con la punta (región micropilar) arriba y la mayor proporción de plantas con raíces rectas se encontraba cuando las semillas eran colocadas con el ápice hacia abajo, concluyendo que la posición de la semilla en la cama de siembra era la causa principal de la malformación. Rodríguez *et al.*, (2000) estudiaron el efecto de la posición de la semilla en limón 'Volkameriano', encontraron que el número de plantas con raíces normales se incrementó cuando la semilla fue colocada con la región micropilar hacia abajo o de costado, y el número de plantas con raíces torcidas o enredadas se incrementó significativamente cuando las semillas fueron colocadas con el ápice hacia arriba. Sin embargo, la malformación de raíz se presentó también cuando la semilla fue colocada de costado o con la región micropilar hacia abajo.

### **Intercambio gaseoso: transpiración y fotosíntesis**

La transpiración une el balance hídrico de las plantas con la fotosíntesis puesto que la turgencia de los estomas asegura que la máxima tasa sustentable de transpiración sea proporcional a la conductancia hídrica de la planta (Raven, 2002) y el intercambio gaseoso de bióxido de carbono y agua ocurre en el mismo poro, por lo tanto, tiene los mismos límites difusivos. Se ha encontrado en *Citrus* que la reducción en la conductancia estomatal puede disminuir el CO<sub>2</sub> disponible, que resulta en un decremento en la tasa de asimilación (Machado *et al.*, 2002).

Ribeiro *et al.* (2009) al estudiar árboles jóvenes de naranjo dulce, encontraron que los cambios en la tasa fotosintética y la conductancia estomática sugieren que estos procesos son dependientes, al observar que por la mañana que tasas fotosintéticas altas eran mantenidas por la máxima abertura estomatal, y que la reducción en la conductancia estomatal causada por el déficit de presión de vapor a mediodía en los meses de verano limitan la tasa de asimilación de CO<sub>2</sub>.

Existe relación entre el intercambio gaseoso con el tamaño y densidad estomática. Al aumentar la suma del área de poro estomatal/profundidad por unidad de área foliar se incrementa la conductividad estomática y el intercambio gaseoso que permite mayor tasa fotosintética (Franks y Farquhar, 2007). La conductancia estomática es aproximadamente proporcional al radio del área del poro y la profundidad (Brown y Escombe, citados por Franks y Farquhar, 2007). Así, la densidad de estomas se relaciona positivamente con el vigor del árbol en manzano (Pathak, *et al.*, 1976) y mango (Srivastava *et al.*, 1980). Además Prasad (1983) asocia el número de estomas con el crecimiento potencial del árbol.

## **Estomas**

Los estomas regulan el intercambio gaseoso (Keith y Peak, 2007), estos se diferencian en los primeros estados de desarrollo de la hoja. Las características estomatales varían dependiendo del genotipo de las plantas, como de las condiciones de crecimiento en la ontogenia de la hoja (Masarovicova, 1991). Su tamaño varía en la hoja madura, los más viejos son más grandes que los que se desarrollan posteriormente (Reed, 1931).

Se ha observado que además de los factores ambientales, los genéticos como la heterosis y el nivel de ploidía, tienden a disminuir la frecuencia e incrementar el tamaño de estomas en cítricos (Jones, 1987; Costa *et al.*, 2003). En poliploides los estomas son más grandes y menos frecuentes que en los progenitores, y el

tamaño y número de estomas presentaron correlación negativa alta. En los híbridos somáticos de mandarina 'Cleopatra' x limón 'Volkameriano', naranjo dulce 'Rhode red' x limón 'Volkameriano', naranjo dulce 'Ruby blood' x limón 'Volkameriano', la densidad estomática fue menor que la de sus progenitores (mandarina 'Cleopatra', limón 'Volkameriano' y naranjo dulce 'Rhode red' y 'Ruby blood') (Costa *et al.*, 2003).

El portainjerto utilizado también afecta la densidad de estomas en el injerto. Cañizares *et al.* (2003) encontraron en lima 'Tahiti' que los valores más altos correspondieron a citrumelo 'Swingle', mandarina 'Cleopatra' y citrange 'Carrizo' (385, 375 y 340.4 respectivamente), mientras que en lima 'Rangpur', limón 'Volkameriano' y citrange 'Troyer' fluctuaron entre 340 y 172 en un campo de 4.347 mm<sup>2</sup>.

La diversidad morfológica de los estomas se traduce en una diversidad mecánica y funcional. Estas características mecánicas son determinantes en función a la regulación del intercambio gaseoso, pero se sabe poco sobre como varían en las diferentes formas estomatales (Franks y Farquhar, 2007).

### **Balance hídrico y Conductividad hidráulica**

Estudios anatómicos han demostrado que existen correlaciones positivas entre las características de balance hídrico, estomas y fotosíntesis en un amplio rango de especies leñosas (Aasamaa *et al.*, 2001).

Así, el intercambio gaseoso puede ser afectado por la reducción en la capacidad de movimiento del agua, como en el caso de la clorosis variegada de los cítricos, causada por *Xylella fastidiosa*, la cual produce agregados que obstruyen el xilema (Gomes *et al.*, 2003).

Como en cualquier sistema de fluidos, el agua que viaja a través del sistema vascular de la planta encuentra resistencia al flujo (Brodribb, 2009), por lo tanto, la resistencia hidráulica o conductancia, determinadas por la arquitectura hidráulica del árbol, puede limitar su desempeño medido en términos de tasa de transpiración, carbono fijado y crecimiento (Tyree, 2003). La arquitectura hidráulica del árbol, que incluye características de la raíz y anatomía del xilema, causan diferencias en la tasa de flujo de savia en portainjertos de manzana (Hussein y McFarland, 1994).

Se ha observado que los portainjertos de cítricos más vigorosos tienen mayor eficiencia en absorción y transporte de agua, alta conductividad hidráulica de raíces y mayores tasas de intercambio gaseoso (Syvertsen, 1981). De esta forma los portainjertos tienen influencia en la productividad del injerto al afectar el balance hídrico de la planta (Fassio *et al.*, 2009).

El agua que penetra en las raíces pasa de una región a otra a través de ramificaciones en el sistema radical (Schulte, 2006). En la parte aérea, el flujo potencial de agua se constriñe en las ramificaciones, ya que los vasos o traqueidas pueden ser ligeramente más angostas o incrementar el número de terminaciones vasales (Tyree y Ewers, 1991).

Se ha determinado que la resistencia hidráulica en la conducción de agua es mayor en las raíces que en la parte aérea del árbol (Basile *et al.*, 2003), y puede llegar a controlar el tamaño y la productividad del árbol en durazno (Solari *et al.*, 2006). La conductividad hidráulica del sistema radical se estima por medio de la longitud de raíces por materia seca, así, los portainjertos de cítricos que tienen raíces fibrosas finas tienen más superficie radical y por lo tanto mayor conductividad hidráulica (Syvertsen y Graham, 1985).

La estructura de la raíz está íntimamente relacionada con el movimiento del agua y las sales disueltas en ella, desde las células absorbentes, hasta los tejidos

conductores y la liberación desde las células vivas hasta el cilindro vascular en los elementos traqueales no vivos de ésta. La presión hidrostática es generada en parte por la endodermis que constituye una barrera que impide la salida de solutos desde el cilindro vascular hacia la corteza (Kirkham, 2005). Sin embargo, en un estudio con diversas especies se encontró que la corteza puede actuar como barrera para el flujo de agua en las raíces y que las especies con corteza ancha, tienen menor conductividad hidráulica (Rieger y Litvin, 1999).

### **Tejido conductor**

El xilema, desde el punto de vista de la ingeniería, es la red de distribución de agua desde el sistema radical hasta los principales consumidores; las hojas, en la parte superior de la planta (Karam, 2005). El ascenso de agua en el xilema depende de la transpiración y la presión de raíces que constituyen las principales fuerzas de flujo (Wistuba *et al.*, 2000).

El funcionamiento del xilema está relacionado con su anatomía particularmente con las características de los elementos de vaso, área, número de vasos por mm<sup>2</sup> y el área conductora total (Vasconcellos y Castle, 1994), de los cuales el diámetro de vasos es el parámetro más importante que determina el volumen de flujo, ya que, la conductividad hidráulica de los vasos, de acuerdo con la Ley de Hagen-Poiseulle, es proporcional al cuadrado de su radio (Zimmermann, 1983). Por lo tanto, es posible calcular la conductividad hidráulica del lumen de los vasos del xilema en un segmento de tallo a partir del diámetro, aun cuando esta conductividad calculada es mayor a la conductividad medida pues no incluye la resistencia entre conductos (Nijssen *et al.*, 2001).

La disminución del diámetro de los vasos limita la conductividad hidráulica, disminuye el transporte de agua y el flujo transpiratorio. Esta es una respuesta adaptativa de la planta a una situación de estrés hídrico moderado persistente. Lovisolo *et al.*, (2000) encontraron que el tamaño y el área de vasos disminuyó en

vid (*Vitis vinífera* L.) en condiciones de estrés por sequía que se prolongó por cuarenta días.

El portainjerto utilizado también puede influenciar el desarrollo anatómico de los vasos del injerto. El efecto enanizante que tiene el portainjerto Gi 5 cuando es injertado con cereza dulce (*Prunus avium* L.) puede deberse a la mayor proporción de vasos delgados, con menor conductividad hidráulica (Goncalves *et al.*, 2007). Esto ya había sido observado por Beakbane y Thompson (1939) quienes reportaron que el efecto enanizante de portainjertos de manzana se debe a que tienden a tener menor número de vasos y que son de diámetro más pequeño, que en los portainjertos vigorosos.

En un estudio que asoció la anatomía y función de los vasos y la transpiración en naranjo dulce 'Shamouti', se encontró que el tamaño y número de vasos en árboles injertados en lima dulce 'Palestina' (*C. limettioides* Tan.) fue mayor que en árboles de naranjo 'Agrio', lo que puede explicar el mayor vigor, tolerancia a sequía y rendimiento de los árboles en lima dulce (Mendel, 1945).

En general, se ha encontrado que la densidad de vasos es mayor en el portainjerto que en el injerto, así como el diámetro de vasos, la variación en los valores de densidad y tamaño de vasos en la misma especie pueden ser debidas a variaciones en la edad del material vegetal y a las condiciones ambientales (Luiz *et al.*, 1994).

Se ha observado que la disminución en el número y tamaño de vasos, así como la orientación irregular de estos, que ocurre en la unión del portainjerto con el injerto, incrementa la resistencia hidráulica en este punto, lo que ocasiona disminución en el flujo de agua (Olmstead *et al.*, 2006).

En *Pinus taeda* se encontró que la deformación de la raíz actúa como una faja que constriñe los vasos y afecta el transporte en este punto, debido a lo anterior,



ocurre la acumulación de azúcares en el floema por encima del impedimento a la traslocación normal, por lo que son canalizados hacia raíces laterales que se originan cerca de la zona de acumulación (Hay y Woods, 1975). Actualmente, se asocia la acumulación de azúcares con la plasticidad de las plantas para desarrollar raíces laterales en condiciones de estrés osmótico (Ogawa *et al.*, 2005).

### **Obstrucciones en el tejido conductor**

Se han encontrado diferencias en el transporte de agua en árboles injertados y no injertados debido al éxito o no, en la diferenciación del callo para producir una conexión continua en el sistema vascular (Olmstead *et al.*, 2006). La discontinuidad en el sistema de conducción de agua debido a las diferencias anatómicas que ocurren en la unión, provocan que disminuya el flujo de agua desde el sistema radical hacia el dosel del árbol e impacta negativamente el transporte (Atkinson *et al.*, 2001).

Afectar el transporte de agua y por lo tanto de nutrientes puede tener efecto en el desarrollo de la planta, pero también se puede afectar el transporte de auxinas debido a la restricción en el transporte xilema-floema (Olmstead *et al.*, 2006).

### **Nutrición mineral**

Las relaciones hídricas y la nutrición mineral están íntimamente relacionadas, debido al movimiento por flujo de masas en respuesta a gradientes de potencial de agua desde las raíces hasta los brotes. Al relacionar las tasas de transpiración con los niveles de nutrientes en las hojas se encontró que las plantas de 'Naranja trifoliado' tienen mayores tasas de transpiración que naranja 'Agrio' y que, 'Naranja trifoliado' tiene mayores niveles de nutrientes en las hojas (Syvertsen y Graham, 1985). Sin embargo, la reducción en la absorción de iones no está

relacionada necesariamente con bajas tasas de transpiración, sino que puede deberse a otros factores (Cerezo, *et al.*, 1999).

Los portainjertos responden de manera diferente a la absorción nutrimental de N, P, K y Mg (Pérez-Zamora *et al.*, 2003). Srivastava *et al.* (1994) encontraron que la cantidad de N, P y K removida por portainjertos vigorosos como: limón 'Rugoso' y lima 'Rangpur', es mayor que la de portainjertos de menor tamaño como: 'naranja trifoliado o mandarino 'Cleopatra', debido a diferencias en la capacidad de intercambio catiónico de las raíces. Naranja 'Agrio es el portainjerto más ineficiente para absorber fósforo, lo cual ha sido reportado por Ferguson *et al.* (1990) y Castle y Gmitter (1999).

Sogomà *et al.* (2006) encontraron que naranja dulce es el portainjerto más eficiente en absorber N seguido por naranja 'Agrio' y limón 'Rugoso', el menos eficiente es mandarino 'Cleopatra'. La eficiencia en la absorción de N (NUE) depende del estatus nutrimental del árbol, humedad del suelo y del cultivar y portainjerto utilizado. Por ejemplo, pomelo injertado en limón 'Volkameriano' puede tener NUE de 83 % mientras que en naranja 'Agrio' únicamente 55 % (Syvertsen y Smith, 1996).

La respuesta fisiológica del árbol a las deficiencias varía, Paquillo *et al.* (1999) encontraron que niveles bajos de N resultaron en mayor defoliación y reducido desarrollo en citrumelo 'Swingle', mientras que limón 'Volkameriano' continuó su desarrollo en condiciones limitadas de N, aún cuando mostraron mayor amarillamiento en las hojas. En estas condiciones las raíces de citrumelo 'Swingle' se engrosaron, mientras que las de limón 'Volkameriano' adelgazaron, lo cual podría haber incrementado la eficiencia en absorción de recursos de este portainjerto.

La capacidad diferencial para absorber ciertos micronutrientes puede ser decisiva para determinar la adaptabilidad de los portainjertos a los diferentes tipos

de suelo (Smith *et al.*, 1949). Limón 'Volkameriano' es más hábil para absorber y transportar Fe y Zn a las hojas de mandarino 'Farchild' y por lo tanto puede adaptarse mejor a suelos de pH alto, mientras que citrange 'Carrizo' se adapta mejor a suelos ácidos con altos niveles de Mn disponible (Fallahi y Rodney, 1992).

Pérez-Zamora (2004) al evaluar el contenido nutrimental en árboles de naranjo 'Valencia' injertados en 16 portainjertos de cuatro años, en suelo calcinomórfico con pH 8.4, encontró que la concentración de potasio presentó valores más altos en mandarina 'Sun Chu Sha', 'Macrophila' y mandarina 'Amblicarpa', estos valores contrastan con citrange 'Carrizo' y el híbrido 'Sunki' x 'Trifoliado' que fueron sobresalientes pero tuvieron valores similares al portainjerto con menor adaptación. En el caso del magnesio, limón 'Volkameriano' se caracterizó por absorber menos que naranjo 'Agrido' y otros portainjertos; sin embargo, el intervalo de Mg en el follaje para todos los portainjertos estuvo dentro de los niveles de suficiencia.

La extracción nutrimental de los portainjertos varía dependiendo de las necesidades nutricionales de la especie injertada: limón (Contreras-Morales, *et al.*, 2007), naranjo (Pérez-Zamora, 2004) o mandarino (Fallahi y Rodney, 1992). En el cuadro 2 se comparan el contenido de nutrientes en diferentes injertos y portainjertos. Debe considerarse que el contenido de nutrientes en las hojas es afectada por diferentes factores.

En mandarino 'Farchild' el contenido de potasio en las hojas fue mayor en los portainjertos con menor rendimiento, ya que en los portainjertos más productores, se deposita mayor cantidad de potasio en los frutos (Fallahi y Rodney, 1992). El contenido nutrimental de los árboles en diferentes portainjertos en el campo, también puede ser similar por efecto de dilución causado por crecimiento adicional, aún cuando la absorción sea mayor (Syvertsen y Graham, 1985).

Cuadro 2. Efecto de los portainjertos en el contenido de nutrientes de la hoja, en diferentes especies de cítricos.

Injerto	Portainjerto	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Fe (ppm)	Mn (ppm)	Zn (ppm)	Cu (ppm)
<i>C. aurantifolia</i> <sup>z</sup>	L. 'Rugoso'	ND <sup>v</sup>	0.18	1.5	6.39	ND	206.0	68.9	22.2	ND
	L. 'Rangpur	ND	0.19	1.93	7.32	ND	163.7	55.3	20.2	ND
	M. 'Cleopatra'	ND	0.16	0.92	6.97	ND	206.0	50.3	15.7	ND
	N. 'Agrio'	ND	0.18	1.61	7.32	ND	208.9	54.6	22.1	ND
	C. 'Troyer'	ND	0.18	1.45	5.77	ND	168.1	35.7	18.3	ND
	C. Carrizo	ND	0.16	1.45	6.00	ND	180.9	35.0	17.6	ND
<i>C. aurantifolia</i> <sup>y</sup>	L. 'Rugoso'	1.61	0.07	0.97	2.23	ND	ND	ND	ND	ND
	L. 'Rangpur'	1.44	0.06	1.13	2.44	ND	ND	ND	ND	ND
	M. 'Cleopatra'	1.71	0.05	0.54	2.3	ND	ND	ND	ND	ND
	N. 'Agrio'	1.56	0.06	0.81	2.13	ND	ND	ND	ND	ND
<i>C. sinensis</i> <sup>x</sup>	L. 'Rangpur	3.28	0.32	0.81	3.41	0.73	207	29.6	ND	37.9
	M. 'Cleopatra'	2.67	0.32	0.62	3.4	0.81	165	30.2	ND	30.3
	N. 'Agrio'	2.61	0.30	0.81	3.44	0.63	180	28.4	ND	28.6
	C. 'Carrizo'	2.77	0.35	0.73	3.22	ND	170	31.0	ND	44.1
	L. 'Volkameriano'	2.87	0.33	0.87	3.18	0.58	228	37.7	ND	47.9
<i>C. reticulata</i> <sup>w</sup>	L. 'Rugoso'	2.44	ND	0.83	4.90	0.52	51.1	15.8	21.5	12.6
	C. 'Carrizo'	2.41	ND	1.09	5.10	0.52	44.7	9.4	21.8	13.9
	C. 'Volkameriano'	2.52	ND	0.90	4.47	0.54	53.9	16.9	31.0	9.3

<sup>z</sup> Ram *et al.* (1999) árboles de 1 año <sup>y</sup> Marathe *et al.* (2000) árboles de tres años. <sup>x</sup> Pérez-Zamora (2004) árboles de 'Valencia' tardía de seis años. <sup>w</sup> Fallahi y Rodney (1992) árboles de mandarina 'Fairchild' media de árboles de dos y tres años. <sup>v</sup>No disponible.

## **CAPÍTULO III MATERIALES Y MÉTODOS**

En la fase inicial de la investigación, se realizó en vivero, el diagnóstico de la proporción y grado de malformación presente en plantas de seis portainjertos en vivero y posteriormente, cuatro experimentos. El primer experimento para caracterizar el sitio en que ocurre la malformación de la raíz. El segundo, para descartar si la malformación era ocasionada por la posición de la semilla al momento de la siembra. El tercero para evaluar el efecto del grado de malformación en la nutrición y desarrollo de las plantas. Y el cuarto para evaluar la anatomía de las plantas con los diferentes grados de malformación.

**Diagnóstico: Evaluación del grado de malformación de raíz en plantas en dos viveros comerciales.**

### **Ubicación y material vegetal**

Los viveros se localizan en Coatzintla, Ver. ubicado a 20° 29' Latitud Norte y 97° 27' Longitud Oeste a 90 m y en Cazones de Herrera, Ver., a 20° 40' Latitud Norte, 97° 28' Longitud Oeste, y 17 m. Estos municipios presentan clima de tipo Aw"1(e) que corresponde tropical lluvioso, cálido subhúmedo con lluvias en verano (García, 1981).

Se evaluaron plantas de tres meses provenientes de semilla, de seis portainjertos de cítricos: citrange 'Carrizo' (*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* L.), citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475), citrange 'Troyer' (*P. trifoliata* (L.) Raf. x *C. sinensis* L.), lima 'Rangpur' (*C. limonia* Osbeck ), limón 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.), y mandarina 'Amblicarpa' (*C. amblycarpa* Hassk. Ochse).

### **Muestreo**

De los almácigos de 10 m de largo por 1 de ancho se seleccionó al azar 1 m<sup>2</sup> de almácigo de cada portainjerto.

Las plantas se clasificaron de acuerdo al grado de curvatura de la raíz y se determinó el porcentaje de plantas que presentaban malformación de acuerdo a la densidad de plantas por surco. Para lo cual, se extrajeron del sustrato tomándolas por el cuello con cuidado, para no dañar la raíz, y se clasificaron en las siguientes categorías (Figura 1):

- a) Grado 0. Crecen en forma recta.
- b) Grado 1. Presentan ligeras curvaturas a lo largo de la raíz.
- c) Grado 2. Las que presentan crecimiento lateral y posteriormente hacia abajo.
- d) Grado 3. Con dos curvaturas
- e) Grado 4. Raíces que presentan un giro de 360°, y posteriormente hacia abajo, “cola de cochino”.

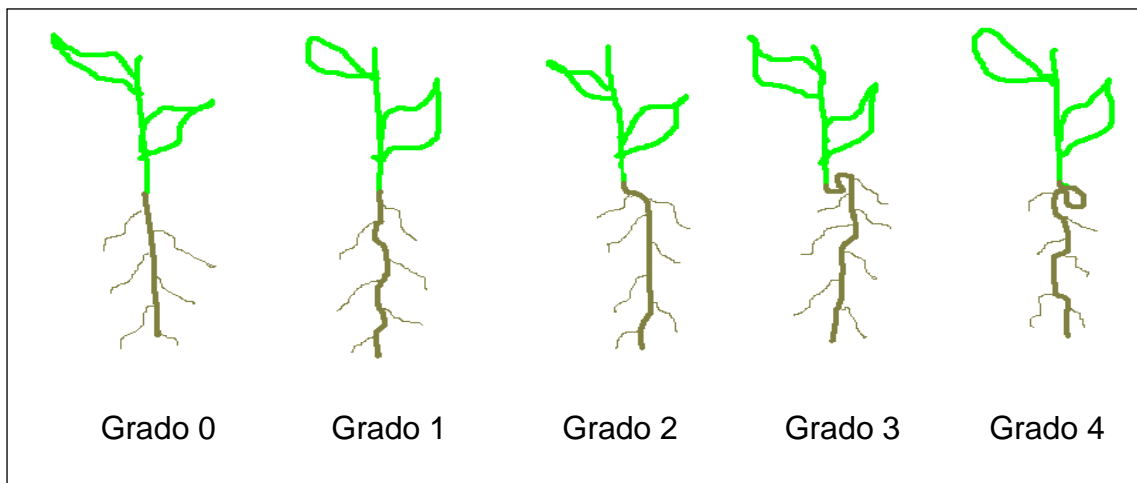


Figura 1. Clasificación de raíces de acuerdo al grado de malformación observada en la planta

Para el análisis, los datos se convirtieron a porcentajes de plantas dentro de cada clasificación de acuerdo con el número de plantas por m<sup>2</sup> de almácigo.

## **Experimento 1. Determinación del punto en que ocurre la malformación en las plantas**

### **Ubicación**

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Anatomía Vegetal, Campus Montecillo, del Colegio de Posgraduados.

### **Material vegetal**

Se colectaron plantas de limón 'Volkameriano' que presentaban malformación de raíz grado 3 y 4, del vivero 'Cazones', Cazones, Ver.

### **Muestreo**

Se tomaron 15 plantas de 5 meses, que presentaban el grado de malformación deseado, se envolvieron en papel estraza húmedo, se introdujeron en bolsas de plástico y se colocaron en una hielera. Se trasladaron al Laboratorio de Anatomía Vegetal, Campus Montecillo del Colegio de Posgraduados.

### **Cortes y tinción**

Para determinar el punto donde ocurría la malformación, con un bisturí, se hicieron cortes transversales en la planta, uno por encima y otro por debajo del sitio en que ocurría la malformación. Enseguida, se hizo un corte longitudinal atravesando la parte media de este segmento de aproximadamente 2 cm. Para teñir los cortes se sumergieron en una solución de fluoroglucinol al 2 % en etanol por 5 min. y posteriormente, en ácido clorhídrico al 50 % (en agua) por 5 min. Los cortes se observaron con un microscopio óptico Leica (Leica Microsystems AG.) y se fotografiaron con cámara digital adaptada al objetivo del microscopio. Posteriormente se realizó el análisis visual de las fotografías para determinar si la malformación se encontraba en tejido que correspondía al tallo (haces vasculares en torno a una médula) o a la raíz (cilindro vascular).

## **Experimento 2. Efecto de la posición de la semilla en la malformación de raíz**

### **Ubicación**

El trabajo se realizó en el invernadero del área de Nutrición Vegetal del Campus Montecillos, Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. La temperatura fluctuó entre 3° y 29° en los cuatro primeros meses, en los tres últimos entre 12° y 43°C.

### **Material vegetal**

Para asegurar la calidad de la semilla, se cosecharon frutos maduros y sanos del lote productor de semillas, del vivero 'Cazones', Cazones, Ver. Los frutos colectados se llevaron al laboratorio de Cultivo de Tejidos PREGEP del Campus Montecillo, Colegio de Posgraduados. Se lavaron con agua y jabón, se enjuagaron dos veces y se realizó un corte en la parte meridional exterior del fruto, sin atravesar la parte central de este, para no dañar las semillas. Los frutos se abrieron completamente girando las dos mitades en sentidos opuestos. Las semillas se extrajeron, se lavaron frotándolas vigorosamente para eliminar residuos de pulpa, se sumergieron por 10 min. en una solución de agua con cal en  $2 \text{ gL}^{-1}$  para eliminar el mucílago de la cubierta seminal (testa). Se eliminaron las semillas vanas, pequeñas, germinadas, o con daño mecánico. Se secaron por 48 h en condiciones de laboratorio ( $25^\circ \text{ C} \pm 1^\circ \text{ C}$ ) sobre una malla de tul y se cubrieron con el mismo material para evitar el contacto de insectos. Una vez secas, se colocaron en bolsas de papel estraza, se etiquetaron, se colocaron en un frasco de vidrio para evitar que se deshidrataran y se mantuvieron en refrigeración aproximadamente ( $4^\circ \pm 1^\circ \text{ C}$ ) hasta que fueron utilizadas. Se emplearon semillas de los portainjertos: mandarino 'Amblicarpa', citrange 'Carrizo', limón 'Volkameriano', y citrumelo 'Swingle'.



## **Caracterización de los frutos y las semillas**

Para caracterizar los frutos se pesaron cada uno de los frutos, posteriormente se partieron, se contó el número de carpelos, número de semillas, número de semillas abortivas y el peso total de las semillas por fruto. Una vez que las semillas se lavaron y secaron se tomaron tres muestras para determinar el peso de 100 semillas. Enseguida, con ayuda de un vernier digital se midió el largo, ancho y grosor de 100 semillas por portainjerto.

### **Sustrato**

El sustrato consistió en una mezcla de tierra-lombricomposta-agrolita 3:1:1. (V/V/V) Se aplicó 1 Kg m<sup>3</sup> de azufre en el momento de realizar la mezcla para disminuir el pH del sustrato.

Las macetas fueron vasos de poliestireno expandido No. 12 con capacidad de 180 ml a los cuales se les realizaron 4 agujeros, tres a los costados y uno al fondo para drenar el exceso de agua. Las macetas se regaron, 24 h antes de la siembra, para hidratar el sustrato.

Las semillas se sumergieron en solución de Benlate<sup>®</sup> (Benomyl) 1 gL<sup>-1</sup> por 10 min y enseguida en agua por 24 h que se cambio cada 8 h para evitar la proliferación de microorganismos. La siembra se realizó de acuerdo a los tratamientos (Cuadro 3), se colocó una semilla por maceta. Los riegos se realizaron con regadera de agujeros muy finos para evitar que la semilla fuera movida por el golpe del agua.

Las mesas donde se encontraban los tratamientos, dentro del invernadero, se cubrieron con malla-sombra, un túnel de plástico y se colocó un calentador que encendía 8 h por la noche para disminuir la fluctuación de temperatura diurna-nocturna.

### **Tratamientos**

El diseño de tratamientos fue factorial, los factores: portainjertos y posición de la semilla al momento de la siembra (Cuadro 3).

## Diseño Experimental

Se utilizó un diseño, en parcelas divididas 4 x 3 y cuatro repeticiones por tratamiento. Para su análisis, los datos de porcentaje de germinación fueron transformados a  $(X/100)^{0.5}$  y los de plantas en cada grado de malformación de raíz a  $(x+0.5)^{0.5}$  (Rodríguez *et al.*, 2000), se realizó análisis de varianza y prueba de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Los datos se procesaron con el Programa SAS<sup>®</sup> 9.2 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.). El reporte de los resultados se realizó con los datos sin transformar, por lo que en estos cuadros no se incluye la DMS y el CV.

Cuadro 3. Tratamientos evaluados para determinar el efecto de la posición de la semilla en el grado de malformación de raíz en cuatro portainjertos. Montecillo, 2009.

Tratamiento	Portainjerto	Posición de la semilla en la siembra	Repeticiones <sup>1</sup>
1	L.Volkameriano	De costado	4
2		Región micropilar hacia arriba	4
3		Región micropilar hacia abajo	4
4	L. Rangpur	De costado	4
5		Región micropilar hacia arriba	4
6		Región micropilar hacia abajo	4
7	M. Amblicarpa	De costado	4
8		Región micropilar hacia arriba	4
9		Región micropilar hacia abajo	4
10	C. Carrizo	De costado	4
11		Región micropilar hacia arriba	4
12		Región micropilar hacia abajo	4

<sup>1</sup>25 semillas por repetición

## Variables

**Porcentaje de germinación.** A los 7 meses se contó el número de semillas germinadas y se reportó en porcentaje.

**Número de plantas por semilla.** A los 7 meses se contó el número de plantas que emergieron por semilla.

**Porcentaje de plantas con malformación en tallo y raíz.** A los 7 meses las plantas se extrajeron con cuidado de los vasos y se clasificaron de acuerdo a las categorías predeterminadas por el grado de curvatura de la raíz. Estos valores se reportan en porcentaje.

### **Experimento 3. Desarrollo de plantas con diferentes grados de malformación de raíz**

#### **Ubicación**

El trabajo se llevó a cabo en el vivero comercial “Cazones”, Cazones, Ver.

#### **Material vegetal**

Plantas de 5 meses provenientes de semilla producidas en almacigo, de los siguientes portainjertos: citrange ‘Carrizo’ (*P. trifoliata* L. Raf. x *C. sinensis* L.), citrumelo ‘Swingle’ (C.P.B. 4475) y limón ‘Volkameriano’ (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.) con los grados de malformación deseados y altura uniforme de 15 cm se trasplantaron a bolsas de polietileno negras de 20 x 34 cm. Al momento del trasplante las plántulas se sumergieron en una solución de Benlate<sup>®</sup> (Benomyl) con dosis de 1 g L<sup>-1</sup>.

#### **Sustrato**

Se utilizó una mezcla de tierra vega, lombricomposta y agrolita 3:1:1 (V/V/V). Se aplicó 1Kg m<sup>-3</sup> de azufre en el momento de realizar la mezcla de sustrato. Se tomó una muestra de sustrato y se determinaron las características químicas y contenido nutrimental en el Laboratorio de Nutrición de cultivos, IRENAT, Campus Montecillo, Colegio de Posgraduados.

**Preparación de la muestra.** Se tomó una muestra de 1 K de la mezcla, se llevó al laboratorio donde se colocó en una capa delgada sobre papel, se secó a temperatura ambiente por 72 h. La muestra se molió y se pasó por un tamiz de 1-2 mm de diámetro, se colocó en una bolsa de plástico y se etiquetó. De acuerdo a

los resultados del análisis del sustrato (Cuadro 4), se considera que es fuertemente alcalino (Lucas y Davies, 1961). La conductividad eléctrica denota la presencia de sales, ya que a valores entre 2 y 4 dS m<sup>-1</sup>, como en este caso, ocurre la disminución en el rendimiento en cultivos muy sensibles (Richards, 1982). De acuerdo al contenido de materia orgánica; es un sustrato mineral (<2 %) (Mengel y Kirkby, 1987), contenido de nitrógeno total bajo (CSTPA, 1980), también es baja la capacidad de intercambio catiónico, que es característica de suelos arenosos (Mengel y Kirkby, 1987). El contenido de sodio es bajo, de calcio se considera óptimo (+ de 200 ppm) (CSTPA, 1980) y de magnesio bajo (CSTPA, 1980). La relación Ca:Mg del sustrato es 4:1, considerada alta, ya que por lo general una relación Ca:Mg de 2:1 es óptima.

Cuadro 4. Características químicas y contenido nutrimental del sustrato utilizado para el desarrollo de plantas de portainjertos de cítricos, con diferentes grados de malformación en raíz. Cazones, Ver. 2008.

pH	7.83 <sup>z</sup>	CIC	15.22 meq L <sup>-1v</sup>
CE	2.94 dS m <sup>-1y</sup>	Na	117.44 ppm <sup>u</sup>
MO	1.52 <sup>x</sup>	Ca	506.20 ppm <sup>t</sup>
Nt %	0.03 % <sup>w</sup>	Mg	123.66 ppm <sup>s</sup>

## Tratamientos

El diseño de tratamientos fue factorial. Los factores fueron tres portainjertos y cuatro grados de malformación de raíz. Los tratamientos se muestran en el cuadro 5.

El manejo de las plantas correspondió al que es realizado por el vivero comercial. Se monitorearon las plantas para control fitosanitario.

## Diseño experimental

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, en parcelas divididas y diez repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió de una planta. Se realizó análisis de varianza, prueba de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ) y

correlaciones entre las variables Los datos se procesaron con el Programa SAS® 9.2 (Statistical Analysis System, SAS Institute Inc.).

Cuadro 5. Tratamientos evaluados para determinar el efecto del grado de malformación de raíz, en el desarrollo y nutrición de tres portainjertos de cítricos. Cazones, Ver. 2008.

Tratamiento	Portainjerto	Grado de malformación de raíz	Repeticiones <sup>1</sup>
1	Citrange 'Carrizo'	0	10
2		1	10
3		2	10
4		3	10
5	Citrumelo 'Swingle'	0	10
6		1	10
7		2	10
8		3	10
9	Limón 'Volkameriano'	0	10
10		1	10
11		2	10
12		3	10

<sup>1</sup> Cada unidad experimental consistió de una planta

## Variables

**Altura de planta.** Durante el desarrollo del experimento, cada seis semanas, se midió con una cinta métrica, desde el cuello hasta el meristemo apical del tallo principal.

**Número y longitud de brotes laterales.** Cada seis semanas se contaron, se midieron y eliminaron los brotes desarrollados en las plantas. Se cuantificaron estos valores para obtener el número y el tamaño promedio de brotes por tratamiento.

A los diez meses, se llevaron las plantas, al laboratorio de Nutrición del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma de Chapingo (UACH), donde se extrajeron y lavaron con agua corriente. Enseguida se enjuagaron dos veces, una vez con agua destilada y otra con agua destilada y desionizada. Este

manejo se requirió debido a que se obtuvieron muestras para análisis de nutrientes (N, P, K, Ca, Mg y Zn). Las plantas enjuagadas se colocaron sobre papel estroza a temperatura ambiente para eliminar el exceso de agua. Enseguida se seccionaron en tallo, brotes laterales, hojas, raíz y raíces secundarias para realizar las mediciones.

**Longitud del tallo.** Al término del experimento se midió la longitud desde la base del cuello, hasta el ápice, se reportó en cm.

**Diámetro del tallo.** Al final del experimento se midió el diámetro del tallo, 20 cm arriba del cuello de la planta, con un vernier digital, el diámetro se reportó en mm.

**Número de hojas.** Se contaron todas las hojas por planta.

**Área foliar.** De cada planta se seleccionaron 10 hojas completamente maduras y expandidas y se llevaron al Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Fitotecnia de la UACH para determinar el área foliar de cada muestra con el medidor de área foliar, Area meter LI-310 (LICOR INC., Lincon, Nebraska, USA).

**Longitud de la raíz.** Se midió la longitud de la raíz desde el cuello hasta el ápice de la raíz principal y se reportó en cm.

**Número y longitud de raíces secundarias.** Se contó el número de raíces secundarias y se midió su longitud.

**Volumen de raíz.** El volumen se determinó colocando la raíz en una probeta de 200 mL que contenía un volumen de agua conocido, al sumergirla, elevó la columna de agua, éste exceso fue extraído con una pipeta. El volumen de agua extraído correspondió al volumen de la raíz en mL.

**Materia fresca, seca y contenido de agua en hojas, tallo y raíz.** Se separó la planta en hojas, tallo y raíz. La raíz se dividió en raíz principal y raíces secundarias. Se pesaron en una balanza Sartorius de 500 g, se colocaron en bolsas de papel de estraza con perforaciones y se pusieron en estufa con circulación de aire forzado a temperatura de 70° C por 72 h, después se tomó el peso de materia seca. El contenido hídrico se obtuvo de la siguiente forma:

$$\text{Contenido de agua} = \left( \frac{\text{Materia fresca}}{\text{Materia seca}} \right) \times 100$$

**Relación raíz-parte aérea.** Con los datos de materia seca correspondientes a los diferentes órganos de las plantas se obtuvo la relación raíz-parte aérea de la siguiente forma:

$$\text{Relación raíz - parte aérea} = \frac{\text{Peso seco de raíz}}{\text{Peso seco de parte aérea}}$$

**Contenido nutrimental.** Se analizó el contenido nutrimental de los tres portainjertos en hoja y tallo de plantas con malformación grados 0 y 3. Una vez obtenido el peso de la materia seca, se mezclaron 3, 3 y 4 plantas para formar tres repeticiones por tratamiento. Enseguida se pulverizaron en un molino de acero inoxidable con malla del número 20. La concentración de nitrógeno se determinó por el método Microkjeldal; el K mediante emisión atómica; P, Ca, Mg y Fe se determinaron por absorción atómica (Alcántar y Sandoval, 1999), con un espectrómetro de masas ICP (ICP AES, Varian Inc. Palo Alto, Ca.) en el laboratorio de Nutrición de cultivos, IRENAT Campus Montecillo, Colegio de Posgraduados.

#### **Experimento 4. Estudio anatómico de plantas con diferentes grados de malformación de raíz**

##### **Ubicación**

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Anatomía de la Madera de la División de Ciencias Forestales de la UACH. Se realizó anatomía de la hoja y del tallo.

## Anatomía de la hoja

### Material vegetal

Se utilizaron tres hojas completamente maduras y expandidas de cada planta de los portainjertos: 'Carrizo' (*P. trifoliata* L. Raf. x *C. sinensis*.), citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475) y limón 'Volkameriano' (*C. volkameriana*) con malformación grado 0 y 3.

### Tratamientos

El diseño de tratamientos fue factorial 3 x 2, los factores tres portainjertos y dos grados de malformación (Cuadro 6).

Cuadro 6. Tratamientos evaluados para determinar el efecto del grado de malformación de raíz, en la anatomía de tres portainjertos. Cazonas, Ver. 2008.

Tratamiento	Portainjerto	Grado de malformación	Repeticiones <sup>1</sup>
1	Citrange 'Carrizo'	0	10
2		3	10
3	Citrumelo 'Swingle'	0	10
4		3	10
5	Limón 'Volkameriano'	0	10
6		3	10

<sup>1</sup>Cada repetición constó de una planta

### Diseño experimental

Se utilizo un diseño experimental en un modelo con factores anidados, considerando factor fijo el portainjerto y como factor aleatorio las plantas seleccionadas (Weber y Skillings, 1999). A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza por medio del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) y prueba de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Se utilizaron tres hojas de cada portainjerto, cada repetición consto de una planta.

### Variables

**Densidad estomática y diámetro longitudinal de estomas.** De cada planta se tomaron tres hojas completas, maduras sin daño mecánico ni por insectos. La impresión se realizó en la parte media, abaxial de la hoja por medio del método de la de microrelieve con pegamento de secado rápido (Weyers y Meidner, 1990),



que consiste en colocar una gota de pegamento instantáneo Kola Loca® en un portaobjetos, posteriormente se presionó la hoja por un minuto sobre la gota y enseguida se despegó del portaobjetos. Se fotografiaron tres campos de 40x por hoja con el microscopio estereoscópico Leica CME (Microsystems AG, Wetzlar, Germany). Se contó el número de estomas por campo, el área del campo fue de 0.8418 mm<sup>2</sup>, la densidad se expresó en estomas/mm<sup>-2</sup> por medio del programa Image Tool V3.0 (UTHSCSA, University of Texas Health Science Center, San Antonio, Texas). De la misma forma, se midió el diámetro longitudinal de 5 estomas elegidos al azar.

## Anatomía del tallo

### Material vegetal

Se tomó una muestra de tallo, cinco centímetros por encima del cuello; de plantas con raíz malformada grados 0 y 3, de los tres portainjertos evaluados: citrange 'Carrizo' (*P. trifoliata* L. Raf. x *C. sinensis.*), citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475) y limón 'Volkameriano' (*C. volkameriana.*).

### Tratamientos

El diseño de tratamientos fue factorial, los factores fueron los portainjertos y dos grados de malformación. Los tratamientos se muestran en el cuadro 7

Cuadro 7. Tratamientos evaluados para determinar el efecto del grado de malformación de raíz, en la anatomía de tres portainjertos. Cazonas, Ver. 2008.

Tratamiento	Portainjerto	Grado de malformación	Repeticiones <sup>1</sup>
1	Citrange 'Carrizo'	0	3
2		3	3
3	Citrumelo 'Swingle'	0	3
4		3	3
5	Limón 'Volkameriano'	0	3
6		3	3

<sup>1</sup>Cada repetición constó de una planta

## **Diseño experimental**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar. A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza por medio del paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) y prueba de medias por Tukey ( $P \leq 0.05$ ). Se realizaron correlaciones entre densidad estomática, largo y ancho de estomas.

## **Variables**

**Densidad, área del lumen, perímetro, diámetro longitudinal y transversal de vasos.** Las muestras de 1 cm de tallo, se colocaron en solución de FAA (Agua 35 %, ácido acético 5 %, formol 10 % alcohol 50 %), Por medio del xilotomo (JUNG, Albrecht Jung GmbH & Co KG) se realizaron cortes de 30  $\mu\text{m}$ . Cuando fue necesario, debido a la dureza de las muestras, se colocaron en el digestor por 1.5 min a 1  $\text{kg}/\text{cm}^2$  presión de para realizar el corte. Una vez obtenidos los cortes se les aplicó colorante pardo de Bismarck (100 mL de alcohol 50 %: 1 g de pardo de Bismarck) por 24 h. Después de esto, se enjuagaron con agua destilada hasta que se eliminó el exceso de colorante y se colocaron en frascos con agua destilada. Pevio al montaje las muestras se deshidrataron sumergiéndolas en solución de alcohol al 96 % por tres min, después en alcohol absoluto por tres min más y por último en xilol por tres segundos. Las muestras se colocaron sobre un portaobjeto y con dos gotas de resina entellán, se sellaron con el cubreobjeto. Las muestras montadas se llevaron al microscopio estereoscópico Leica CME (Microsystems AG, Wetzlar, Germany) y se fotografiaron los cortes con el objetivo 40x con una cámara Motican 350 (Motic Instruments) adaptada a uno de los oculares, siguiendo una línea radial a lo largo del diámetro del tallo, las imágenes se guardaron con el programa Motic Image Plus 2.0. (Motic Instruments). Posteriormente, con el programa computacional Image tool V 3.0 UTHSCSA (Texas Health Science Center, San Antonio, Texas) se contó el número de vasos y se calculó el área del lumen del vaso.

**Área del xilema ( $\text{mm}^2$ ).** Cada corte transversal del tallo, se colocó en un microscopio Leica CME (Microsystems AG, Wetzlar, Germany) se enfocó con el

objetivo 10x y se fotografió el corte completo con una cámara Motican 350 (Motic Instruments) adaptada a uno de los oculares. Posteriormente se utilizó el programa computacional Image tool V 3.0 UTHSCSA (Texas Health Science Center, San Antonio, Texas) para obtener el área total del xilema al cual se le restó el área de la médula.

**Área conductora total (mm<sup>2</sup>).** Se calculó el área conductora total en mm<sup>2</sup> utilizando la densidad de vasos (mm<sup>2</sup>), el área media del lumen de vasos (µm<sup>2</sup>) y el área total del xilema de cada corte (mm<sup>2</sup>) de la siguiente manera:

Área conductora total = (densidad de vasos) (área del lumen de vasos) (área del xilema)

**Grosor de la corteza (µm).** Las muestras montadas se fotografiaron con el objetivo 10x y se midió, por medio del programa Image Tool V 3.0 UTHSCSA (Texas Health Science Center, San Antonio, Texas), el grosor de la corteza en los cuatro puntos cardinales del corte transversal del tallo.

## CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### **Diagnóstico. Proporción de plantas con malformación de raíz en vivero**

Los portainjertos evaluados en los viveros fueron: limón 'Volkameriano', mandarina 'Amblicarpa', lima 'Rangpur' citrumelo 'Swingle' y citranges 'Carrizo' y 'Troyer'

De acuerdo a lo indicado por Davies y Albrigo (1998), el número de plantas por m<sup>2</sup> varía con el vigor del portainjerto. Sin embargo el tamaño de las semillas, además del grado de poliembrionía varía y esto afecta el número de plantas por m<sup>2</sup> de almácigo

El número de plantas desarrolladas, desechadas y trasplantadas por m<sup>2</sup> se presentan en el cuadro 8. Las plantas desechadas corresponden a las que presentan malformación de raíz grado 3 y 4. El número de plantas por metro cuadrado fue mayor en limón 'Volkameriano' (1187) y menor (644) en citrange 'Carrizo'. Si consideramos por grupos ("trifoliados" vs "hoja simple"), los trifoliados tienen 658 plantas/m<sup>2</sup> en promedio; mientras que los de hoja simple 1114. Esto es importante porque repercutirá en el número de plantas desechadas y deberá ser factor fundamental en el momento de seleccionar un portainjerto.

El número de plantas desechadas fue de 180 en citrange 'Carrizo' y hasta 410 en mandarina 'Amblicarpa', que en porcentajes corresponden al 27.9 y 35.7 % respectivamente, pero en el portainjerto donde se desecharon más plantas fue citrange 'Troyer' con 46.4 % (Cuadro 8). Considerando que el número de plantas desechadas por metro cuadrado es superior al 34 %, éste aspecto debería ser tomado en cuenta por los viveristas que por éste factor necesitan establecer 40 % más semilla.

Cuadro 8. Número de plantas por m<sup>2</sup> de almácigo, desechadas y trasplantadas de los portainjertos evaluados. Ver. 2008.

Portainjerto	Plantas / m <sup>2</sup>	Desechadas	Trasplantadas
L. Volkameriano	1187	328	859
M. Amblicarpa	1148	410	738
L. Rangpur	1009	312	697
C. Swingle	667	252	415
C. Troyer	663	308	355
C. Carrizo	644	180	464

De acuerdo a las categorías establecidas para este trabajo las tres primeras clasificaciones corresponden a las plantas con raíz apta para el trasplante, las dos últimas deben ser desechadas y corresponden a las plantas que presentan malformación en tallo o en raíz grado 3 y 4 (Cuadro 9). El porcentaje de plantas aptas para el trasplante (malformación 0, 1 y 2) fue de 53 % para citrange ‘Troyer’ hasta 72 % en limón ‘Volkameriano’, los demás portainjertos se ubican entre éstos dos (62 al 71 %). Al observar el porcentaje de plantas de cada grado, citrumelo ‘Swingle’ y citrange ‘Carrizo’ presentaron mayor proporción de plantas con raíz recta (grado 0), mientras que citrange ‘Carrizo’ es el menor con 8 % esto es importante porque los tres son trifoliados. En el grado 2, destaca limón ‘Volkameriano’ (31 %) y es la categoría donde hubo menos variación (23 - 30 %). En el grado 3 el mayor es mandarina ‘Amblicarpa’ con 28 % y el menor citrumelo ‘Swingle’ con 13 % al igual que en el primer grupo la variación fue grande (13 al 27 %).

Cuadro 9. Porcentaje de plantas con malformación de raíz, en dos viveros productores de planta certificada. Ver. 2008

Portainjerto	Grado de malformación de raíz (Porcentaje de plantas por m <sup>2</sup> )				
	0 <sup>2</sup>	1	2	3	4
C. Swingle	21.84	26.54	13.66	19.09	9.46
C. Carrizo	21.20	26.02	24.70	19.43	6.28
L. Rangpur	17.25	25.82	25.18	27.99	3.75
L. Volkameriano	13.89	30.98	27.38	25.28	2.48
M. Amblicarpa	11.70	23.84	28.61	25.04	10.80
C. Troyer	8.08	25.54	19.47	32.93	12.95

<sup>2</sup>Grado 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con un ángulo  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con dos curvaturas ; 4 = con giro de 360°

Desde hace tiempo, ha sido reconocida la necesidad de descartar plantas de portainjertos de cítricos producidas en vivero, debido a que presentan malformación de raíz, de acuerdo a lo señalado por Teófilo (1991) los viveristas llegan a sembrar de dos a cuatro veces más semillas de la cantidad de plantas que se desea producir. Sin embargo, con base a los datos obtenidos, sólo se deben utilizar del 30 al 50 % más semillas para asegurar el número de plantas. El hecho de que en la literatura no existen reportes de la proporción de plantas que presentan raíz malformada impide visualizar el problema, por lo que es necesario continuar con estos estudios en otras especies y disminuir los problemas en campo. Los trabajos relacionados con este problema se han limitado a estudiar el efecto de la posición de la semilla al momento de la siembra (Moreira y Donadio, 1968; Rodríguez *et al.*, 2000), que si bien son útiles, no aportan datos reales del problema en vivero.

La variación en los porcentajes de planta con malformación de raíz entre los portainjertos hace suponer un factor genético en la manifestación de la malformación. Al realizar el diagnóstico se observaron plantas que crecían enroscadas una con la otra, lo cual puede deberse a la cantidad de embriones germinados por la semilla, que varía entre portainjertos. Debido a que las semillas son poliembriónicas, varios embriones pueden estar en desarrollo al mismo tiempo, y que la radícula gire en torno a otro embrión en desarrollo, provocando el enroscamiento de las plantas. Además la poliembriónía afecta la posición del embrión dentro de la semilla, ya que cuando se desarrolla un embrión, este se encuentra recto, pero cuando existen más de uno, pueden flexionarse para acomodarse en la semilla (Sánchez-Damas *et al.*, 2006), lo cual puede provocar los giros al momento de la emergencia. Con base en lo anterior, deberíamos esperar que las semillas con más embriones y mayor porcentaje de poliembriónía presenten más problemas.

Al realizar el diagnóstico, se encontró que la malformación ocurría también por encima del cuello, en el tallo. Se determinó el número de plantas por surco que la

presentaban (Cuadro 10, Figura 2) citrumelo ‘Swingle’ fue el portainjerto que presentó mayor proporción de plantas con éste problema (9.42 %) los citranges ‘Carrizo’ y ‘Troyer’ presentaron solo el 1 y 2 %. Los portainjertos, lima ‘Rangpur’, limón ‘Volkameriano’ y mandarina ‘Amblicarpa’ no presentaron malformación de tallo. Como se indicó, esto se puede deber al número de embriones por semilla.

Cuadro 10. Número y porcentaje de plantas con malformación en tallo en los portainjertos evaluados. Ver. 2008.

Portainjerto	Malformación en tallo	
	Número de plantas	Porcentaje de plantas por m <sup>2</sup>
C. Carrizo	62	9.42
C. Troyer	16	2.37
C. Swingle	7	1.03
L. Rangpur	0	0.00
L. Volkameriano	0	0.00
M. Amblicarpa	0	0.00



Figura 2. Malformación de tallo en plantas de citrumelo ‘Swingle’ proveniente de semilla en vivero.

### Experimento 1. Determinación del tejido en el que ocurre la malformación de la raíz y tallo en plantas de portainjertos de cítricos

El material vegetal utilizado en éste caso fueron plantas de limón ‘Volkameriano’. Aún cuando en el diagnóstico se observó que las plantas de los

portainjertos lima 'Rangpur', mandarino 'Amblicarpa' y limón 'Volkameriano' no presentaban malformación en tallo. El examen anatómico en las plantas de limón 'Volkameriano' reveló que la malformación se puede encontrar en tejido que corresponde a raíz, cuello o el tallo (Figuras 3, 4, y 5), sin embargo, debido a que la malformación del tallo está próxima al cuello, a simple vista parece que la malformación se encuentra en la raíz. El estudio anatómico permitió constatar que la malformación también se presenta en el tallo de limón 'Volkameriano', mandarinos 'Cleopatra' y 'Amblicarpa'.

Anatómicamente se han distinguido dos grandes regiones en los cortes longitudinales de las zonas donde se localiza la malformación, estas son: 1) "corteza", que corresponde a una región sin tinción con fluroglucinol y ácido clorhídrico, lo que indica gran cantidad de parénquima (tejido con paredes primarias) el cual, al no presentar pared secundaria, ni lignina, no tiñe con el fluroglucinol y; 2) "tejido vascular" región que tiñó de rojo con el fluroglucinol (reacción positiva a la lignina) ésta zona corresponde mayoritariamente al xilema secundario (Figuras 3 y 4). La médula sólo se observa en el tallo y generalmente estas células colapsan con el ácido clorhídrico mostrando un hueco en los cortes (Figura 4 y 5).

La región "corteza" incluye todo el tejido localizado desde el cambium vascular hasta el exterior pasando por: a) el floema secundario y b) el floema primario, c) la felodermis, d) el felógeno y e) el súber exterior (Figura 4).

La región "tejido vascular" incluye al tejido formado del cambium vascular hacia el interior del tallo o de la raíz comprende a) el xilema primario y b) el xilema secundario.

En las figuras 3, 4 y 5 se observa que en el área de la malformación la "corteza" es más gruesa y la región del "tejido vascular" es delgada. Se ha determinado que el estrés físico por secado del suelo, anaerobiosis e



impedimento mecánico causan incremento en el diámetro de la región de corteza en raíces de algodón, de acuerdo con los autores, el cambio morfológico fue inducido por etileno endógeno (Lijima y Kato, 2007).

La malformación también puede estar localizada en la región del cuello de la planta. La aparición de raíces adventicias por encima de la malformación ha sido reportada en plantas de *Pinnus* con malformación radical debida a trasplante defectuoso. Esto ha sido atribuido a la acumulación de carbohidratos por encima de la malformación, los cuales son canalizados en raíces laterales que se originan cerca de la zona de acumulación, debido a la obstrucción en el transporte floemático (Hay y Woods, 1975).

Debido a que la malformación se presenta tanto en tallo como cuello y raíz en semillero, hace suponer el efecto de impedimento mecánico durante el desarrollo temprano del embrión, en la fase de elongación celular, o durante la emergencia de la radícula y el rompimiento de la testa. Se ha reportado que la cubierta seminal actúa como una barrera que impide la germinación de la semilla (Mumford y Grout, 1979) y que el porcentaje de germinación se incrementa con la remoción de la testa, además amplía el intervalo de temperatura a la cual ocurre la germinación, sin embargo, al comparar la germinación de semillas con y sin cubierta seminal, se observó que la testa no es la única barrera para la germinación exitosa de citrus (Wiltbank *et al.*, 1995).

Aun cuando existe información sobre diversos tratamientos pregerminativos en semillas de portainjertos de cítricos, en los que se hace la remoción mecánica de la testa, no se han asociado a la proporción de plantas con malformación (Wiltbank *et al.*, 1995; Mendes *et al.*, 2008). Por lo que es necesario profundizar la investigación de estos tratamientos y relacionarlos con la malformación de raíz en las plantas. El hecho de que las malformaciones ocurran en raíz, cuello o tallo permite suponer que diversos factores pueden estar asociados.

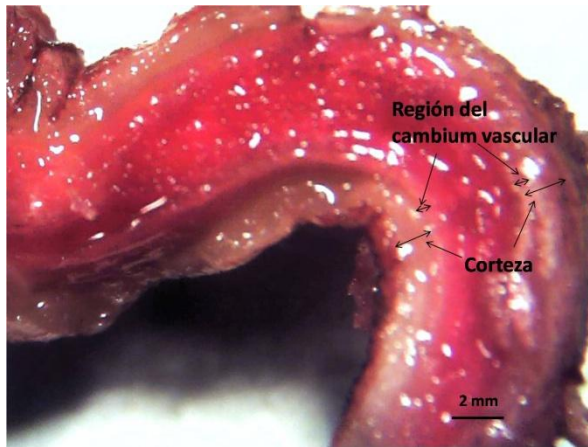


Figura 3. Malformación en raíz en plantas de limón 'Volkameriano' se observa incremento en el grosor de la región "corteza" (c) y disminución del diámetro de la región "cambium vascular". No se observó la región de la médula, por lo que toda la región mostrada corresponde a raíz.

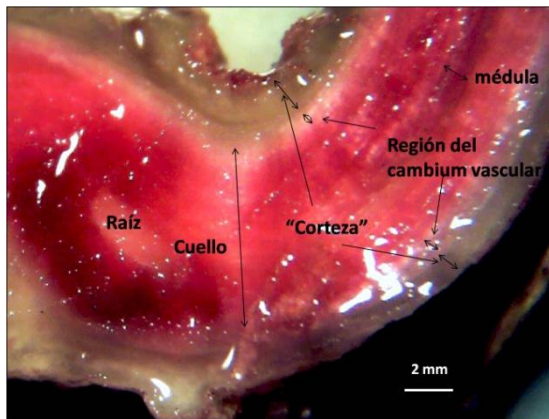


Figura 4. Corte longitudinal en cuello de limón 'Volkameriano' la malformación se encuentra justo en la unión del tallo con la raíz, se observa incremento en grosor de la región "corteza" (c) y la disminución del diámetro de la región "cambium vascular" (cv). (m) = médula

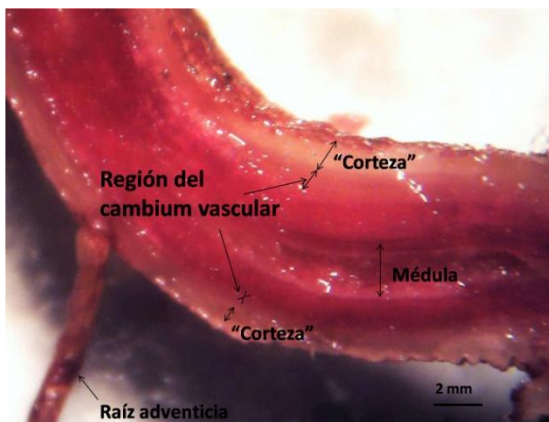


Figura 5. Corte longitudinal de tallo en planta de limón 'Volkameriano', con raíz adventicia (RA) desarrollada por encima de la malformación (c= región "corteza" y cv = región "cambium vascular").

## **Experimento 2. Efecto de la posición de la semilla al momento de la siembra en la malformación de raíz**

Éste trabajo tiene como objetivo definir el efecto de la posición de la semilla en la malformación. Se emplearon semillas de los portainjertos: mandarino 'Amblicarpa', citrange 'Carrizo', limón 'Volkameriano' y citrumelo 'Swingle'.

Amorós (2003) caracteriza los frutos de forma general, de acuerdo al tamaño (chico, medio, grande) grosor del albedo (fino, medio, grueso, duro) número de carpelos, número de semillas (elevado, medio, pocas, ninguna). En el caso de portainjertos, no existen reportes específicos sobre estas características. Debido a que el tamaño de los frutos y el número de semillas es diferente entre portainjertos, es necesario tener información de cada uno de los sitios donde se desea hacer la propagación para evitar extrapolar los resultados obtenidos en otros países, por lo que se realizó la caracterización de los frutos y semillas.

### **Caracterización del fruto y las semillas**

Limón 'Volkameriano' es el portainjerto que presentó los frutos más pesados (206.79 g), seguidos por citrumelo 'Swingle', lima 'Rangpur', citrange 'Carrizo' y los de menor tamaño correspondieron a mandarino 'Amblicarpa' (20.97 g). El fruto de 'Swingle' presentó el albedo-flavedo (8.85 mm) más grueso y 'Amblicarpa' (1.44 mm) el de menor espesor (Cuadro 11).

El número de carpelos por fruto fue desde 7 hasta 14, y el comportamiento difirió entre portainjertos; mientras que en mandarino 'Amblicarpa', todos los frutos tenían 10 carpelos, en lima 'Rangpur, citrange 'Carrizo' fueron de 7 a 10 y citrumelo 'Swingle', mostró la mayor variabilidad con rango de 5 a 14 carpelos por fruto (Cuadro 11). Considerando que en cada carpelo se pueden formar 4 semillas, esto explica las diferencias observadas entre portainjertos.

Cuadro 11. Peso del fruto (g), grosor del albedo-flavado (mm), número de carpelos, por fruto, de cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver., 2008.

Portainjerto	Variables por fruto <sup>2</sup>		
	Peso del fruto (g)	Grosor del albedo-flavado (mm)	Carpelos (Número)
M. Amblicarpa	20.97 ± 6.60	1.44 ± 0.87	10.00 ± 0
C. Swingle	194.99 ± 89.54	8.85 ± 7.09	9.35 ± 4.5
C. Carrizo	54.82 ± 16.62	2.31 ± 0.76	8.91 ± 1.5
L. Volkameriano	206.79 ± 74.26	4.25 ± 2.03	8.70 ± 1.5
L. Rangpur	102.90 ± 40.17	1.87 ± 0.70	8.84 ± 1.0

<sup>2</sup>n = 20 frutos

El número de semillas por fruto obtenido en limón 'Volkameriano' y lima 'Rangpur' (Cuadro 12) es superior al reportado por Colauto y Colozzi (1992) para éstas especies y confirma lo indicado por Andrade, *et al.* (2004) quienes señalan que existen diferencias en el número de semillas dependiendo de la región geográfica y el año de evaluación, lo que indica que esta característica puede ser afectada por el ambiente.

Cuadro 12. Número de semillas, peso de las semillas (g), número de semillas abortivas, por fruto de cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver. 2008.

Portainjerto	Variables por fruto <sup>2</sup>	
	Semillas (número)	Peso semillas (g)
C. Carrizo	21.86 ± 12.0	6.34 ± 7.0
L. Volkameriano	19.50 ± 14.0	2.89 ± 12.5
L. Rangpur	17.52 ± 6.5	2.06 ± 6.5
M. Amblicarpa	11.44 ± 6.5	1.33 ± 0.57
C. Swingle	10.53 ± 13.5	2.99 ± 15.3

<sup>2</sup>n = 20 frutos

Al analizar la proporción del peso del fruto que correspondió a semillas desarrolladas, citrange 'Carrizo' presentó mayor proporción 11.56 %; mandarino 'Amblicarpa' 6.33 % y en lima 'Rangpur', citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano' solo el 2.00, 1.54 y 1.40 % respectivamente (Cuadro 13). El mayor valor en citrange 'Carrizo' no se debe únicamente al peso promedio de una semilla, sino al mayor número de semillas por fruto (21.86) (Cuadro 13). En el

caso de limón ‘Volkameriano’ aún cuando el peso de las semillas es del 2.89 % del peso total del fruto, el número de semillas por fruto es alto (19.5).

El número de semillas abortivas en citrumelo ‘Swingle’ representa el 74.57 %, del total de semillas formadas, solo el 25.43 % se desarrollaron completamente, lo cual indica problemas de polinización y fecundación o aborto del embrión. Mandarino ‘Amblicarpa’ presenta la menor proporción, solo el 10.43 %. Aún cuando el número de semillas en el fruto es importante, no se encuentran en la literatura reportes en relación a esta característica (Cuadro 13).

Cuadro 13. Porcentaje de semillas por fruto, peso promedio de semilla (g) y porcentaje de semillas abortivas por fruto (%) en cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver. 2008.

Portainjerto	Peso del fruto que corresponde a semillas <sup>z</sup> (%)	Peso promedio de 1 semilla <sup>y</sup> (g)	Semillas abortivas <sup>z</sup> (%)
C. Carrizo	11.56	0.2898	10.43
M. Amblicarpa	6.33	0.1159	74.57
L. Rangpur	2.00	0.1178	30.99
C. Swingle	1.54	0.2844	48.41
L. Volkameriano	1.40	0.1481	29.30

<sup>z</sup> n = 20 frutos; <sup>y</sup> n = 100 semillas

El tamaño de la semilla es diferente entre portainjertos. Citrumelo ‘Swingle’ presenta las semillas más grandes en largo, ancho y grosor, seguidas por citrange ‘Carrizo’, las de menor tamaño corresponden a lima ‘Rangpur’ Las semillas más uniformes fueron las de mandarino ‘Amblicarpa’, limón ‘Volkameriano’ y citrumelo ‘Swingle’ (Cuadro 14). Aún cuando estos aspectos son importantes para definir la calidad de las semillas de cítricos, son pocos los trabajos donde se analizan.

La forma de las semillas determinada por la relación largo/ancho, en los portainjertos es de 2.19 en lima ‘Rangpur’ a 1.9 en citrange ‘Carrizo’ que son mas redondeadas (Cuadro 14). Aún cuando no se ha relacionado la forma de la semilla con la malformación, las semillas de forma alargada dispondrían de menor superficie para el alargamiento y emergencia de la radícula, lo que podría incrementar la malformación.

Cuadro 14. Largo (mm), ancho (mm), grosor (mm) y relación ancho/largo, en semillas de cinco portainjertos de cítricos. Cazones, Ver., 2008.

Portainjerto	Largo (mm) <sup>2</sup>			Ancho (mm) <sup>2</sup>			Grosor (mm) <sup>2</sup>			L/A
	Max	media	Min	Max	Media	Min	Max	Media	Min	Media
C. Swingle	18.26	13.16	8.58	8.61	6.5	4.59	7.31	5.12	2.68	2.02 : 1
C. Carrizo	15.64	12.62	9.14	9.03	6.63	4.42	7.65	5.53	2.63	1.90 : 1
M. Amblicarpa	12.39	10.63	8.39	6.66	4.99	3.14	4.82	3.49	2.28	2.13 : 1
L. Volkameriano	12.09	10.20	7.75	6.63	4.92	2.86	5.09	3.64	2.47	2.07 : 1
L. Rangpur	12.04	9.49	7.24	9.47	4.32	2.88	5.14	3.61	2.56	2.19 : 1

<sup>2</sup>n = 100 semillas; L = Largo; A = ancho

### Porcentaje de germinación

Debido a los bajos porcentajes de germinación el análisis estadístico no mostró interacción entre la posición de la semilla y el portainjerto utilizado en la malformación de raíz (Cuadro 1 A).

Se encontró que la posición de la semilla no afectó el porcentaje de germinación, sin embargo si existieron diferencias debido al portainjerto utilizado (Cuadro 15). Mandarino ‘Amblicarpa’ y lima ‘Rangpur’ superaron a limón ‘Volkameriano’ y citrange ‘Carrizo’. Shinde *et al.* (2007) indican que el porcentaje de germinación está relacionado con el vigor de los portainjertos y lima ‘Rangpur’ tiene alto porcentaje de germinación (81%) en comparación con mandarino ‘Cleopatra’ y citrange ‘Troyer’ (59 y 48% respectivamente) considerados menos vigorosos. En éste caso, aún cuando ‘Volkameriano’ es considerado vigoroso (Pérez-Zamora *et al.*, 2002), fue superado por mandarino ‘Amblicarpa’ y lima ‘Rangpur’. Nava *et al.*, (1996) encontraron porcentajes de germinación bajos en naranjo ‘Agrio’ (50.5 %), mandarino ‘Cleopatra’ (68.1 %), citranges ‘Carrizo’ (32.4 %) y ‘Troyer’ (30.1 %) y atribuyeron esto a las condiciones de almacenamiento de la semilla antes de realizar el experimento, lo cual ha sido reconocido desde hace tiempo. Villegas y Andrade (2005) encontraron que el porcentaje de germinación depende del contenido de humedad de la semilla y de las condiciones de almacenamiento, y a las condiciones de la temperatura durante la germinación. Durante el desarrollo del experimento, se presentaron fluctuaciones de

temperatura entre 18° y 32°C, lo que prolongó la germinación 120 días. Shäfer *et al.* (2005), encontraron que la germinación de *P. trifoliata*, citranges ‘Troyer’ y ‘Carrizo’ y lima ‘Rangpur’ inició a los 24 días y se prolongó por casi 160 días cuando las temperaturas fluctuaron entre 14.5° y 30°C.

Cuadro 15. Porcentaje de germinación de semillas de cuatro portainjertos, colocadas en tres posiciones al momento de la siembra. Montecillo, 2009.

Portainjerto	Porcentaje de germinación
M. Amblicarpa	43.93 a <sup>z</sup>
L. Rangpur	42.53 a
L. Volkameriano	29.67 b
L. Carrizo	29.67 b
CV <sup>y</sup>	13.70
DMS <sup>x</sup>	0.11

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>y</sup>Coefficiente de variación; <sup>x</sup> Diferencia mínima significativa

### Número de plantas por semilla

El número de plantas obtenidas por semilla fue reducido, en promedio se desarrollaron dos plantas en 10/100 semillas; y tres plantas 1/100, debido a la baja temperatura presente en el momento en que se realizó el experimento. Aún cuando los portainjertos presentan alto grado de poliembrionía, cuando la proporción de embriones aumenta, el número de embriones pequeños es mayor, y tienen crecimiento inicial menor (Shäfer *et al.*, 2005), debido a que los embriones pequeños tienen poseen menores reservas (Sánchez-Damas *et al.*, 2006). Dado que la temperatura es el principal factor que afecta la velocidad de emergencia (Wiltbank, *et al.*, 1995) bajas temperaturas ponen en desventaja a estos embriones, lo cual podría explicar los resultados obtenidos en ésta investigación.

## Porcentaje de plantas con los diferentes grados de malformación de raíz

El análisis de varianza no mostró interacción entre portainjerto y posición de la semilla (Cuadro 1 A). Pero sí se encontraron diferencias en el número de plantas con malformación entre portainjertos y entre posiciones de las semillas al momento de la siembra.

La proporción de plantas que presentaban malformación de raíz grados 0, 1 y 2 varió entre portainjertos (Cuadro 16), citrange 'Carrizo' tuvo mayor porcentaje de plantas que deben desecharse 18.68 % (malformación de tallo y de raíz grados 3 y 4), seguido por mandarino 'Amblicarpa' 16.75 %. Estos porcentajes son inferiores a los observados en el diagnóstico (Cuadro 9) y se puede deber a las condiciones ambientales poco favorables que prevalecieron durante el desarrollo de la investigación, por lo que sería conveniente repetir éste trabajo.

Cuadro 16. Efecto de la posición de la semilla, en el porcentaje de plantas con diferente grado de malformación de raíz y tallo. Montecillo, 2009.

Portainjerto	Plantas malformadas (%)					
	Tallo	Grado de malformación de raíz				
		0 <sup>x</sup>	1	2	3	4
M. Amblicarpa	4.63 a	7.38 b	64.64 a	11.24 ab	9.22 a	2.90 a
C. Carrizo	2.12 a	11.17 b	40.62 ab	29.53 a	12.12 a	4.44 a
L. Rangpur	1.32 a	51.08 a	34.87 ab	10.62 ab	0.64 a	1.47 a
L. Volkameriano	0.00 a	69.57 a	22.65 b	4.56 b	0.00 a	3.21 a

<sup>2</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con un ángulo  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con dos curvaturas; 4 = con giro de  $360^\circ$

La prueba de medias mostró que la posición de la semilla influyó únicamente en la malformación 2. Cuando la semilla fue colocada con el micrópilo hacia abajo se presentaron los menores porcentajes (Cuadro 17), las posiciones de costado y con el micrópilo hacia arriba presentaron medias similares.

Esto sugiere que la malformación de raíz grado dos está relacionada con la posición de la semilla. La malformación 2 corresponde a un doblez en la raíz, lo



cual tiene sentido, debido a que si la semilla se encuentra con el micrópilo hacia arriba una vez que emerge la radícula, tiene que girar en el sentido de su crecimiento geotrópico (Agustí, 2003).

Aún cuando no se observaron diferencias entre tratamientos para los demás grados de malformación de raíz, al sumar el porcentaje de raíces grado 0 y 1 que corresponden a las plantas útiles, la posición de la semilla con micrópilo hacia abajo suma 93.8 % y con micrópilo hacia arriba únicamente 64.37 %.

Rodríguez *et al.* (2000), encontraron en lima ‘Rangpur’ que la posición de la semilla con el micrópilo hacia arriba incrementó el número de raíces malformadas a 29.5 %. En éste trabajo, aún cuando no existen diferencias entre tratamientos en malformación en tallo y raíces grado 3 y 4, el número de plantas que deben desecharse cuando la semilla es colocada con el micrópilo hacia arriba es de 16.11 %, de costado 8.84 % y con el micrópilo hacia abajo únicamente de 4.22 %. Por lo tanto, la posición de la semilla influye en el número de plantas malformadas y puede ser la causa principal de ésta. Sin embargo no explica completamente la malformación de la raíz. Además, en éste caso, debido a los bajos porcentajes de germinación obtenidos, las diferencias observadas entre los portainjertos hace suponer que existe un factor genético en la manifestación de la malformación de raíz.

Cuadro 17. Efecto de la posición de la semilla, en el porcentaje de plantas con diferente grado de malformación de raíz. Montecillo, 2009.

Posición de la semilla	Plantas malformadas (%)					
	Tallo	Grado de malformación de raíz				
		0 <sup>x</sup>	1	2	3	4
De costado	1.56 a <sup>z</sup>	32.52 a	35.77 a	20.49 a	7.28 a	2.38 a
Micropilo hacia arriba	2.93 a	29.11 a	35.26 a	19.53 a	7.90 a	5.28 a
Micropilo hacia abajo	1.56 a	42.77 a	51.06 a	1.94 b	1.30 a	1.36 a

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

<sup>x</sup> Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con un ángulo  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con dos curvaturas; 4 = con giro de  $360^\circ$

### **Experimento 3. Desarrollo de plantas con diferentes grados de malformación de raíz**

Debido a que en la literatura no hay información respecto al efecto de la malformación de la raíz en el desarrollo de las plantas en vivero, se emplearon plantas de 25 cm de los portainjertos limón 'Volkameriano', citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo', con 3 grados de malformación de raíz y se evaluó su comportamiento durante 40 semanas, tiempo considerado óptimo para tener plantas aptas para ser injertadas.

#### **Altura de la planta**

El comportamiento de los portainjertos ante ésta variable fue diferente. En la primera evaluación (ocho semanas), citrange 'Carrizo' fue superior a citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano'. Sin embargo a las 16 semanas no hubo diferencias entre portainjertos. A las 24 semanas limón 'Volkameriano' superó a citrumelo 'Swingle' pero fue igual a citrange 'Carrizo'. A las 32 semanas limón 'Volkameriano' superó a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' y a las 40 semanas limón 'Volkameriano' superó a citrange 'Carrizo' pero fue igual a citrumelo 'Swingle' (Cuadro 18). El mayor crecimiento que presentó limón 'Volkameriano' en vivero ha sido observado por otros investigadores (Girardi *et al.*, 2007) y ubican a éste portainjerto como vigoroso.

La altura de los tres portainjertos en los cuatro tipos de raíz se muestran en la figura 6, y no sorprende que se aprecian diferencias debido a ése factor. En citrange 'Carrizo' las plantas que crecieron más fueron las de raíz 3 éste aspecto es importante y justifica la eliminación de plantas con raíz de éste tipo porque no se pueden detectar en vivero por la altura de plantas.

Se ha establecido que citrange 'Carrizo' es un portainjerto que induce enanismo en plantas, sin embargo, su desarrollo en vivero es rápido. En este

trabajo se pudo observar como el desarrollo de este portainjerto disminuye con el tiempo (Figura 6).

Cuadro 18. Altura de la planta de tres portainjertos 8, 16, 24, 32 y 40 semanas después del trasplante. Cazonos, Ver. 2008.

Portainjerto	Longitud del tallo <sup>y</sup> (cm)				
	Semanas después del trasplante				
	8	16	24	32	40
C. Carrizo	32.72 a <sup>z</sup>	43.29 a	51.51 ab	55.06 b	63.56 b
C. Swingle	29.74 b	43.28 a	46.30 b	54.53 b	68.37ab
L. Volkameriano	28.20 b	41.49 a	53.51 a	64.65 a	71.50 a
C.V. <sup>x</sup>	16.39	0.42	16.86	19.16	21.18
DMS <sup>w</sup>	2.59	2.75	5.21	6.21	7.44

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>y</sup>Media de 20 plantas; <sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>w</sup>Diferencia mínima significativa

No se encontraron diferencias en la longitud del tallo entre grados de malformación de la raíz (Cuadro 2 A). Este experimento se estableció con plantas de 25 cm de alto en todos los grados de malformación de raíz. Sin embargo, en semillero, se ha observado que el desarrollo de las plantas con raíz malformada se retrasa. El tiempo de evaluación no permitió observar las diferencias en altura de las plantas que presentan este problema. En la Figura 6, se muestra la dinámica de crecimiento para los portainjertos con los diferentes grados de malformación.

### Número de brotes laterales

La emisión de brotes laterales es una característica no deseable en los portainjertos, ya que requieren mayor mano de obra para la eliminación de éstos y representan pérdida de energía por la planta. El número promedio de brotes por planta en limón 'Volkameriano' (Cuadro 19) fue mayor que en citrange 'Carrizo' y citrumelo 'Swingle' para todas las fechas evaluadas. En todos los portainjertos se observa la tendencia a incrementar el número de brotes laterales con la edad de la planta.

No se observa una tendencia en el número de brotes laterales por grado de malformación de raíz (Cuadro 19). Sin embargo, al contrastar la malformación grado 0 y 3, durante las 40 semanas de evaluación, en limón 'Volkameriano' se observa que el número de brotes disminuyó con la malformación; en citrumelo 'Swingle' se mantuvo y en citrange 'Carrizo' se incrementó.

Cuadro 19. Número promedio de brotes laterales en tres portainjertos, en cinco evaluaciones realizadas cada ocho semanas. Cazones, Ver. 2008.

Portainjerto	Semanas después del trasplante	Número promedio de brotes por grado de malformación de raíz				No. promedio de brotes cada ocho semana
		0	1	2	3	
L. Volkameriano	8	4.23	2.70	2.05	2.1	2.77
L. Volkameriano	16	5.10	4.00	3.95	4.25	4.33
L. Volkameriano	24	4.07	2.85	3.25	1.90	3.02
L. Volkameriano	32	4.79	5.70	3.55	4.70	4.69
L. Volkameriano	40	9.36	8.27	6.50	6.45	7.65
Media		5.51	4.71	3.86	3.88	
C. Swingle	8	0.30	0.15	0.65	0.1	0.03
C. Swingle	16	0.00	0.10	0	0	0.03
C. Swingle	24	0.00	0.00	0	0.1	0.03
C. Swingle	32	1.94	0.84	1.66	0.85	1.32
C. Swingle	40	0.55	0.90	0.70	1.75	0.98
Media		0.56	0.40	0.60	0.56	
C. Carrizo	8	0.00	0.00	0	0	0.00
C. Carrizo	16	0.00	0.04	0.04	0.04	0.03
C. Carrizo	24	0.10	0.10	0	0.15	0.09
C. Carrizo	32	0.15	0.89	0.3	0.50	0.46
C. Carrizo	40	0.30	1.10	1.95	2.00	1.34
Media		0.11	0.43	0.46	0.54	

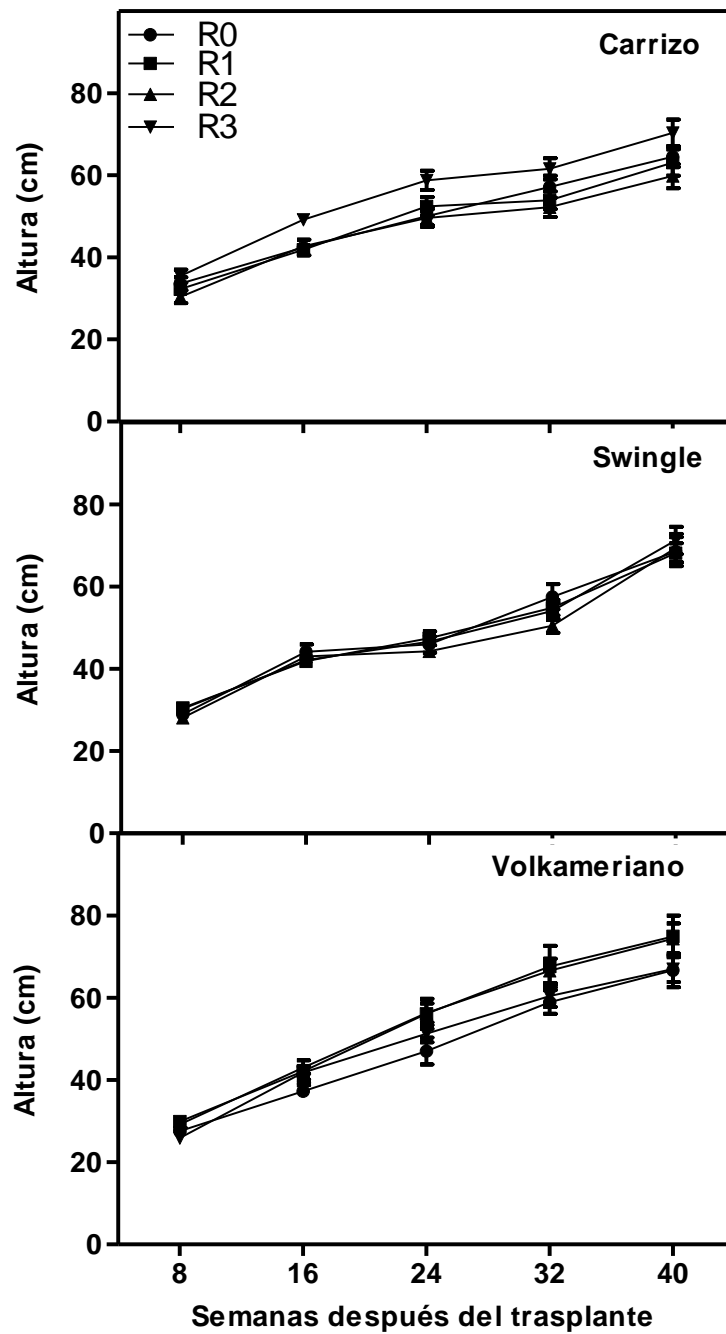


Figura 6. Dinámica de crecimiento (altura) de los portainjertos citrange 'Carrizo', citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano' con cuatro grados de malformación de raíz, en 40 semanas. (0 = raíz recta; 1 = raíz sinuosa; 2 = raíz con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = raíz con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ )

## **Longitud del tallo**

No se observó interacción entre portainjertos y grado de malformación de raíz (Cuadro 2 A), pero se encontraron diferencias estadísticas entre portainjertos (Cuadro 20). Limón 'Volkameriano' fue superior a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo'. El comportamiento de limón 'Volkameriano' ha sido señalado por Girardi *et al.* (2007) quienes indican que éste es un portainjerto vigoroso que desarrolla rápidamente en vivero. No se encontraron diferencias entre los grados de malformación de la raíz para esta variable (Cuadro 4 A).

## **Diámetro del tallo**

El análisis de varianza no mostró interacción entre factores (Cuadro 2 A). La prueba de medias mostró diferencias entre portainjertos (Cuadro 20). Limón 'Volkameriano' superó a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' que fueron iguales. El diámetro del tallo de las plantas en vivero es importante debido a que el injerto se realiza cuando es mayor a 0.55 cm (Reyes y Ruiz, 1984), limón 'Volkameriano' alcanza más rápido el tamaño; lo que representa, menor tiempo en vivero y por lo tanto, menores costos de producción.

No existieron diferencias en el diámetro del tallo entre los grados de malformación de la raíz (Cuadro 3 A).

## **Número y longitud de brotes laterales**

En el análisis de varianza no se mostró efecto de la interacción entre portainjertos y malformación de raíz (Cuadro 3 A). Se encontraron diferencias estadísticas entre portainjertos (Cuadro 20). Limón 'Volkameriano' superó a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo'. El número de brotes es importante porque las plantas invierten energía para emitirlos, además deben ser eliminados, lo que incrementa la mano de obra, por lo que es una característica indeseable en los

portainjertos. De acuerdo a ésta característica, limón 'Volkameriano' es el peor portainjerto.

No se encontraron diferencias estadísticas en el número y longitud de brotes laterales debido a la malformación de raíz (Cuadro 3 A).

### Número de hojas y área foliar

No hubo interacción para estas variables entre portainjerto y grado de malformación de raíz (Cuadro 3 A). La prueba de medias mostró que limón 'Volkameriano' superó a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' (Cuadro 20). El área foliar de limón 'Volkameriano' (188 cm<sup>2</sup>) también fue superior a citrange 'Carrizo' que a su vez superó a citrumelo 'Swingle'. Aún cuando las diferencias en el área foliar de 10 hojas, son contrastantes, al combinarlas con el número de hojas, el área foliar de limón 'Volkameriano' se incrementa en la misma proporción, en comparación con los otros portainjertos, lo cual puede justificar, el mayor vigor de éste portainjerto.

Cuadro 20. Longitud (cm) y diámetro del tallo (mm), número y longitud de brotes laterales (mm), número de hojas y área foliar de 10 hojas en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazonas, Ver. 2009.

Portainjerto	Longitud del tallo (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de brotes laterales	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas	Área foliar <sup>y</sup> (cm <sup>2</sup> )
L. Volkameriano	85.97 a <sup>z</sup>	7.54 a	7.00 a	2.99 b	93.55 a	188.96 a
C. Swingle	71.32 b	6.45 b	1.63 b	4.28 a	35.03 b	155.43 b
C. Carrizo	73.47 b	5.89 b	0.75 b	2.70 b	33.60 b	86.03 c
C.V. <sup>x</sup>	10.21	23.52	123.20	56.72	59.71	26.16
DMS <sup>w</sup>	10.23	0.81	2.296	1.001	17.15	19.94

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05 )

<sup>y</sup>Media de 10 hojas

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>w</sup>Diferencia mínima significativa

No existieron diferencias estadísticas para grados de malformación de raíz en el número de hojas (Cuadro 3 A), pero si en el área foliar de 10 hojas (Figura 7). Sorprende encontrar que el área foliar se incrementó con el grado de

malformación de raíz. Las plantas con raíz rrecta (grado 0) presentó menor área foliar y las de grado 3 el mayor valor, éste comportamiento es contrario al esperado.

Se ha reportado que la restricción en disponibilidad de agua disminuye el área foliar en vid, lo cual es una adaptación al estrés hídrico moderado, pero continuo. La presencia de zonas de constricción hidráulica en la especies leñosas, pueden disminuir la conductividad hidráulica del sistema (Tyree y Ewers, 1991), los efectos del déficit hídrico en frutales son: disminución en tamaño de brotes, número de hojas, pero principalmente el área foliar resulta más afectada (Hsiao, 1993). Esto es una adaptación de la planta para disminuir la incidencia de energía radiante y la pérdida por transpiración (Hsiao *et al.*, 1976). Sin embargo, en éste caso, la respuesta no corresponde con lo indicado en otras especies y se desconocen las causas de éste comportamiento.

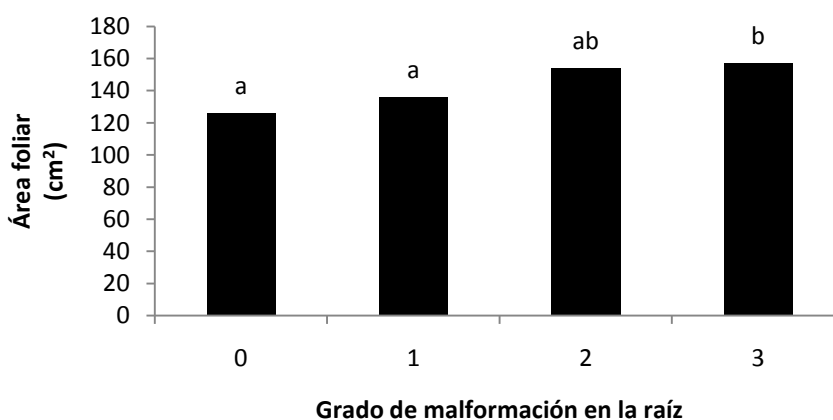


Figura 7. Efecto del grado de malformación de raíz en el área foliar de las plantas de portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. <sup>2</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ ). <sup>x</sup>Grado 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ . n = 10 hojas.

Se reconoce que las plantas poseen plasticidad fenotípica, ya que responden morfológicamente a las condiciones ambientales. Lo anterior se basa en la teoría del balance funcional, la cual indica que una planta optimiza la partición de



biomasa entre las raíces y los brotes en respuesta al acceso variable entre los recursos de raíz y parte aérea (Brouwer, 1983). Esto significa que se transporta más biomasa hacia los órganos que adquieren los recursos más limitantes (Bloom *et al.*, 1985). En éste caso, la obstrucción en el sitio de la malformación puede disminuir el transporte, aún cuando el agua del suelo no sea factor limitante. El aumento en área foliar implica mayor área de incidencia de radiación, y por lo tanto mayor transpiración y fotosíntesis (Pire *et al.*, 2007) La plasticidad morfológica es definida como la habilidad de un organismo para ajustar su rendimiento alterando su morfología y/o fisiología en respuesta a la condición cambiante del ambiente (Weiner, 2004). En este caso las plantas no están respondiendo a una condición del ambiente, sino a una limitación inherente a la planta.

Al evaluar todos los tratamientos (Cuadro 21) no se encontraron diferencias para longitud del tallo. En el caso del diámetro del tallo limón 'Volkameriano' con raíz 3 superó a citrange 'Carrizo' con raíz 1 y 2 pero fue igual a los demás portainjertos y grados de malformación de raíz. El número de brotes laterales en limón 'Volkameriano' con raíz recta (grado 0) superó a los demás portainjertos y grados de malformación de raíz. La longitud de brotes fue superior en limón 'Volkameriano' raíz recta (grado 0) y citrumelo 'Swingle' con malformación de raíz grado 2 y 3, pero igual a los demás portainjertos y grados de malformación. El número de hojas fue superior en limón 'Volkameriano' raíz recta (grado 0) y grado 1, pero el área foliar fue superior en limón 'Volkameriano' raíz grado 3 (Cuadro 21) donde la malformación es mayor. Debido a que la respuesta no coincide con la literatura para otras especies es necesario repetir ésta investigación para corroborar los resultados.

Cuadro 21. Longitud (cm) y diámetro del tallo (mm), número y longitud de brotes laterales (cm) número de hojas y área foliar de 10 hojas en plantas con cuatro grados de malformación de raíz de tres portainjertos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/Raíz <sup>w</sup>	Longitud del tallo (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de brotes laterales	Longitud de brotes laterales (cm)	Número de hojas	Área foliar (10 hojas) cm <sup>2</sup>
L. Volkameriano 0	76.24 a <sup>z</sup>	7.08 ab	11.88 a	4.42 a	111.50 a	152.26 c
L. Volkameriano 1	88.01 a	7.07 ab	5.38 b	2.45 ab	96.20 a	172.37 abc
L. Volkameriano 2	92.63 a	7.71 ab	5.25 b	2.56 ab	81.40 abc	211.66 ab
L. Volkameriano 3	87.00 a	8.28 a	5.55 ab	2.53 ab	85.10 ab	219.56 a
C. Swingle 0	66.13 a	7.03 ab	0.88 b	3.84 ab	38.80 bcd	169.43 abc
C. Swingle 1	77.00 a	6.14 ab	1.00 b	4.62 ab	32.30 d	157.35 bc
C. Swingle 2	74.38 a	5.83 b	0.38 b	4.28 a	26.50 d	150.95 c
C. Swingle 3	67.76 a	6.80 ab	0.75 b	4.37 a	42.50 bcd	143.98 cd
C. Carrizo 0	71.88 a	6.27 ab	2.38 b	3.03 ab	31.50 d	81.90 e
C. Carrizo 1	73.50 a	5.65 b	1.23 b	3.40 ab	33.90 cd	93.66 de
C. Carrizo 2	78.00 a	5.44 b	1.38 b	3.09 ab	36.30 cd	85.68 e
C. Carrizo 3	70.50 a	6.19 ab	1.63 b	1.28 ab	32.20 d	81.90 e
C.V. <sup>x</sup>	22.326	23.52	123.195	56.72	59.70	26.16
DMS <sup>w</sup>	28.867	2.329	6.471	2.815	48.227	56.077

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05 )

<sup>y</sup>Media de 10 hojas; <sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>w</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>v</sup>Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos ≤ 90°; 3 = con dos curvaturas

### Longitud y volumen de raíz

El análisis de varianza no mostró interacción para longitud de raíz entre el portainjerto utilizado y el grado de malformación en raíz (Cuadro 2 A).

La prueba de medias mostró que el portainjerto afectó la longitud de raíces. Limón 'Volkameriano' presentó mayor longitud de raíces y superó a c 'Swingle' y citrange 'Carrizo' (Cuadro 22). Esto coincide con lo indicado por Avilán *et al.* (1986) quienes reportaron que los portainjertos más vigorosos presentan mayor desarrollo radical, esto se debe a que existe relación entre el desarrollo de la raíz y la parte aérea, las cuales se coordinan para maximizar la utilización de asimilados (Hsiao, 2000). Citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' presentaron las raíces de mayor longitud y superaron a limón 'Volkameriano'. Esto implica que al

tener mayor crecimiento la raíz principal se limita el desarrollo de las raíces secundarias (Cuadro 22).

La interacción entre portainjertos y grado de malformación en raíz para volumen de raíz se observa en la figura 8 (Cuadro 2 A). El volumen de raíz se incrementó en citrumelo 'Swingle', la malformación en raíz grado 1 (sinuosa) se mantuvo sin cambio en el caso de limón 'Volkameriano' y disminuyó en el caso de citrange 'Carrizo' en comparación con la raíz grado recta (grado 0). El volumen de raíz, en limón 'Volkameriano' fue superior pero igual a citrumelo 'Swingle', lo que implica que éste portainjerto tiene raíz más gruesa (Cuadro 22).

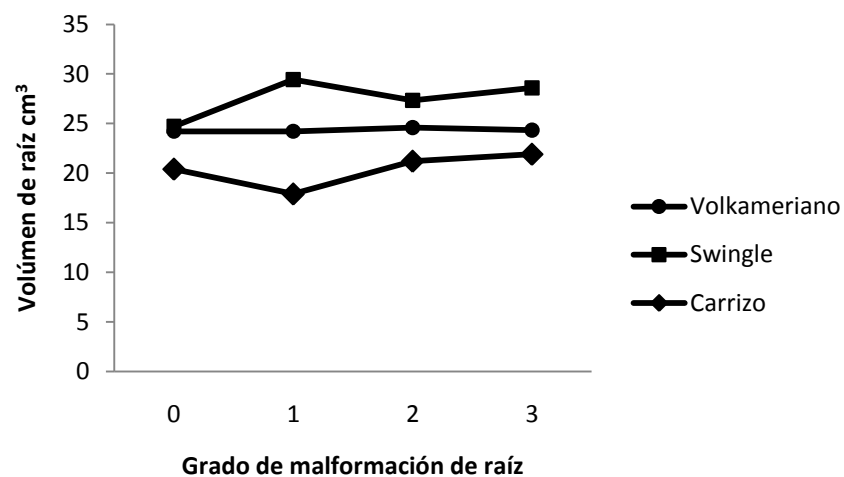


Figura 8. Interacción entre portainjertos y grado de malformación en raíz en el volumen de raíz de tres portainjertos, diez meses después del trasplante<sup>2</sup> (raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ ).

La malformación de raíz no afectó la longitud, pero si el volumen de raíz. La malformación de raíz grado 1 (sinuosa) tuvo mayor volumen. La variación en volumen indica proporciones diferentes de raíz principal-raíces secundarias. Los componentes morfológicos de la raíz están determinados por la fineza de las raíces, esto es, la longitud de la raíz por unidad de volumen de raíz y la densidad del tejidos (Ryser, 1998). Se ha determinado que la estructura de la raíz y

anatomía influyen en el patrón por el cual las diferentes partes de la raíz contribuyen al transporte de agua (Fassio *et al.*, 2009) y el peso de la raíz por sí solo, no proporciona información sobre la efectividad del sistema radical para absorber agua y nutrientes (Castle y Kezdorn, 1975).

La raíz recta (grado 0) presentó mayor número promedio de raíces secundarias (2.06) y disminuyó en la malformación de raíz grado 1 y 2 (1.84 y 1.64 respectivamente) (Cuadro 4 A).

### **Número y longitud de raíces secundarias**

No se encontró efecto del portainjerto y de la malformación de raíz en el número de raíces secundarias (Cuadro 2 A).

Sin embargo, se encontraron diferencias en longitud de raíces secundarias entre portainjertos (Cuadro 22). Citrange 'Carrizo' y citrumelo 'Swingle' superaron a limón 'Volkameriano' y aún cuando tienen menor longitud de la raíz principal, debido a que las raíces secundarias son de mayor tamaño pueden explorar mayor superficie, aspecto que debería traducirse en el mayor tamaño de la planta, pero no fue así, lo que significa que existen otros factores que deben ser tomados en cuenta. Castle y Kezdorn (1975) en árboles de diez portainjertos de cítricos de cinco años, no encontraron asociación entre la profundidad que exploran las raíces y la cantidad de raíces fibrosas, y algunos árboles grandes que producen sistema radical profundo, tuvieron menos raíces fibrosas (en base a peso) mientras que árboles pequeños como naranjo trifoliado tuvieron sistema radical pequeño y denso. Se han asociado las características de la raíz con la capacidad de la planta en adquirir agua y nutrientes, así, la longitud específica de raíz y el promedio del diámetro de raíz, se relaciona con la conductividad hidráulica de las raíces de portainjertos de cítricos (Eissenstat y Achor, 1999). Las características del sistema radical también tienen influencia en el desarrollo de la parte aérea del árbol, ya que en las raíces finas se sintetizan hormonas y esto tiene influencia en el desarrollo de la planta (Noda, *et al.*, 2000).

## Relación parte aérea-raíz

No se encontró interacción entre portainjerto y grado de malformación de raíz (Cuadro 2 A). La relación parte aérea/raíz, varía con el portainjerto.

La relación raíz/parte aérea fue mayor en limón 'Volkameriano' donde la proporción fue superior a 2, mientras que en citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' no llegó a 1 (Cuadro 22). Ésta información es importante porque permite señalar que limón 'Volkameriano' debe permanecer menos tiempo en vivero para evitar problemas en la raíz.

Cuadro 22. Longitud (cm) y volumen de raíz (cm<sup>3</sup>), número y longitud (cm) de raíces secundarias y relación raíz/parte aérea en tres portainjertos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Portainjerto	Raíz principal		Raíces secundarias		Relación raíz/parte aérea
	Longitud (cm)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Número	Longitud (cm)	
L.Volkameriano	40.14 a <sup>z</sup>	30.08 a	3.40 a	2.52 b	2.12 a
C. Swingle	31.74 b	26.08 ab	3.32 a	4.19 a	0.81 b
C. Carrizo	27.08 b	21.69 b	2.20 a	4.30 a	0.70 b
C.V. <sup>x</sup>	10.21	28.42	97.82	47.26	37.14
DMS <sup>w</sup>	5.43	4.40	1.55	0.92	0.24

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Media de 10 hojas; <sup>y</sup>Coefficiente de variación; <sup>w</sup>Diferencia mínima significativa

La relación raíz parte aérea se utiliza para determinar la distribución de asimilados entre brotes y raíces (Mc Donald *et al.*, 1996), ya que cada especie envía los recursos hacia determinados órganos (Richards, 1986). En el caso de limón 'Volkameriano' la relación de 2.12 indica que estos son utilizados para el desarrollo de la parte aérea de la planta. Se ha determinado que el vigor temprano de las plantas depende de la arquitectura de la planta y la partición de asimilados (Luquet, *et al.*, 2005). Además, la menor relación raíz-parte aérea, se considera un mecanismo de adaptación a sequía (Wiegand y Swanson, 1982). Las diferencias entre portainjertos pueden estar relacionadas con la respuesta a condiciones de limitación de agua, como en el caso de riego deficitario o estrés

por sequía (Pérez-Pérez *et al.*, 2008). Mayor relación raíz- parte aérea implica mayor área foliar y por lo tanto mayor superficie transpiratoria, lo que resulta en mayor absorción y transporte. La malformación de raíz no mostró efecto sobre esta variable (Cuadro 4 A) y puede estar relacionado con el tiempo que las plantas permanecieron en vivero, lo que impidió ver el efecto.

En el caso de los portainjertos y grados de malformación de raíz presentaron diferencias para el volumen de raíz, limón ‘Volkameriano’ con raíz 1 (sinuosa) fue superior a los demás portainjertos (Cuadro 23). El número de raíces secundarias nuevamente limón ‘Volkameriano’ raíz 1 (sinuosa), fue marcadamente superior a limón ‘Volkameriano’ raíz recta (grado 0) citrumelo ‘Swingle’ grado 2 y citrange ‘Carrizo’ grado 1 y 3 fueron superados por los demás portainjertos y tipos de raíz (Cuadro 23).

Cuadro 23. Longitud (cm) y volumen de raíz (cm<sup>3</sup>), número y longitud (cm) de raíces secundarias y relación raíz/parte aérea en plantas de tres portainjertos con cuatro grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazonas, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/Raíz <sup>w</sup>	Raíz principal		Raíces secundarias		Relación raíz/parte aérea
	Longitud (cm)	Volumen (cm <sup>3</sup> )	Número	Longitud (cm)	
L.Volkameriano 0	37.30 abc <sup>z</sup>	23.34 b	0.70 b	4.20 a	2.02 a
L.Volkameriano 1	38.91 ab	42.38 a	6.70 a	0.45 b	2.05 a
L.Volkameriano 2	46.05 a	26.12 b	2.60 ab	4.73 a	2.37 a
L.Volkameriano 3	38.30 abc	28.50 b	3.60 ab	0.70 b	2.03 a
C. Swingle 0	30.40 bcd	23.08 b	4.70 ab	3.84 a	0.79 b
C. Swingle 1	31.54 abcd	28.25 b	3.60 ab	4.62 a	0.79 b
C. Swingle 2	27.00 bcd	27.25 b	1.90 b	3.95 a	0.95 b
C. Swingle 3	38.04 abc	25.75 b	3.10 ab	4.37 a	0.71 b
C. Carrizo 0	31.91 abcd	26.13 b	2.40 ab	4.14 a	0.68 b
C. Carrizo 1	31.17 abcd	20.75 b	1.80 b	4.13 a	0.62 b
C. Carrizo 2	21.86 d	18.63 b	2.50 ab	4.82 a	0.74 b
C. Carrizo 3	22.39 cd	21.25 b	2.10 b	4.11 a	0.77 b
C.V. <sup>x</sup>	27.59	28.42	97.82	47.26	26.16
DMS <sup>y</sup>	15.30	12.40	4.35	2.59	0.67

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos ≤ 90°; 3 = con dos curvaturas

## Materia fresca, seca y contenido de agua en hojas, tallo y raíz

Se encontraron diferencias en la materia seca de hoja tallo y raíz entre portainjertos (Cuadro 2 A). Limón 'Volkameriano' fue superior estadísticamente a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' en peso de materia fresca de hoja y tallo. También superó a citrange 'Carrizo' en peso de raíz pero fue igual a citrumelo 'Swingle' (Cuadro 24). El comportamiento para materia seca fue igual que para materia fresca. En relación al contenido de agua, citrumelo 'Swingle' superó a limón 'Volkameriano' y citrange 'Carrizo' en hoja. En tallo aún cuando fue superior a citrange 'Carrizo' es igual a limón 'Volkameriano'. En raíz, fue igual a limón 'Volkameriano' pero superior a citrange 'Carrizo'. Con base en los datos mostrados limón 'Volkameriano' acumula mayor cantidad de materia fresca y seca y es más eficiente en condiciones de vivero que citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo'. El contenido de agua en los órganos de limón 'Volkameriano' es diferente a los de citrange 'Carrizo', que contiene menor cantidad de agua en hoja y raíz que en este portainjerto. Éste aspecto hace suponer que la tolerancia a sequía de los portainjertos es diferente.

En los tres portainjertos estudiados el órgano que menor contenido de agua acumula es tallo (51-57 %) y el que más acumula es la hoja (70-82%) lo cual está relacionado con diferentes funciones de estos órganos.

Cuadro 24. Materia fresca y seca (g) y contenido de agua (%) en hoja, tallo, y raíz en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones Ver. 2009.

Portainjerto	Materia fresca (g)			Materia seca (g)			Contenido de agua %		
	Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz
L.Volkameriano	22.1 a <sup>z</sup>	31.7 a	23.4 a	4.7 a	13.7 a	8.8 a	77 b	57ab	62 a
C. Swingle	6.4 b	20.9 b	20.9 a	1.9 b	10.0 b	8.7 a	82 a	56a	63 a
C. Carrizo	6.5 b	19.0 b	17.9 b	1.2 b	8.5 b	6.5 b	70 c	51 b	57 b
C.V. <sup>x</sup>	61.3	38.7	22.5	56.9	40.18	22.70	10.21	15.94	12.2
DMS <sup>y</sup>	4.3	5.5	2.8	0.9	2.6	1.1	4.6	5.2	4.4

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

La malformación de raíz afectó la materia fresca de hoja tallo y raíz (Cuadro 25). El tipo de raíz no afectó la respuesta de limón 'Volkameriano' y citrumelo 'Swingle' pero si en citrange 'Carrizo' donde las de grado 2 presentaron menor peso. Con relación al portainjerto, las hojas de limón 'Volkameriano' superaron a las de citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo'. Para peso de materia fresca en tallo y raíz, aún cuando las plantas con raíz grado 3 tienen valores superiores, son iguales a los otros grados de raíz en limón 'Volkameriano', pero superiores a los otros portainjertos, sin que exista una tendencia definida. Aún cuando no hay diferencias estadísticas por efecto del tipo de raíz en cada portainjerto, las plantas con raíz grado 3 tienen los valores superiores.

En relación al contenido de agua, el tallo es el que tiene mayor contenido, y citrumelo 'Swingle' con raíz 1 el valor superior que es igual a los grados 0, 2 y 3 del mismo portainjerto y a los cuatro de limón 'Volkameriano', sólo superó a citrange 'Carrizo' que fue igual a los demás portainjertos y tipos de raíz (Cuadro 25). No hubo diferencias estadísticas para contenido de agua en tallo y para raíz el mayor valor lo representó limón 'Volkameriano' raíz recta (grado 0).

La respuesta fisiológica del árbol varía, Paquillo *et al.* (1999) encontraron que ante niveles bajos de N, las raíces de citrumelo 'Swingle' se engrosaron, mientras que las de limón 'Volkameriano' adelgazaron, lo cual podría haber incrementado la eficiencia en adquisición de recursos de este portainjerto.

Sin embargo, no se encontraron diferencias en materia seca o contenido de agua en las plantas con diferentes grados de malformación de raíz (Cuadro 2 A). La falta de diferencias puede ser debida a que se requiere de mayor tiempo para que las diferencias se manifiesten.



Cuadro 25. Materia fresca y seca (g) y contenido de agua (%) en hoja tallo y raíz en tres portainjertos de cítricos con cuatro grados de malformación en raíz, 10 meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Tratamiento Pi/Raíz <sup>w</sup>	Materia fresca (g)			Materia seca (g)			Contenido de agua %		
	Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz
L. Volkameriano 0	21.93 a <sup>z</sup>	26.95 abc	24.61 ab	5.21 a	10.35 ab	7.46 abc	77.61 ab	60.76 a	69.81 a
L. Volkameriano 1	17.50 a	30.06 abc	22.35 abc	3.56 ab	13.83 ab	8.36 abc	79.08 ab	54.00 a	61.85 ab
L. Volkameriano 2	21.56 a	32.21 ab	19.81 abc	5.26 a	14.23 ab	8.56 abc	73.58 ab	56.33 a	55.18 bc
L. Volkameriano 3	27.38 a	37.36 a	26.98 a	4.68 a	16.54 a	10.25 a	78.71 ab	56.08 a	54.09 a
C. Swingle 0	5.49 bc	20.50 bc	17.80 bc	0.90 c	8.81 b	6.85 bc	84.71 a	56.70 a	60.93 ab
C. Swingle 1	6.09 bc	17.49 bc	16.05 c	1.18 bc	7.76 b	5.70 c	80.80 ab	56.16 a	64.79 ab
C. Swingle 2	8.31 bc	18.90 bc	17.79 bc	1.60 bc	7.83 b	6.35 bc	81.48 ab	58.70 a	64.11 ab
C. Swingle 3	6.06 bc	19.15 bc	19.94 abc	1.16 bc	9.54 ab	7.73 abc	81.23 ab	50.73 a	60.89 ab
C. Carrizo 0	6.64 bc	23.74 abc	18.35 bc	2.04 bc	11.66 ab	9.35 ab	68.56 b	51.64 a	47.29 c
C. Carrizo 1	7.050 bc	20.08 bc	22.96 abc	2.00 bc	9.23 ab	9.14 ab	70.05 b	46.69 a	59.53abc
C. Carrizo 2	5.03 c	16.69 c	20.89 abc	1.50 bc	7.85 b	8.23 abc	69.96 b	53.03 a	59.08abc
C. Carrizo 3	6.98 bc	22.95 abc	22.24 abc	2.15 bc	10.58 ab	8.48 abc	69.43 b	54.09 a	61.78ab
C.V. <sup>x</sup>	61.29	38.675	22.494	56.941	40.183	22.699	10.214	15.937	12.215
DMS <sup>y</sup>	12.021	15.499	7.845	2.491	7.255	3.067	13.095	14.620	12.42

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coeficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con dos curvaturas

## Concentración nutrimental en hojas

El análisis de varianza no mostró interacción entre factores portainjertos y malformación de raíz para los nutrientes estudiados (Cuadro 6 A). Sin embargo, las concentraciones de N, K y Mg variaron entre portainjertos (Cuadro 26).

La concentración de N en hoja fue superior en citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' que en limón 'Volkameriano' (Cuadro 26), esto puede ser debido a que éste portainjerto presentó mayor crecimiento y lo utilizó para su desarrollo. El mismo efecto fue observado por Pérez Zamora et al. (2002) en naranjo 'Valencia' Injertado en limón 'Volkameriano'.

Para fósforo no se encontraron diferencias entre portainjertos (Cuadro 26), limón 'Volkameriano' a pesar de tener mayor desarrollo presentó contenido similar a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo'. Este elemento es necesario para la fotosíntesis, síntesis y degradación de carbohidratos y en la transferencia de energía, en la resistencia al estrés, participa en la absorción y traslocación de nutrientes y en la organización celular (Zekri y Obreza, 2003).

El contenido de potasio (cuadro 26) en citrumelo 'Swingle' fue superior a limón 'Volkameriano' pero igual a citrange 'Carrizo'. Se ha determinado que la absorción de potasio y calcio es mayor en el portainjerto que se adapta mejor a las condiciones del suelo (Lallam *et al.*, 1999). Es importante mencionar que los portainjertos del estudio tenían 10 meses y 'Volkameriano' siempre presentó mayor cantidad de follaje y tamaño de hojas.

No se observaron diferencias estadísticas entre portainjertos para Ca y Zn, aún cuando hay diferencias numéricas entre ellos. Para el contenido de Mg, citrumelo 'Swingle' fue superior a citrange 'Carrizo', pero igual a limón 'Volkameriano' (Cuadro 26).

La concentración de K y Ca es superior a la reportada en la literatura por Mills y Benton (1996) y Pérez-Zamora (2004) quienes hicieron análisis en hojas de árboles de diferentes cítricos (*C. aurantifolia*, *C. limón*, *C. reticulata* y *C. sinensis*) de cinco a diez años. Cabe indicar que no se encontraron diferencias estadísticas significativas en la concentración de calcio (Cuadro 26), lo que coincide con lo encontrado por Pérez-Zamora (2004).

Se ha reportado que limón ‘Volkameriano’ se caracteriza por absorber menos magnesio que naranjo ‘Agrio’ y otros portainjertos (Pérez-Zamora, 2004). En este trabajo, el contenido de magnesio en las hojas fue similar al de citrumelo ‘Swingle’ y 40.2 % mayor que en citrange ‘Carrizo’. Desde hace tiempo se ha reconocido que el portainjerto determina la composición mineral de las hojas del injerto (Smith *et al.*, 1948), esto se debe a que la absorción de nutrientes por las raíces está determinada por características del portainjerto (Syvertsen y Smith, 1996; Fallahi y Rodney, 1992). No existieron diferencias estadísticas en el contenido de zinc.

Cuadro 26. Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazonas Ver. 2009.

Portainjerto	N (g Kg <sup>-1</sup> )	P (g Kg <sup>-1</sup> )	K (g Kg <sup>-1</sup> )	Ca (g Kg <sup>-1</sup> )	Mg (g Kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
C. Swingle	30.6 a <sup>z</sup>	1.36 a	88.99 a	70.74 a	11.86 a	103.79 a
C. Carrizo	30.6 a	0.90 a	76.28 ab	59.56 a	6.55 b	92.43 a
L. Volkameriano	26.5 b	1.27 a	54.70 b	86.99 a	10.95 ab	91.68 a
CV <sup>x</sup>	8.45	35.86	22.24	29.43	33.45	24.10
DMS <sup>y</sup>	3.80	6.50	25.12	43.99	5.04	35.61

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

La relación Ca:Mg en citrumelo ‘Swingle’ fue menor (5.96) lo que indica hay mayor absorción de Mg con respecto a Ca. Mientras que en limón ‘Volkameriano’ la relación fue de 7.94 y en citrange ‘Carrizo’ 9.04. Aún cuando el pH del suelo alcalino sólo disminuye la disponibilidad del Mg, el principal problema radica en la relación Ca:Mg. Cuando la relación es alta, como en el caso de limón ‘Volkameriano’ y citrange ‘Carrizo’, puede provocar deficiencias de Mg como se ha observado en huertos de cítricos en suelos calcáreos (Nuñez, 2007).

No existen valores reportados en referencia a los niveles de suficiencia para estos portainjertos, en condiciones de vivero. Mills y Benton (1996) reportan valores para árboles productivos de variedades comerciales de cítricos que se están utilizando para comparar los resultados (Cuadro 7 A).

La malformación de raíz no modificó la absorción de N, P, K, Ca, Mg y Zn (Cuadro 27). Aún cuando variaciones en el diámetro de los conductos xilemáticos pueden afectar radicalmente las funciones de diferentes porciones del sistema conductor, debido a la relación exponencial que existe entre el radio y el flujo a través de un tubo capilar (Zymmerman, 1983; Tyree y Ewers 1991). Éste efecto no se reflejo en los tipos de raíz evaluados.

Cuadro 27. Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas de plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Raíz <sup>x</sup>	N (g kg <sup>-1</sup> )	P (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
0	29.90 a	12.58 a	74.48 a	74.42 a	10.60 a	98.11 a
3	28.60 a	10.95 a	72.17 a	70.44 a	8.98 a	93.82 a
CV	8.45	3.59	22.240	29.43	33.45	24.10
DMS	2.54	4.33	16.75	29.33	3.362	23.75

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Raíz 10= recta; 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$

El contenido de nitrógeno en las hojas de plantas con diferente grado de malformación de raíz difirió entre portainjertos. Las plantas de citrumelo ‘Swingle’ con malformación grado 3 presentaron mayor contenido de nitrógeno que limón ‘Volkameriano’ con el mismo grado de malformación. En citrange ‘Carrizo’ el contenido de nitrógeno fue igual en los dos tipos de raíz (Cuadro 28). No se encontraron diferencias para los demás elementos. Una de las causas por las cuales no hay diferencias es el corto tiempo que las plantas estuvieron expuestas a los tratamientos.

Cuadro 28. Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/Raíz <sup>w</sup>	N (g kg <sup>-1</sup> )	P (g kg <sup>-1</sup> )	K (g kg <sup>-1</sup> )	Ca (g kg <sup>-1</sup> )	Mg (g kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
L.Volkameriano 0	26.9 ab <sup>z</sup>	9.89 a	59.33 a	70.47 a	0.728 a	92.20 a
L. Volkameriano 3	26.0 b	8.12 a	50.08 a	48.64 a	0.581 a	92.66 a
C. Swingle 0	28.3 ab	14.19 a	90.14 a	66.40 a	1.252 a	98.04 a
C. Swingle 3	32.8 a	12.93 a	87.83 a	75.09 a	1.121 a	109.53 a
C. Carrizo 0	30.4 ab	13.65 a	73.96 a	74.46 a	1.198 a	91.22 a
C. Carrizo 3	30.8 ab	14.19 a	78.59 a	99.52 a	0.991 a	92.15 a
C.V. <sup>x</sup>	8.448	35.86	22.24	29.43	33.45	24.095
DMS <sup>y</sup>	6.7	11.57	44.72	78.324	0.8977	63.41

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>Raíz 0 = recta; 3 = con dos curvaturas

### Concentración nutrimental en tallo

La concentración nutrimental del tallo fue diferente entre portainjertos (Cuadro 6 A). Los contenidos de N, P, Ca, Mg y Zn fueron mayores en citrange 'Carrizo' que en limón 'Volkameriano', que fue iguales a citrumelo 'Swingle' con excepción de N que también fueron diferentes (Cuadro 29). Las diferencias entre portainjertos se pueden deber a que la tasa de crecimiento no es la misma o a cuestiones genéticas.

Cuadro 29. Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Pi	N (g Kg <sup>-1</sup> )	P (g Kg <sup>-1</sup> )	K (g Kg <sup>-1</sup> )	Ca (g Kg <sup>-1</sup> )	Mg (g Kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
L.Volkameriano	0.840 c	0.66 b	3.54 a	2.90 b	0.35 b	51.53 b
C. Swingle	1.18 b	0.76 ab	3.78 a	3.53 b	0.49 ab	72.04 ab
C. Carrizo	1.52 a	0.98 a	4.43 a	4.90 a	0.64 a	86.80 a
C.V. <sup>x</sup>	0.13	0.18	0.21	0.13	0.23	0.30
DMS <sup>y</sup>	0.24	0.22	1.29	0.75	0.17	32.01

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

El contenido de nitrógeno en tallo de citrange 'Carrizo' fue 44.14 % mayor que el de limón 'Volkameriano'; de fósforo 32.65 %; de calcio fue 40.82 %; de magnesio 45.31 %; y el de zinc 40.63 %, sin embargo, la materia seca acumulada por este portainjerto fue cuatro veces mayor que la de citrange 'Carrizo'. Lo que significa que tiene mayor consumo de éstos elementos. En el caso de 'Volkameriano' el contenido de fósforo fue mayor en las hojas que en el tallo y mientras que en citrange 'Carrizo' ocurrió lo contrario. En cuanto al contenido de fósforo en tallo, en 'Carrizo' fue mayor ( $0.98 \text{ g kg}^{-1}$ ) equivalente a 32.65 % más que limón 'Volkameriano', y 22.45% que 'Swingle' (22.45 %), contrario a lo obtenido para las hojas, sólo en limón 'Volkameriano' la concentración de fósforo fue mayor en las hojas que en tallo.

Los valores más altos de calcio se encontraron en el tallo de citrange 'Carrizo' ( $4.90 \text{ g Kg}^{-1}$ ) superando en 40.82 % a limón 'Volkameriano' y 29.96 % a 'Swingle'. Este elemento tiene funciones estructurales (Alcántar *et al.*, 2007), y el contenido de calcio en las plantas es controlado genéticamente (Mengel y Kirkby, 1987), por lo que las diferencias en el contenido de calcio entre los portainjertos puede ser atribuido a factores genéticos.

Se ha reportado que limón 'Volkameriano' es un portainjerto que se caracteriza por absorber menos magnesio que naranjo 'Agrio' y otros portainjertos (Pérez-Zamora, 2004), sin embargo, el contenido de magnesio también puede ser afectado por el efecto de dilución debido al mayor desarrollo de este portainjerto.

La malformación no afectó el contenido de los nutrientes evaluados en el tallo (Cuadro 6 A).

La concentración nutrimental en el tallo de plantas con diferente grado de malformación de raíz, fue diferente entre portainjertos (Cuadro 30), citrange 'Carrizo' con malformación 3 presento la mayor concentración de N y fue superior a citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano' con los dos tipos de raíz. Para P,

citrange 'Carrizo' con los dos tipos de raíz presentó los valores más altos, pero sólo superó a limón 'Volkameriano' con malformación 3. Para K y Zn no existieron diferencias entre portainjertos y tipos de raíz. Mientras que para Ca y Mg, citrange 'Carrizo' con raíz recta (grado 0) tiene las concentraciones superiores (Cuadro 30).

Cuadro 30. Concentración de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/Raíz	N (g Kg <sup>-1</sup> )	P (g Kg <sup>-1</sup> )	K (g Kg <sup>-1</sup> )	Ca (g Kg <sup>-1</sup> )	Mg (g Kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
L.Volkameriano 0	0.86 cd <sup>z</sup>	0.711 ab	4.006 a	2.911 b	0.354 ab	62.15 a
L.Volkameriano 3	0.82 d	0.615 b	3.082 a	2.885 b	0.343 a	40.91a
C. Swingle 0	1.11 bcd	0.737 ab	3.698 a	3.136 a	0.500 ab	58.17 a
C. Swingle 3	1.24 abc	0.790 ab	3.852 a	3.905 ab	0.485 ab	85.90 a
C. Carrizo 0	1.49 ab	1.056 a	4.854 a	5.036 a	0.653 a	94.59 a
C. Carrizo 3	1.54 a	0.897 a	4.006 a	4.767 a	0.626 ab	79.00 a
C.V. <sup>x</sup>	0.13	0.18	0.21	0.13	0.23	0.30
DMS <sup>y</sup>	4.25	3.94	2.29	1.34	0.32	57.09

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P < 0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

### Extracción Nutrimental por las hojas

Al calcular la extracción nutrimental de los portainjertos (Cuadro 31) se demostró el efecto de dilución observado en el contenido nutrimental por el follaje de 'Volkameriano', ya que este portainjerto extrajo 42.75 % más nitrógeno; 73.47 % fósforo; 72.60 % potasio; 69.23 % calcio; y 65.71 % más magnesio que citrange 'Carrizo'. Se ha encontrado que los portainjertos vigorosos poseen mayor capacidad de remoción de nutrientes (Ferguson *et al.*, 1990) debido a que son más eficientes en la absorción y transporte de agua, que presentan altas tasas de conductividad hidráulica de sus raíces y de intercambio gaseoso (Syvertsen, 1981). Se ha determinado que la conductividad hidráulica de las raíces, y la conductancia estomática son los principales factores que afectan el flujo de agua en las plantas (Jones, 1983). La mayor área foliar del portainjerto 'Volkameriano' puede estar relacionada con estas características, ya que mayor área foliar representa mayor superficie transpiratoria y fotosintética. Se ha observado que

altas tasas transpiratorias pueden incrementar la absorción de nutrientes (Bucci *et al.*, 2006). Se ha establecido que para el óptimo desarrollo de las plantas debe existir un balance entre la tasa de producción de asimilados y la de asimilación de N, en las especies que tienen tasa de fijación de CO<sub>2</sub> alta, la demanda de N es mayor cuando las condiciones de desarrollo son óptimas (Mengel y Kirkby, 1987). Sin embargo esto puede ser ampliado a los demás nutrientes, en el caso de 'Volkameriano' es de particular importancia la mayor demanda de fósforo.

La mayor absorción de calcio por 'Volkameriano' puede estar relacionado con la tasa transpiratoria, ya que este elemento es transportado en forma ascendente a través del xilema con la corriente transpiratoria, de forma que la intensidad de la transpiración controla la tasa de transporte de Ca (Mengel y Kirkby, 1987).

Limón 'Volkameriano' extrajo mayor cantidad de potasio que 'Swingle' y 'Carrizo' (Cuadro 31). El K tiene funciones bioquímicas y biofísicas importantes, ya que el aparato fotosintético requiere K, además es necesario para la traslocación del carbono fijado (Zhao *et al.*, 2001), y los movimientos de las hojas y estomas, así como otros tropismos se producen por presión de turgencia generados por K<sup>+</sup>. Además durante estrés por agua, la acumulación de K en las raíces incrementa la fuerza osmótica de las raíces privadas de agua (Szczerba *et al.*, 2009). Lo anterior puede estar relacionado con la característica de rápido crecimiento de este portainjerto.

Cuadro 31. Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por hojas de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazonos, Ver. 2009.

Pi	Extracción					
	N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	Zn (mg)
L.Volkameriano	0.131 a <sup>z</sup>	0.049 a	0.292 a	0.299 a	0.035 a	92.43 a
C. Swingle	0.075 ab	0.028 ab	0.201 ab	0.173 ab	0.026 ab	103.79 a
C. Carrizo	0.031 b	0.013 b	0.080 b	0.092 b	0.012 b	91.68 a
CV	0.050	0.666	0.557	0.617	0.565	24.10
DMS	0.061	0.031	0.164	0.178	0.021	35.616

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P<sub>≤</sub>0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa



Se ha observado que existen diferencias en la concentración nutrimental, en función del órgano de la planta, la mayor concentración de magnesio se encuentra en las hojas (Contreras-Morales, 2007). Se ha reportado que 'Volkameriano' es un portainjerto que absorbe menos magnesio que otros portainjertos (Pérez-Zamora, 2004). Sin embargo, al hacer el cálculo de extracción nutrimental de Mg por las hojas, 'Volkameriano', extrajo 25.7 % y 65.7 % más magnesio que 'Swingle' y 'Carrizo' respectivamente (Cuadro 31). Este elemento constituye el centro de la molécula de clorofila, tiene un papel importante en la activación de varias enzimas, está involucrado en el metabolismo de carbohidratos y ácidos nucleicos y estimula la extracción de fósforo (Zekri y Obreza, 2003).

La malformación no modificó la extracción nutrimental por las hojas de las plantas (Cuadro 6 A).

La extracción de nitrógeno por las hojas presentó diferencia entre portainjertos pero no en los grados de malformación de raíz. En limón 'Volkameriano' con raíz recta (grado 0) fue superior a citrange 'Carrizo' en ambos tipos de raíz (Cuadro 32). La extracción de K fue mayor en limón 'Volkameriano' con raíz recta (grado 0), pero sólo superó a citrange 'Carrizo' con el mismo tipo de raíz, los demás portainjertos y tipos de raíz fueron iguales. No existieron diferencias estadísticas entre portainjertos y tipos de raíz para P, Ca, Mg, y Zn.

### **Extracción nutrimental por el tallo**

La extracción nutrimental del tallo presentó diferencias estadísticamente significativas con el portainjerto únicamente para el zinc (Cuadro 6 A). Limón 'Volkameriano' extrajo mayor cantidad de Zn que citrange 'Carrizo' (Cuadro 33). El zinc es un elemento relacionado con la regulación de funciones metabólicas, en sistemas enzimáticos, para la formación de auxinas, y está asociado con las relaciones hídricas en las plantas, al mejorar la absorción de agua (Zekri y Obreza, 2003).

Cuadro 32. Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por las hojas de plantas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/Malformación	Extracción					
	N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	Zn (mg)
L. Volkameriano 0	0.146 a <sup>z</sup>	0.062 a	0.360 a	0.382 a	0.045 a	92.20 a
L. Volkameriano 3	0.116 ab	0.036 a	0.223 ab	0.216 a	0.026 a	92.66 a
C. Swingle 0	0.062 ab	0.027 a	0.185 ab	0.152 a	0.026 a	98.04 a
C. Swingle 3	0.088 ab	0.030 a	0.217 ab	0.192 a	0.027 a	109.53 a
C. Carrizo 0	0.026 b	0.012 a	0.065 b	0.067 a	0.011 a	91.22 a
C. Carrizo 3	0.036 b	0.013 a	0.094 ab	0.117 a	0.012 a	92.15 a
C.V. <sup>x</sup>	50.182	66.636	55.795	61.720	56.463	24.096
DMS <sup>y</sup>	0.109	0.055	0.292	0.318	0.038	63.417

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Se ha observado que el zinc se transporta por el xilema y luego es transferido al floema hacia el tallo y raíces, el exceso se acumula en el tallo, desde donde puede ser transportado al xilema, en caso de una disminución en el suministro (Haslett *et al.*, 2001). La concentración de Zn (86.80 mg) puede considerarse por el alto potencial hídrico de la planta, la apertura estomatal, y la transpiración que se está dando en limón 'Volkameriano' como consecuencia de mayor área foliar y desarrollo de portainjerto. La mayor extracción de zinc por el tallo en limón 'Volkameriano' podría explicar el mayor vigor de este portainjerto.

Cuadro 33. Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Portainjerto	Extracción					
	N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	Zn (mg)
L. Volkameriano	0.108 a <sup>z</sup>	0.085 a	0.444 a	0.389 a	0.046 a	86.80 a
C. Swingle	0.155 a	0.102 a	0.514 a	0.470 a	0.066 a	72.04 ab
C. Carrizo	0.035 a	0.086 a	0.396 a	0.432 a	0.052 a	51.53 b
CV	0.026	0.032	0.038	0.340	0.039	29.686
DMS	0.054	0.045	0.265	0.225	0.034	32.061

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

La malformación en raíz no afectó la extracción de nutrientes del tallo (Cuadro 7 A) que explica como las plantas presentan plasticidad, la cual está definida como la capacidad de un organismo de ajustar su rendimiento, alterando su morfología y/o fisiología en respuesta a condiciones variables del ambiente (Navas y Garnier, 2002).

Sin embargo, esta respuesta puede ser debida también a condiciones individuales de desarrollo. De acuerdo a Vysotskaya *et al.* (2004), plántulas de trigo a las que se les eliminaron de cuatro a cinco raíces no disminuyeron la transpiración, ni conductividad estomática, por lo tanto, las raíces remanentes fueron capaces de proveer de agua a los brotes, lo cual ocurrió por un incremento en la conductividad hidráulica del sistema radical.

A pesar de que las hojas en limón ‘Volkameriano’ sólo constituyen el 25.54 % de la materia seca total de la parte aérea, contienen el 54.81 % del N total extraído por éste órgano. En el caso de citrumelo ‘Swingle’ y citrange ‘Carrizo la materia seca de las hojas es de 15.97 y 12.37 % y la extracción de nitrógeno es de 32.61 y 46.97 % respectivamente. Alva *et al.* (1999) en árboles no productivos de naranja ‘Hamlin’ encontraron que aunque las ramas y tronco constituían más del 60 % de la materia seca y las hojas solo el 20 %, éstas últimas extraían más del 40 % del nitrógeno total del árbol. Por lo tanto, las hojas son el órgano con mayor cantidad de nitrógeno.

Cuadro 34. Porcentaje de materia seca que corresponde a hoja y tallo y extracción de nitrógeno fósforo y potasio. Cazones, Ver. 2009.

Portainjerto	Materia seca por órgano (%)		Extracción por órgano (%)					
			N		P		K	
	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo
L. Volkameriano	25.54	74.46	54.81	45.19	36.57	63.43	39.67	60.33
C. Swingle	15.97	84.03	32.61	67.39	21.54	78.46	28.11	71.89
C. Carrizo	12.37	87.63	46.97	53.03	13.13	86.87	16.81	83.19

Para fósforo y potasio limón 'Volkameriano' presenta mayor proporción en las hojas que en tallo (Cuadro 34), disminuye en citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo', debido a la mayor materia seca acumulada por este portainjerto.

De acuerdo a Chapman (1968) la mayor concentración de calcio se encuentra en el tallo, debido a que el calcio tiene funciones estructurales, sin embargo, en el caso de limón 'Volkameriano' más del 40 % se encuentra en las hojas, si se considera que las hojas representan el 25 % de la materia seca, la concentración de este elemento en las hojas es 2.3 veces la del tallo; mientras que en citrumelo 'Swingle' es de 3.2 y en citrange 'Carrizo' de 4.3 veces. Por lo tanto, aun cuando la mayor cantidad de calcio se encuentra en el tallo, la concentración de este elemento es en realidad mayor en las hojas (Cuadro 35).

El magnesio muestra la misma tendencia que el calcio. Por último, se encontró que el zinc se encuentra en mayor proporción en las hojas, que en el tallo. Esto es debido a que los nutrientes absorbidos son transportados hacia las hojas, que es donde las más importantes reacciones bioquímicas ocurren, como la síntesis de carbohidratos y de compuestos orgánicos (Mattos *et al.*, 2003).

Cuadro 35. Proporción de biomasa aérea que corresponde a hoja y tallo y porcentaje de calcio, magnesio y zinc contenidos en ellos. Cazonas, Ver. 2009.

Portainjerto	Materia seca %		Ca %		Mg %		Zn %	
	Hoja	Tallo	Hoja	Tallo	Hoja	tallo	Hoja	Tallo
L. Volkameriano	25.54	74.46	43.46	56.54	43.21	56.79	51.57	48.43
C. Swingle	15.97	84.03	26.91	73.09	28.26	71.74	59.03	40.97
C. Carrizo	12.37	87.63	17.56	82.44	18.75	81.25	64.02	35.98

En relación al análisis y extracción nutrimental, limón 'Volkameriano' es más eficiente que citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' en la absorción, transporte y utilización de los nutrientes, lo cual explica el mayor desarrollo de este portainjerto. La eficiencia fisiológica está relacionada en el caso de limón 'Volkameriano' con la mayor cantidad o afinidad de la mayoría de los nutrientes analizados.

#### Experimento 4. Estudio anatómico de plantas con diferentes grados de malformación de raíz

La importancia del estudio anatómico radica en que los procesos metabólicos, están limitados en primera instancia por la estructura física de la planta (Brodrigg, 2009) y que las plantas presentan plasticidad morfológica que les permite adaptarse a condiciones de estrés, esta respuesta difiere con la especie (Navas y Garnier, 2002).

#### Densidad y longitud de estomas

El análisis de varianza mostró diferencias estadísticas entre portainjertos para densidad y longitud de estomas (Cuadro 12 A). Limón 'Volkameriano' presentó mayor densidad de estomas que citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo'. Citrange 'Carrizo' presentó los estomas más grandes, y superó a citrumelo 'Swingle' y limón 'Volkameriano' (Cuadro 36; Figura 9), esta relación entre la densidad y tamaño ha sido reportada por Costa *et al.* (2003) quienes encontraron correlación negativa alta entre tamaño y número de estomas.

Limón 'Volkameriano' tiene mayor densidad de estomas, además de mayor área foliar y casi tres veces más hojas que citrange 'Carrizo' y citrumelo 'Swingle' y es el portainjerto más vigoroso.

Cuadro 36. Densidad estomática (número de estomas mm<sup>-2</sup>), longitud de estomas (μm) en tres portainjertos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Portainjerto	Densidad (No estomas mm <sup>2</sup> )	Longitud (μm)
L. Volkameriano	542.44 a <sup>z</sup>	16.23 b
C. Swingle	498.39 b	18.58 b
C. Carrizo	418.01 c	18.78 a
C.V. <sup>x</sup>	16.04	5.14
DMS <sup>y</sup>	33.72	0.39

<sup>z</sup> Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P<sub>≤</sub>0.05)

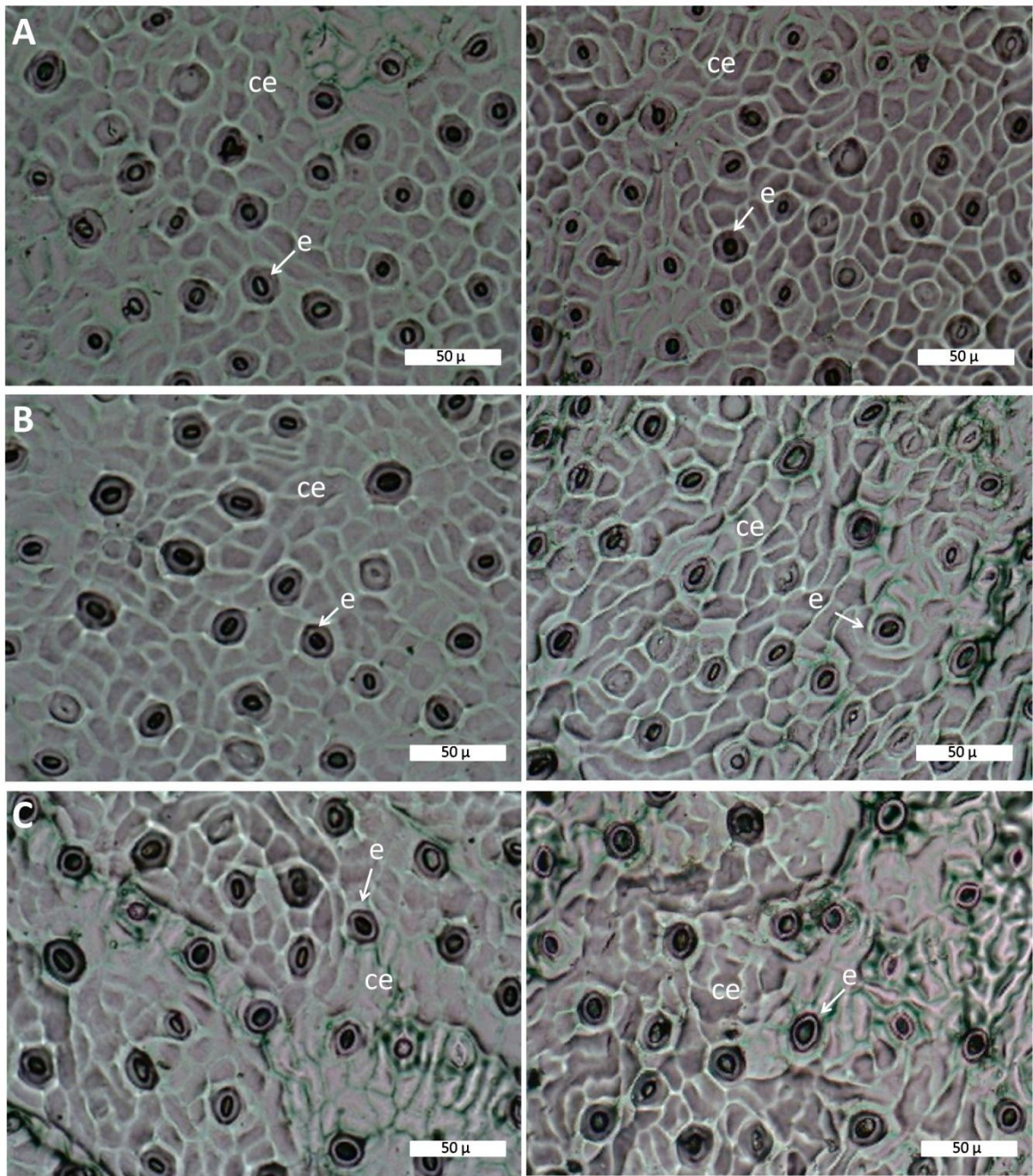


Figura 9. Densidad y tamaño de estomas en plantas de a) limón 'Volkameriano', b) citrumelo 'Swingle' y c) citrange 'Carrizo', con raíz recta (grado 0) izquierda; y grado 3 (con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ ) derecha. (e= estomas; ce= células epidérmicas).

La malformación de raíz no afectó la densidad y longitud de estomas (Cuadro 12 y 13 A).

La densidad de estomas ha sido asociada con el vigor del árbol (Pathak, *et al.*, 1976; Srivastava *et al.*, 1980) ya que existe relación entre el intercambio gaseoso con el tamaño y densidad estomática, al aumentar la suma del área de poro por unidad de área foliar, se incrementa la conductividad estomática y el intercambio gaseoso que permite mayor tasa fotosintética (Franks y Farquhar, 2007).

### **Densidad de vasos y área del lumen**

El análisis de varianza mostró interacción entre portainjertos y grado de malformación de la raíz para densidad de vasos (Cuadro 15 A; Figura 10). Los tres portainjertos presentaron diferente respuesta a los dos grados de malformación estudiados. En limón 'Volkameriano' y citrumelo 'Swingle' el número de vasos  $\text{mm}^2$  se incrementó ligeramente con la malformación y en citrange 'Carrizo' disminuyó en las plantas con malformación grado tres. El área del lumen de los vasos mostró el mismo comportamiento que la densidad de vasos (Cuadro 15 A; Figura 11). En citrange 'Carrizo' disminuyó con la malformación mientras que en limón 'Volkameriano' y citrumelo 'Swingle' se incrementó (Cuadro 37).

Los portainjertos responden de manera diferente, ante condiciones iguales. Por ejemplo, la respuesta fisiológica en condiciones de deficiencia de N del árbol varía, Paquillo *et al.* (1999) encontraron que niveles bajos de N las raíces de citrumelo 'Swingle' se engrosaron, mientras que, las de limón 'Volkameriano' adelgazaron, lo cual podría haber incrementado la eficiencia en adquisición de recursos de este portainjerto.

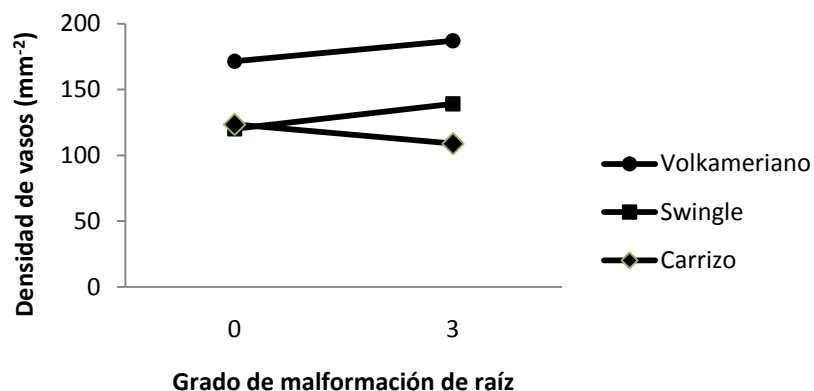


Figura 10. Interacción entre portainjertos y grado de malformación de raíz en la densidad de vasos (Número de vasos mm<sup>2</sup>) de plantas, diez meses después del trasplante <sup>z</sup> (Raíz 0 = recta; y 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ ). n = 3 cortes transversales.

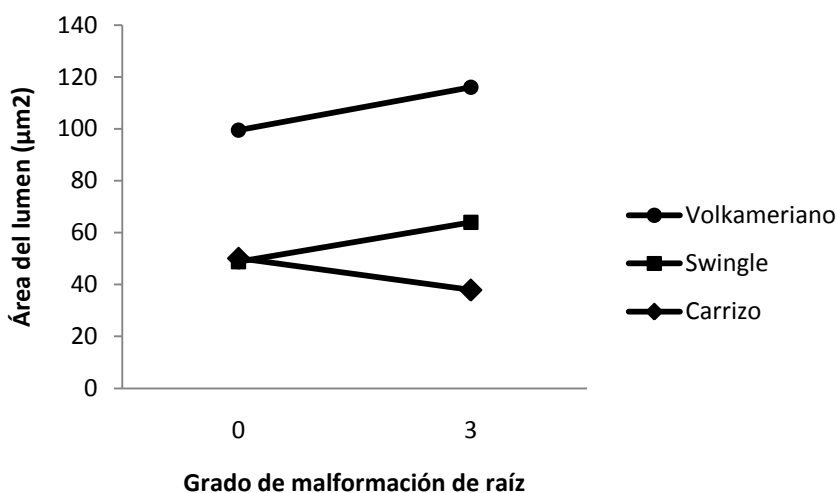


Figura 11. Interacción entre portainjertos y grado de malformación de raíz en el área del lumen de los vasos en plantas, diez meses después del trasplante (Raíz 0 = recta; y 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ ). n= 3 cortes transversales.

Se encontraron diferencias en la densidad de vasos (Cuadro 37). Limón ‘Volkameriano’ presentó 179.19 vasos por mm<sup>2</sup> mientras que citrange ‘Carrizo’ y citrumelo ‘Swingle’ tuvieron 35.18 y 27.70 % menor número de vasos (Cuadro 37). Se ha encontrado que existen diferencias en la anatomía de vasos entre razas y cultivares de aguacate (*Prunus americana* Mill.). En el caso de ‘Carrizo’, la densidad (116 vasos mm<sup>2</sup>) difiere de la encontrada por Moya *et al.*, 2002, quienes reportan en árboles sin injertar de dos años, 105 vasos mm<sup>2</sup>.



El área media del lumen de los vasos en limón 'Volkameriano' fue de 738  $\mu\text{m}^2$  y superó a citrange 'Carrizo' y citrumelo 'Swingle' (Cuadro 37). Dado que la conductividad hidráulica de los vasos está determinada por la Ley de Hagen-Poiseulle, que dice que es proporcional a la cuarta potencia de su radio (Zimmermann, 1983), el incremento en el diámetro del vaso aumentan el volumen de flujo de manera exponencial, mientras que el incremento en la densidad de vasos es una función lineal. Citrange 'Carrizo' presentó los valores menores para el perímetro, diámetro y ancho de vasos, sin embargo, citrumelo 'Swingle' fue similar estadísticamente, el menor desarrollo de estos portainjertos puede ser debido a que, mayor proporción de vasos delgados, con menor conductividad hidráulica teórica, pueden causar el menor desarrollo del árbol, Lens *et al.* (2003) indican que vasos con mayor diámetro tienen más eficiencia en el transporte de agua. Se ha asociado el menor tamaño de vasos, a la resistencia al transporte de agua a través del xilema en condiciones de sequía, ya que estos son menos propensos al embolismo en esas circunstancias; por el contrario, los vasos grandes, que permiten mayor circulación de agua, son más vulnerables a la cavitación (Yang y Tyree, 1992). Por lo tanto, en condiciones de estrés hídrico se esperaría que citrange 'Carrizo' y citrumelo 'Swingle' tengan mayor resistencia a la cavitación que limón 'Volkameriano', y sean más tolerantes a sequía.

Cuadro 37. Densidad de vasos ( $\text{mm}^2$ ), área del lumen ( $\mu\text{m}^2$ ), perímetro de vaso ( $\mu\text{m}$ ), diámetro longitudinal del vaso ( $\mu\text{m}$ ), diámetro transversal del vaso ( $\mu\text{m}$ ) en tres portainjertos de cítricos, diez meses después de trasplante. Cazonas, Ver. 2009.

Portainjerto	Densidad de vasos ( $\text{mm}^2$ )	Área del lumen ( $\mu\text{m}^2$ )	Perímetro del vaso ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro longitudinal ( $\mu\text{m}$ )	Diámetro transversal ( $\mu\text{m}$ )
L. Volkameriano	179.19 a <sup>z</sup>	738.01 a	102.41 a	33.08 a	26.23 a
C. Swingle	129.56 b	386.05 b	74.02 b	23.86 b	18.97 b
C. Carrizo	116.15 b	301.54 b	70.23 b	21.43 b	17.00 b
C.V. <sup>x</sup>	10.52	20.54	9.51	9.70	10.52
DMS <sup>y</sup>	15.00	98.28	7.87	2.55	2.19

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

La malformación en raíz no afectó la densidad, área del lumen, diámetro longitudinal y transversal de los vasos, a cinco centímetros del cuello de la planta (Cuadro 16 A). Aun cuando la malformación puede actuar como obstrucción para la conducción de forma localizada y disminuir el desarrollo de la planta, estas diferencias no se manifestaron al momento de la evaluación.

Al analizar estas variables en el caso de los portainjertos con los dos tipos de raíz (Cuadro 38) se observa que limón 'Volkameriano' en ambos tipos de raíz superó a citrumelo 'Swingle' y citrange 'Carrizo' que en el tipo 3 presentó menor densidad de vasos. El mismo comportamiento se observó para diámetro transversal y longitudinal de vaso.

Cuadro 38. Densidad de vasos (número de vasos por mm<sup>2</sup>), área del lumen (μm<sup>2</sup>), perímetro de vaso (μm), diámetro longitudinal (μm), diámetro transversal (μm) plantas con dos grados de malformación de raíz, de tres portainjertos de cítricos, diez meses después de trasplante. Cazones, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/tipo de raíz	Densidad (No mm <sup>2</sup> )	Área del lumen (μm <sup>2</sup> )	Perímetro (μm)	Diámetro longitudinal (μm)	Diámetro transversal (μm)
L. Volkameriano 0	171.43 a <sup>z</sup>	681.30 a	98.06 a	31.98 a	25.10 a
L. Volkameriano 3	186.95 a	794.71 a	106.76 a	34.19 a	27.37 a
C. Swingle 0	120.08 bc	333.87 bc	69.01 b	22.14 bc	17.58 bc
C. Swingle 3	139.04 b	438.22 b	79.02 b	25.57 b	20.36 bc
C. Carrizo 0	123.51 bc	343.41 bc	69.56 b	22.51 bc	18.08 bc
C. Carrizo 3	108.9 c	259.68 c	70.90 b	20.35 c	15.93 c
C.V.	10.52	20.54	9.51	9.70	10.52
DMS	26.17	171.48	13.73	4.45	3.83

<sup>z</sup>Medias con letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

### Grosor de la peridermis, del floema y área del xilema

La prueba estadística mostró que el grosor de la peridermis es diferente en los portainjerto (Cuadro 17 A). El grosor en limón 'Volkameriano' (42.27 μm) es 31.2 % más gruesa que en citrange 'Carrizo'; citrumelo 'Swingle' fue similar a ambos, solo 9.4 % menos gruesa que 'Volkameriano' (Cuadro 39).

Los portainjertos presentan diferencias en el grosor del floema (Cuadro 39; Figuras 12 y 13). Limón 'Volkameriano' presentó el floema más grueso (378.79  $\mu\text{m}$ ), que en citrange 'Carrizo' (18.8 %); citrumelo 'Swingle' presentó valor intermedio. La importancia del grosor del floema radica no solo en el transporte de asimilados, sino de nutrientes como  $\text{K}^+$ , que se mueve vía xilema-floema y cuya recirculación es importante en las raíces (Szczerba *et al.*, 2009); y del zinc, que puede moverse primero en el xilema hacia el tallo y las hojas y luego ser transferido al floema para ser transportado por el floema de nuevo hacia las raíces (Haslett *et al.*, 2001).

Cuadro 39. Grosor de la peridermis ( $\mu\text{m}$ ), grosor del floema ( $\mu\text{m}$ ) y área del xilema ( $\text{mm}^2$ ) de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Portainjerto	Grosor de la peridermis ( $\mu\text{m}$ )	Grosor del floema ( $\mu\text{m}$ )	Área del xilema ( $\text{mm}^2$ )	Área conductora total ( $\text{mm}^2$ )
L. Volkameriano	42.27 a <sup>z</sup>	368.79 a	531 110 a	314.28 a
C. Swingle	38.18 ab	345.30 ab	356 997 a	180.54 ab
C. Carrizo	29.09 b	299.55 b	304 457 a	72.98 b
C.V. <sup>x</sup>	19.07	9.92	51.71	59.52
DMS <sup>y</sup>	10.73	51.61	316 60	173.53

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

El área del xilema no fue afectada por el portainjerto (Cuadro 39; Figura 14), aún cuando si existieron diferencias en el diámetro del tallo de los portainjertos, el área del xilema es función del área de la sección transversal del tallo y, por tanto, es menor en los tallos más delgados (Sperry *et al.*, 1988), sin embargo, esto puede ser explicado por las diferencias en grosor de la peridermis, floema y área ocupada por la médula. Las bajas proporciones de xilema y floema, y altas en médula, son caracteres que favorecen bajo flujo de agua en el sistema de conducción y son indicados como adaptaciones de resistencia a sequía (Vasconcellos y Castle, 1994; Núñez –Colin *et al.* (2006).

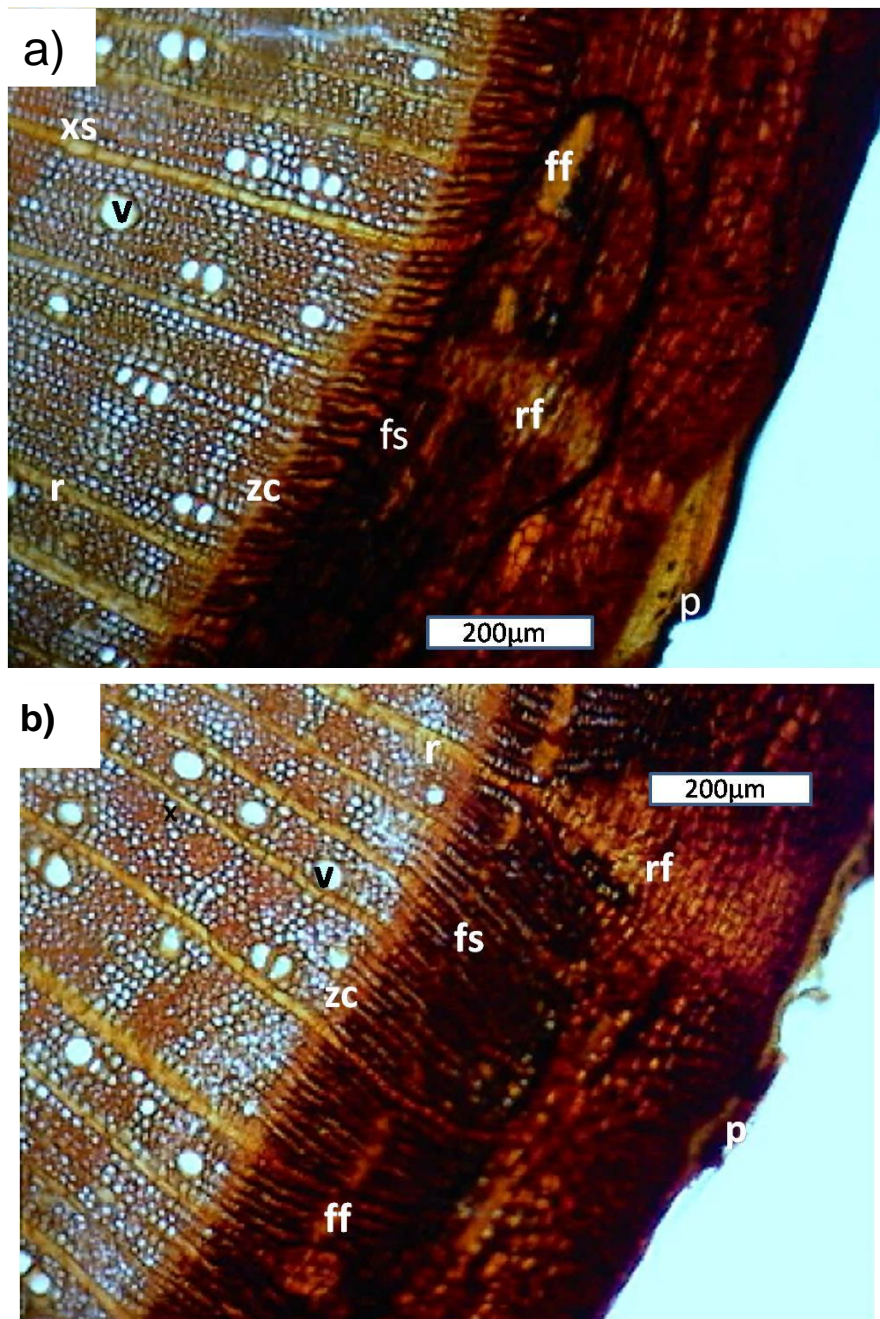


Figura 12. Corte transversal de tallo de citrurnelo 'Swingle' con raíz a) recta (grado 0); y b) malformación 3 (con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ ) (ff= fibras del floema; fs = floema secundario; p= peridermis; r= rayo; rf = rayo floemático; v= vaso;xs = xilema secundario; zc = zona cambial) (Fotografía 40x).

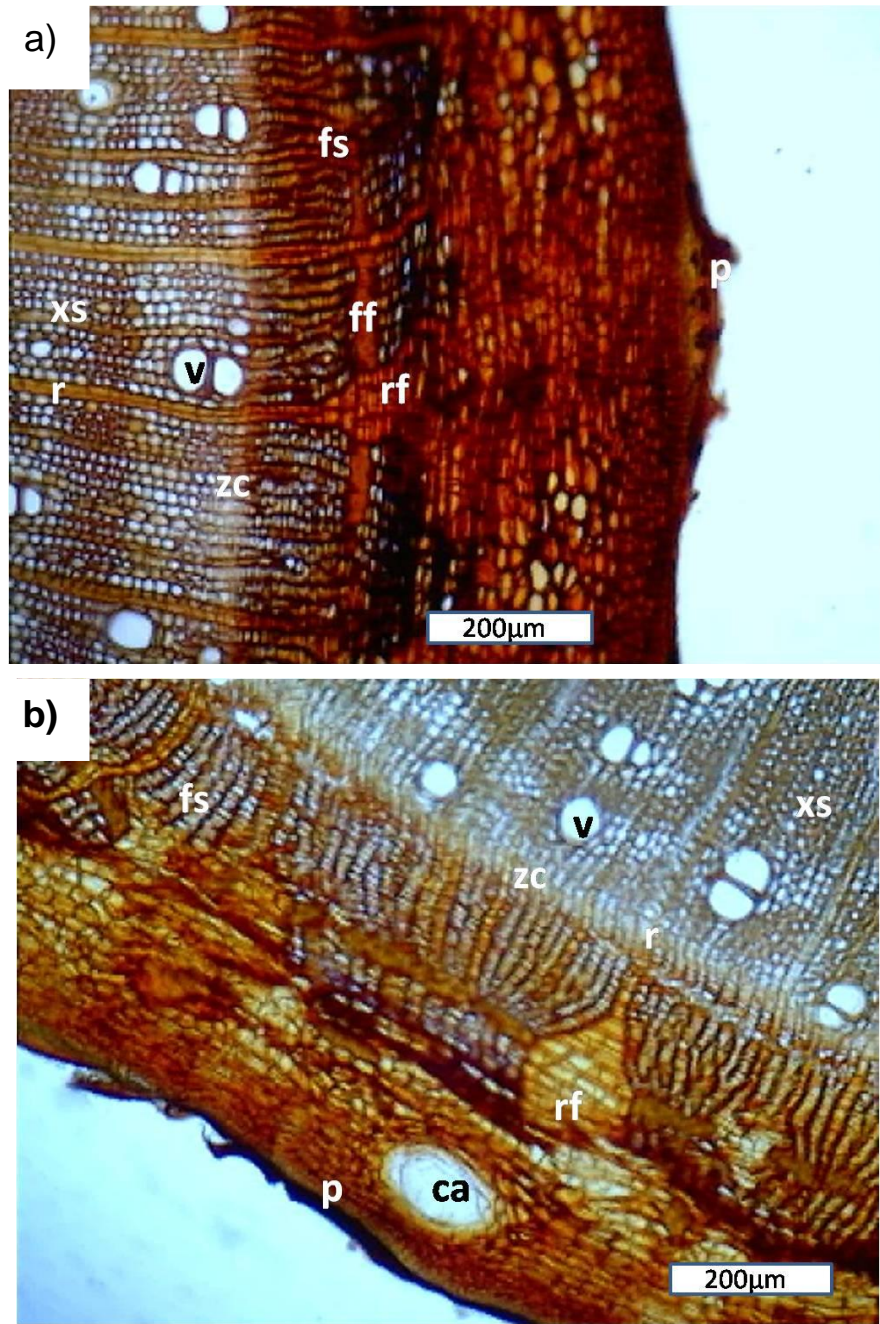


Figura 13. Corte transversal de tallo de limón 'Volkameriano' con raíz a) recta (grado 0); y b) malformación 3 (con tres ángulos  $\geq 90^\circ$ ) (ca= conducto de aceites; ff = fibras del floema; fs = floema secundario; p=peridermis; r= rayo; rf = rayo floemático; v= vaso; xs = xilema secundario; zc = zona cambial) (Fotografía 40x).

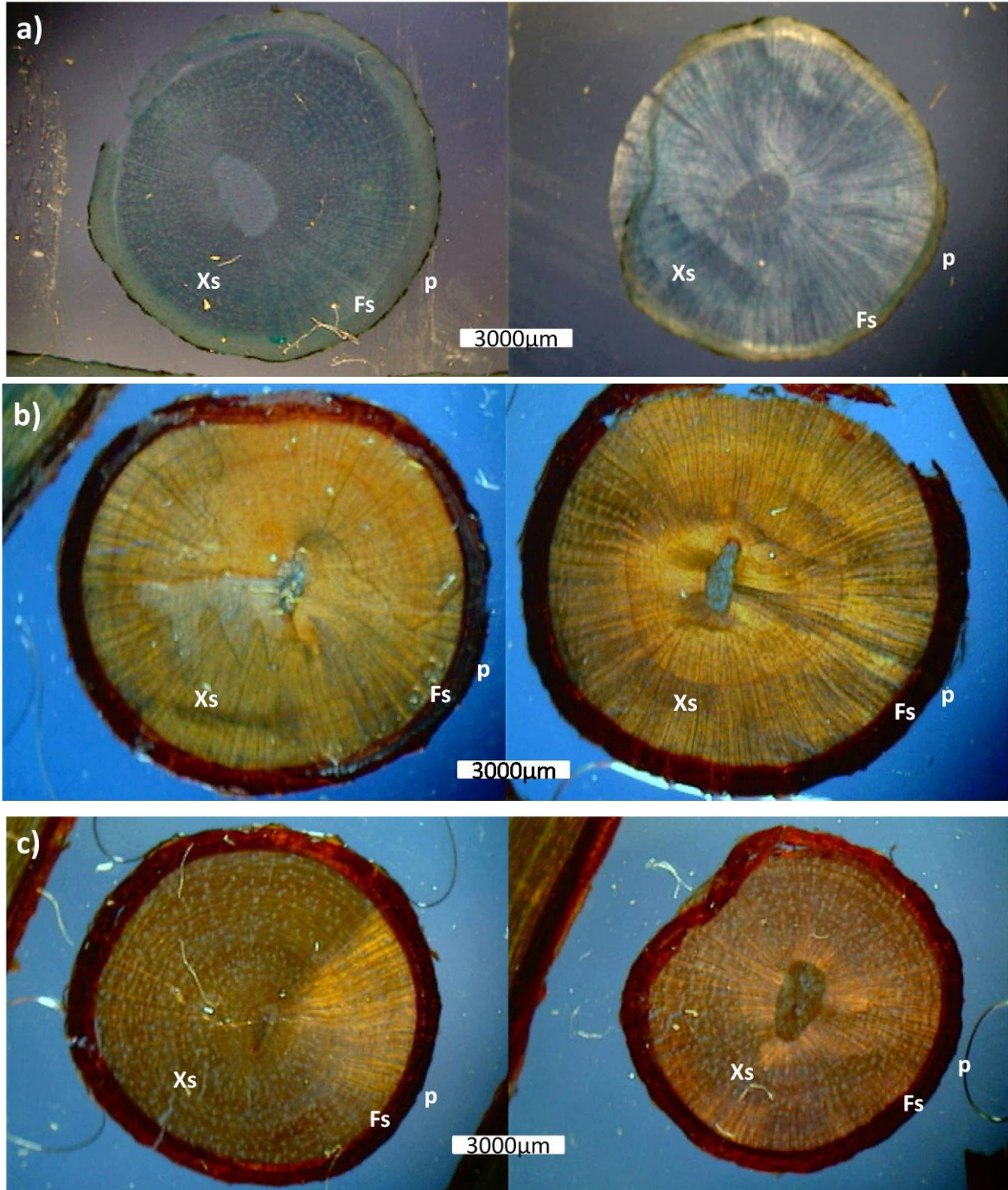


Figura 14. Corte transversal de tallo. a) citrange 'Carrizo', b) citrumelo 'Swingle' y c) limón 'Volkameriano' con malformación de raíz grado 0 (recta) izquierda; y grado 3 (con tres curvaturas) derecha (Fotografía 10x). (Fs = Floema secundario; p = peridermis; Xs= xilema secundario).

El grosor de la peridermis, 5 cm por encima del cuello, mostró diferencias altamente significativas entre grado de malformación de raíz (Cuadro 17 A). Las plantas con malformación de raíz grado 0, presentaron peridermis más gruesa que las plantas con malformación de raíz grado 3 (Cuadro 40; Figura 14). Panou-Filotheou y Bosabilidis (2004) La malformación de la raíz afectó, de manera altamente significativa el grosor de la peridermis a 5 cm por encima del tallo (Cuadro 40; Figura 14). Las plantas con malformación de raíz grado 0, presentaron peridermis más gruesa que las plantas con malformación de raíz grado 3. Panou-Filotheou y Bosabalidis (2004) encontraron en plantas de orégano con malformación de raíz debida a estrés por cobre, que el tejido de la peridermis se disminuyó y se incrementó el correspondiente a xilema-floema. Sin embargo, no existieron diferencias en el grosor del floema, área del xilema, ni en el área conductora total.

Cuadro 40. Grosor de la peridermis ( $\mu\text{m}$ ), grosor del floema ( $\mu\text{m}$ ) y área del xilema ( $\text{mm}^2$ ) de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>w</sup>	Grosor de la peridermis ( $\mu\text{m}$ )	Grosor del floema ( $\mu\text{m}$ )	Área del xilema ( $\text{mm}^2$ )
0	41.617 a <sup>z</sup>	350.61 a	42.042 a
3	31.413 b	325.15 a	37.462 a
C.V. <sup>x</sup>	19.079	9.92	51.71
DMS <sup>y</sup>	7.156	34.42	21.12

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa <sup>w</sup> 0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

El grosor de la corteza fue mayor en limón 'Volkameriano' con malformación de raíz grado 3 que en Carrizo con ambos tipos de malformación (Cuadro 41). Citrumelo 'Swingle con malformación grado 3 presentó el mayor grosor del floema. El área conductora total fue mayor en limón 'Volkameriano' con malformación grado 3 e inferior en citrange 'Carrizo' con los dos tipos de malformación.

Cuadro 41. Grosor de la corteza externa ( $\mu\text{m}$ ), grosor del floema ( $\mu\text{m}$ ) y área del xilema ( $\text{mm}^2$ ) de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación en raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Tratamientos Pi/Raíz <sup>w</sup>	Grosor de la corteza ( $\mu\text{m}$ )	Grosor del floema ( $\mu\text{m}$ )	Área del xilema ( $\text{mm}^2$ )	Área conductora total ( $\text{mm}^2$ )
L. Volkameriano 0	34.534 ab	294.85 b	630 929 a	181.00 ab
L. Volkameriano 3	50.003 a	304.24 b	431 291 a	447.55 a
C. Swingle 0	45.150 ab	321.21 b	260 226 a	151.04 ab
C. Swingle 3	31.213 ab	416.36 a	453 769 a	210.04 ab
C. Carrizo 0	29.697 b	350.00 ab	432 348 a	83.50 b
C. Carrizo 3	28.483 b	340.60 ab	176 565 a	62.47 b
C.V. <sup>x</sup>	19.079	9.917	51.709	59.52
DMS <sup>y</sup>	19.106	91.9	563 737	308.99

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa <sup>w</sup> 0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas



## CONCLUSIONES

La malformación de raíz de portainjertos de cítricos ocasiona que se desechen en viveros comerciales, del 27.6 al 46.5 % de plantas al momento del trasplante a bolsas.

La malformación se observó en raíz, cuello y tallo de las plantas. La mayor proporción (>70%) se observó en raíz de los cinco portainjertos evaluados. Los portainjertos trifoliados (citranges 'Carrizo' y 'Troyer') presentaron mayor porcentaje de malformación en tallo.

Anatómicamente se determinó, que aún cuando la malformación se observa en la raíz, también se presenta en cuello o tallo.

La posición de la semilla con el micrópilo hacia abajo, disminuye el porcentaje de plantas con malformación, sin embargo no justifica el total de plantas que deben desecharse, lo cual indica que existe otro factor.

La posición de la semilla con el micrópilo hacia arriba incrementó la malformación de raíz grado dos (con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ) por lo tanto, ésta puede ser una causa, pero no la única de la malformación.

De los tres portainjertos evaluados, limón 'Volkameriano' es el más vigoroso y alcanza el tamaño para injertar antes que citrange 'Troyer' y citrumelo 'Swingle'.

En el tiempo que duró la evaluación, la malformación de la raíz afectó el área foliar, volumen y materia fresca de la raíz.

El contenido nutrimental fue diferente entre portainjertos, pero no hubo efecto de la malformación de la raíz.

Limón 'Volkameriano' extrajo mayor cantidad de N, P, K, Ca y Mg.

La densidad y tamaño de estomas y vasos difiere entre portainjertos, pero no por efecto de la malformación de raíz. Limón 'Volkameriano' presentó la mayor densidad de estomas y vasos.

## LITERATURA CITADA

- Aasamaa, K., A. Sober and M. Rahi. 2001. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees. *Australian Journal Plant Physiology* 28: 765-774.
- Agustí, M. 2003. *Citricultura*. 2da ed. Ed. Mundi Prensa. México. 422 p.
- Alcántar, G. G. y M. Sandoval V. 1999. Manual de análisis químico de tejido vegetal. Publicación especial 10. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, A.C. Chapingo, México 156 p.
- Alcántar, G. G., L. I. Trejo-Téllez, L. Fernández P. M. N. Rodríguez M. 2007. Elementos esenciales. *In: Nutrición de Cultivos*. G. Alcántar G. y L. I. Trejo (Coord.) Ed Mundi-Prensa. pp. 7-47.
- Alva, A.K., A. Fares and H. Dou 1999. Dry matter and nitrogen, phosphorus, and potassium partitioning in citrus trees. In: ASA Annual Meeting, Madison. Abstracts. Salt Lake City, UT.
- Amorós, M. 2003. *Producción de Agrios*. 3º ed. Ediciones Mundi-Prensa. España. pp. 352.
- Andrade-Rodríguez, M., A. Villegas-Monter, G. Carrillo-Castañeda, A. García-Velázquez. 2004. Polyembryony and identification of Volkamerian lemon zygotic and nucellar seedlings using RAPD. *Pesquisa Agropecuria Brasileira* 39: 551-559.
- Atkinson, C., M. Else, L. Taylor and A. Webster. 2001. The rootstocks graft union: a contribution to the hydraulics of the worked fruit trees. *Acta Horticulturae* 557: 117-122.
- Avilán, L., C. Velarde y L. Meneses. 1986. Distribución del sistema radical de los patrones de cítricos naranjo agrio (*Citrus aurantium* L) Cleopatra (*C. reshni* Hort. Ex Tan) y Volkameriana (*C. volkameriana* Pasq). *Agronomia Tropical* 36: 97- 113.
- Basile, B., J. Masal, L. I. Solari, M. T. Tyree, D. R. Bryla, T. M. DeLong. 2003. Hydraulic conductance of peach trees grafted on rootstocks with differing size controlling rootstocks. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 78: 768-774.
- Bassanezi, R. B., A. Bergamin-filho, L. Amorim, N. Gimenes-Fernandes, T. R. Gottwald y J. M. Bové. 2003. Spatial and temporal analyses of citrus sudden death as a tool to generate hypotheses concerning its etiology. *Phytopathology* 93: 502-512.

- Beakbane , A. B. and E. C.Thompson. 1939. Anatomical studies of steams and roots of hardy fruit trees. II. The internal structure of the roots of some vigorous and some dwarfing apple rootstocks and the correlation of structure with vigour. *Journal Horticultural Science* 17: 141-149.
- Bevington, K. V. and W. S. Castle. 1985. Annual root growth pattern of young citrus trees in relation to shoot growth, soil temperature, and soil water content. *Journal American Society for Horticultural Science* 110: 840-854.
- Bitters, W. P. 1974. Trifoliolate orange selections as rootstocksfor oranges. *Citrograph* 49: 205-210.
- Bloom, A. J., E. S. Chapin and H. A. Mooney. 1985. Recourse limitation in plants- An economic analogy. *Annual Review of Ecology and Systematics* 16: 363-392.
- Borges Do Valle, C. and J. W. Miles. 2001. Breeding of apomictic species. *In: The flowering of apomixes: From mechanisms to genetic Engineering*. Savidan Y., Garman, J.G., Dresselhaus, T. (eds.). CIMMYT, IRD, The European Commission D.G. VI (FAIR). D.F., México. pp. 137-152.
- Bralansky R. H., L. W. Timmer, R. F. Lee and J. H. Graham. 1984. Relationship of xylem plugging to reduced water uptake and symptom development in citrus trees with blightlike declines. *Phytopathology* 74: 1325-1328.
- Brodribb, T. J. 2009. Xylem hydraulic physiology: The functional backbone of terrestrial plant productivity. *Plant Science* 177: 145-151.
- Brouwer, R. 1983. Functional equilibrium: sense or non sense? *Netherlands Journal of Agricultural Science* 31: 355-368.
- Bucci, S. J., F. G. Scholz, G. Goldstein, F. C. Meinzer, A. C. Franco, P. I. Campanello, R. Villalobos-Vega, M. Bustamante and F. Mirelles-Wilhelm. 2006. Nutrient avilability constrains the hydraulic architecture and water relations of Savannah trees. *Plant Cell and Environment* 29: 2153-2167.
- Cambra, M. y P. Moreno. 2000. Tristeza. *In: Enfermedades de los Cítricos*. Sociedad Española de Fitopatología. Ed. Mundi-Prensa. España. pp. 78-81.
- Cameron, J.W. and R.K. Soost, 1986. C35 and C32 citrange rootstocks for citrus. *HortScience* 21: 157-158.
- Cañizares, A., M. A. Sanabria, A. Rodríguez D. e Y. Perozo. 2003. Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista Científica UDO Agrícola* 3: 59-64.

- Carpenter, J. B., and J.R. Furr. 1962. Evaluation of tolerance to root rot caused by *Phytophthora parasitica* in seedlings of citrus and related genera. *Phytopathology* 52: 1277-1285.
- Castle, W. S. 1987. Citrus rootstocks. *In: Rootstock for fruit crops*. Roma, R.C. and Carlson (eds.). John Willy and Sons, New York. pp. 361-399.
- Castle, W. S. 1993. Rootstocks for Florida Citrus. Ed. Univ. of Florida. U.S.A. 92 p.
- Castle, W. S. and A.H. Kezdorn. 1975. Effect of Citrus rootstocks on root distribution and leaf mineral content of 'Orlando' tangelo trees. *Journal of American Society for Horticultural Science* 100: 1-4.
- Castle, W. S. and F.G. Gmitter. 1999. Rootstock and scion selection. *In: Citrus Health Management*. Timmer. L.W. and L.W. Duncan (eds.) The American Phytopathological Society Press. St. Paul, MN. pp. 21-24.
- Cerezo, M., P. García-Agustín and E. Primo-Milo. 1999. Influence of chloride and transpiration on net  $15\text{ NO}_3^-$  uptake rate by citrus roots. *Annals of Botany* 84: 117-120.
- Chang, C. J., M. Garnier, L. Zreik, V. Rosseti, J. M. Bové. 1993. Culture and xerological detection of the xylem-limited bacterium causing citrus variegates chlorosis and its identification as a strain of *Xillella fastidiosa*. *Current Microbiology* 27:142-137.
- Chapman, H. D. 1968. The mineral nutrition of citrus. *In: The Citrus Industry Vol II*. W. Reuther, L.D. Bachelor and H. J. Webber (eds.) Univ. California. Div. Agr. Scie. Ca. U.S. A. pp. 127-289
- Cintra, F. L. D., P. L. Libardi e L. A. C. Jorge. 1999. Distribuição do sistema radicular de porta-enxertos de citros em ecossistema de tabuleiro costeiro. *Revista Brasileira de Fruticultura* 21: 313-317.
- Colauto S., N. M. and C. S. V. Janeiro N. 2004. Rootstocks for 'Tahiti' lime. *Scientia Agricola Piracicaba, Brazil* 61: 151-155.
- Contreras-Morales, E., G. Almaguer-Vargas, J.R. Espinoza-Espinoza, R. Maldonado-Torres y E. Álvarez-Sánchez. 2007. Distribución de materia seca y nutrimentos en árboles de limón 'Persa' (*Citrus latifolia* Tan.) en Veracruz, México. *Revista Chapingo. Serie Horticultura* 13: 77-85.
- Cooper W. C., E. O. Olson, N. Maxwell and G. Otey. 1956. Review of studies on adaptability of citrus varieties as rootstocks for grapefruit in Texas. *Journal of Rio Grande Valley Horticultural Society* 10: 6-19.

- Costa, M. A. P., B. M. J. Mendes and F. A. A. Mourão Filho. 2003. Somatic hybridization for improvement of citrus rootstock: production of five combinations with potential for improvement disease resistance. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 43: 1151-1156.
- CSTPA. 1980. Reference methods for soil testing. The Council on Soil Testing and Plant Analysis. Athens, Georgia.
- Davies, F.S. and L. Gene Albrigo. 1998. *Citrus*. Cab International University Press Cambridge. UK. 254 p .
- Dopson, R. N. 1964. The eradication of citrus canker. *Plant Disease Reporter* 48: 30-31.
- Eissenstat, D. M., D. S. Achor. 1999. Anatomical characteristics of roots of citrus rootstocks that vary in specific root length. *New Phytologist* 141: 309-321.
- Fallahi, E. and D.R. Rodney. 1992. Tree size, yield, fruit quality and mineral nutrient concentration of 'Fairchild' mandarin on six rootstocks. *Journal American Society for Horticultural Science* 117: 28-31.
- Fassio, C., R. Heath, M. Lu Arpatia and M. Castro. 2009. Sap flow in 'Hass' avocado trees on two clonal rootstocks in relation to xylem anatomy. *Scientia Horticulturae* 120: 8-13.
- Ferguson, J. and J. Chaparro. 2004. Dwarfing and freeze hardiness Potential of trifoliolate orange rootstocks. Horticultural Sciences Departament. EDIS. HS982
- Ferguson, L. N. Sakovich and M. Roose. 1990. California citrus rootstocks. University of California, Division of Agriculture and Natural Resources. Publication 21477: 18 p.
- Forner-Giner, M.A., A. Alcaide, E. Primo-Millo and J.B. Forner. 2003. Performance of 'Navelina' orange on 14 rootstocks in Northern Valencia (Spain). *Scientia Horticulturae* 98:223-232.
- Franks, P. J. and G. D. Farquhar. 2007. The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control <sup>[OA]</sup>. *Plant Physiology* 143: 78-87.
- García E. 1981. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- García-Sánchez, F., J. P. Syvertsen, V. Gimeno, P. Botia and J. G. Pérez-Pérez. 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum* 130: 532-542.

- Girardi, E. A., F. A. A. Mourão F. and R. A. Kluge. 2007. Effect of seed coat removal and controlled-release fertilizer application on plant emergence and vegetative growth of two citrus rootstocks. *Fruits* 62: 13-19.
- Gomes de Assis , M de M. , A. M. M. Andrade L., E. Caruso M., C. Lázaro M. and M. A. Machado. 2003. Gas exchanges and carbohydrate metabolism in orange trees with citrus variegated chlorosis. *Brazilian Journal of Plant Physiology* 15: 25-31.
- Goncalves, B., C. M. Correia, A. P. Silva, E. A. Bacelar, A. Santos, H. Ferreira, J. M. Montinho-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: 121-130.
- Halter, M. R., C. P. Chanway, G. J. Harper. 1993. Growth reduction and root deformation of containerized lodgepole pine saplings 11 years after planting. *Forest ecology and management* 56: 131-146.
- Harmann, H. T., D. E. Kester. 1990. *Propagación de Plantas. Principios y Prácticas*. Cia. Ed. Continental, México. 381 p.
- Haslett, B.S., R.J. Reid and Z. Rengel. 2001. Zinc mobility in wheat: uptake and distribution of zinc applied to leaves or roots. *Annals of Botany* 87: 379-386.
- Hay, R. L. and F.W. Woods. 1975. Distribution of carbohydrates in deformed seedling root system. *Forest Science* 21: 263-267.
- Hsiao, T. C. 1993. Growth and productivity of crops in relation to water stress. *Acta Horticulturae* 335:137-148.
- Hsiao, T. C. 2000. Leaf and root growth in relation to water status. *HortScience* 35: 1051-1058.
- Hsiao, T.C., E. Acevedo, E. Ferreres and D. W. Henderson. 1976. Water stress, growth and osmotic adjustment. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 273: 471-500.
- [http://www.oedrus-tamaulipas.gob.mx/cd\\_anuario\\_06/SIACON\\_2009.html](http://www.oedrus-tamaulipas.gob.mx/cd_anuario_06/SIACON_2009.html)  
(Fecha de Consulta: Enero de 2010)
- Hussein, L. A. and M. J. McFarland. 1994. Rootstocks induced differences in sap flow of 'Granny Smith' apple. *HortScience* 29: 1120-1123.
- Jackson, L. K. and F. S. Davis. 1999. *Citrus growing in Florida*. 4° Ed. University Press of Florida. Gainesville, FL. 303 p.
- Jiménez, R., Elsa Frometa y M. Santos. 1989. Estudio fenológico de seis patrones en combinación con el híbrido tangüelo 'Orlando' (*Citrus paradisi* x *Citrus*

- reticulata*) en la fase de vivero en el sur de La Habana. *Agrotecnia de Cuba* 21: 111-115.
- Jones, H. G. 1983. *Plants and microclimate*. Cambridge University Press. Cambridge, New York . 323 p.
- Jones, H.G. 1987. Breeding for stomatal characters. *In*: E. Zeiger, G.D. Farquhar, and I.R. Cowan. *Stomatal function*. Stanford University Press. Stanford California. pp. 431-443 .
- Karam, G. 2005. Biomechanical model of the xylem vessels in vascular plants *Annals of Botany* 95: 1179-1186.
- Keith A. M. and D. Peak, 2001. Stomatal patchiness and task-performing networks. *Annals of Botany* 99: 219-226.
- Kenneth B. B. and W. S. Castle. 1985. Annual root growth pattern of young citrus trees in relation to shoot growth, soil temperature and soil water content. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110: 840-845.
- Kirkham, M. B. 2005. *Principles of Soil and Plant Water Relations*. Elsevier Academic Press, U.S.A. pp. 207-227.
- Kirpal Singh K. 1954. Rootstock effect on the fruit quality of Malta orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *Indian Journal Agricultural Science* 24: 1-22.
- Lens, F., Gasson, P., Smets, E. and Jansen, S. 2003. Comparative wood anatomy of Epacrids (Styphelioideae, Ericaceae s. l.). *Annals of Botany* 91: 835-856.
- Letado, R. R., M. T. V. De C. Derbyshire, Tsai SiuMui, A. Tulmann N. 2002. Obtenção de híbridos somáticos de limão 'Cravo' e tangerina 'Cleópatra'. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37: 1735-1741.
- Lijima, M., and J. Kato. 2007 Combined soil physical stress of soil drying, anaerobiosis and mechanical impedance to seedling root growth of four crop species. *Plant Production Science* 10: 451-459.
- Lindström, A. and G. Rune. 1999. Root deformation in plantations of container-grown Scots pine trees: effects on root growth, tree stability and stem straightness. *Plant and Soil* 217: 29-37.
- Lockard, R. G. and G. W. Schneider. 1981. Stock and scion growth relationships and the dwarfing mechanism in apple. *Horticultural Reviews* 3: 315-375.
- Löfkvist, J., W. R. Whalley and L. J. Clark. 2005. A rapid method for good root penetration ability: Comparison of species with very different root morphology. *Acta Agriculturae Scandinavica Section B-Soil and Plant Science* 55: 120-124.

- Lovisol, C., A. Schubert, E. Peterlunger and S. Ferraris. 2000. Sap flow and stem conductivity of potted stressed grapevines. *Acta Horticulture* 526: 187-191.
- Lucas, R. E. and J. F. Davies. 1961. Relations between pH values of organic soils and availabilities of 12 plant nutrients. *Soil Science* 92: 177-182.
- Luiz A., B. C. Vasconcellos and W. S. Castle. 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.
- Luquet, D., B. G. Zhang, M. Dingkuhn, A. Dexet and A. Clément-Vidal. 2005. Phenotypic plasticity of rice seedlings: case of phosphorus deficiency. *Plant Production Science* 8: 145-151.
- Machado, E. C., C. I. Medina, M. M. A. Gomes and C. Habermann. 2002. Seasonal variation of photosynthetic rates, stomatal conductance and leaf water potential in 'Valencia' oranges trees. *Scientia Agricola* 59: 53-58.
- Malamy, J. E. and K. S. Ryan. 2001. Environmental regulation of lateral root initiation in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 127: 899-909.
- Marathe, R. A., S. Singh, L. Ram and R. K. Sonkar. 2000. Rootstock behaviour in relation to leaf nutrients composition of acid lime (*Citrus aurantifolia* Swingle). *Indian Journal Horticulture* 57: 95-101.
- Masarovicova, E. 1991. Leaf shape, stomata density and photosynthetic rate of the common oak leaves. *Biology Plantarum* 33:495-500.
- Maseko, B. O. Z. and T. A. Coutinho. 2002. Pathogenicity of *Phytophthora* and *Pythium* species associated with citrus root rot in South Africa. *South African Journal of Botany* 68: 327-332.
- Mattos Jr, D., J. A. Quagio, H. Cantarella e A. K. Alva. 2003. Conteúdo de nutrientes em componentes da biomassa de laranja hamlin. *Scientia Agricola* 60: 155-160.
- McDonald, A. J. S., T. Ericson and, C. Larsson. 1996. Effect of mineral nutritional status ion shoot-root partitioning of photoassimilates and cycling of mineral nutrients. *Journal of Experimental Botany* 47: 1245-1253.
- Medina Urrutia, V. M., S. Alcalde B. y A. Sadowski. 1980. Análisis de la distribución radicular de ocho patrones injertados con limón persa *Citrus latifolia* Tanaka. *Agricultura Técnica en México* 6: 67-76.
- Mendel, K. 1945. Orange leaf transpiration under orchard conditions. II *Bull. Agr. Exp. Sta. Rehovot* 37:59-85.



- Mendes Rita de Cássia, M. A. Rocha de O., S. Y. Motoike, R. S. Alexandre e D. Lopes S. 2008. Effect of mechanical treatments on in vitro germination of citrus seeds. *Ceres* 55:445-449.
- Mengel, K., and E. A. Kirkby. 1987. Principles of Plant Nutrition. 4<sup>a</sup> Ed. International Potash Institute. Bern. 687 p.
- Mills, H.A., Benton-Jones Jr., J., 1996. Plant Analysis Handbook II. Micromacro Publishing, Athens, GA. 422 p.
- Montilla, B. I., E. Gallardo. 1994 Comportamiento del naranjo 'Valencia' sobre trece portainjertos en Lara, Venezuela. I. Crecimiento. *Agronomía Tropical* 44: 619-628.
- Moreira, C. S. e L. C. Donadio. 1968. Efeito da posição da semente de citros no tipo de seedling produzido. *O Solo* 40: 69-70.
- Müller, G. W., J. D. De Negri, C.B. Aguilar-Vildoso, D. Mattos Jr., J. Pompeu Jr., J. Teófilo Sobrinho, M. A. Machado, S. A. Carvalho e L.F. Girotto. 2002. Citrus sudden death: A new citrus disease in Brazil. *Proceedings of International Organization of Citrus Virology* 1: 405-408.
- Mumford, P. M. and B.W.W. Grout. 1979. Desiccation and low temperature (-195°C) tolerance of Citrus lemon seed. *Seed Science & Technology* 7: 407-410.
- NAS (National Academy Sciences. 2010. (<http://www.nytimes.com/gwire/2010/03/23/23greenwire-engineered-oranges-needed-to-resist-disease---73139.html> ). Fecha de consulta: 25/03/2010.
- Nava A., J., A. Villegas M., F. Barrientos P. y A. Martínez G. 1996. Comportamiento en vivero de tres portainjertos tolerantes a la tristeza de los cítricos. *Agrociencia* 30: 573-576.
- Navas, M-L. and E. Garnier. 2002. Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrine* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecologica* 23: 375-383.
- Nichols, T. J. and A. A. Alm. 1983. Root development of container-treated, nursery-grown, and naturally regenerated pine seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 13: 239-245.
- Nicotra, A. B., N. Babicka and M. Westoby. 2002. Seedling root anatomy and morphology: an examination of ecological differentiation with rainfall using phylogenetically independent contrasts. *Oecología* 130: 136-145.

- Nijse, J., G. W. A. M. van der Heijden, W van Leperen, C.J. Keijzer and U. van Meeteren. 2001. Xylem hydraulic conductivity related to conduit dimensions along chrysanthemum stems. *Journal of Experimental Botany* 52: 319-327.
- Noda, K., H. Okuda, I. Iwagaki. 2000. Indole acetic acid and abscisic acid levels in new shoots and fibrous roots of citrus scion-rootstock combinations. *Scientia Horticulture* 84: 245-254.
- Nour-Eldin, F., M. A. Tolba. 1968. Response of *Citrus amblycarpa* Ochse rootstock to citrus virus diseases. Proceedings of the 4<sup>o</sup> Intern. Org. Citrus virologist. University of Florida Press.
- Núñez Escobar, R. 2007. El suelo como medio natural en la nutrición de los cultivos. *In: Nutrición de Cultivos*. G. Alcántar G. y L. I. Trejo (Coor.) Mundi Prensa México. pp. 93-157.
- Núñez-Colín, C. A., A. F. Barrientos-Priego, J. E. Rodríguez-Pérez, y R. Nieto-Ángel. 2006. Variabilidad anatómica de los sistemas de conducción y estomático de genotipos de *Prunus* spp. de diferentes orígenes *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41: 233-241.
- O' Bannon, J. H. and H. W. Ford. 1977. Resistance in citrus rootstocks to *Radopholus similis* and *Tylenchulus semipenetrans* (Nematoda) . International Citrus Congress (2<sup>nd</sup>. 1977. Orlando, Florida), International Society of Citriculture 2: 544-549.
- Ogawa, A., C. Kawashima and A. Yamauchi. 2005. Sugar accumulation along the seminal roots axis, as affected by osmotic stress in maize: A possible physiological basis for plastic lateral roots. *Plant Production Science* 8: 173-180.
- Olmstead, M. A., N. S. Lang and S. A. Owens. 2006. Xylem vessel anatomy of sweet cherries grafted onto dwarfing and non dwarfing rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 131: 577-585.
- Palacios, J. 1978. *Citricultura Moderna*. Ed Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina pp. 25-38.
- Panou-Filotheou, H., A. M. Bosabilidis. 2004. Root structural aspects associated with copper toxicity in oregano (*Origanum vulgare* subsp. *Hirtum*). *Plant Science* 166:1497-1504.
- Paquillo, A. M., J. M. S. Scholberg, L. R. Parson, T. A. Wheaton. 1999. Water and nitrogen status modify root growth of two citrus rootstocks seedlings. *Proceedings of Florida State for Horticultural Science* 112: 18-22.

- Pathak, R. K., D. Pandey and V. S. Pandey. 1976. Stomatal distribution as an index for predicting the growth potential of apple stocks. *Journal of Horticultural Science* 51: 429-431.
- Pérez-Pérez, J. G., P. Romero, J. M. Navarro and P. Botía. 2008. Response of sweet orange cv 'Lane late' to deficit irrigation in two rootstocks. I. Water relations, leaf gas exchange, and vegetative growth. *Irrigation Science* 26: 415-425.
- Pérez-Zamora O. 2004. Concentración nutrimental en hojas, rendimiento, eficiencia e producción, calidad de jugo e índices nutrimentales de naranja 'Valencia' injertado en portainjertos de cítricos. *Agrociencia* 39: 141-154.
- Pérez-Zamora, O., S. Becerra R. y V. Medina U. 2003. Selección de portainjertos para naranja 'Valencia' en suelos calcinomórficos. *Terra* 21: 47-55.
- Pérez-Zamora, O., V. Medina-Urrutia y S. Becerra-Rodríguez. 2002. Crecimiento y rendimiento de naranja 'Valencia' injertada en 16 portainjertos de cítricos establecidos en suelo calcinomórfico y calidad de jugo. *Agrociencia* 36: 137-148.
- Pompeu Jr., J., F. Ferraz L. e S. Blumer. 2002. Laranjeiras 'Valencia' enxertadas em híbridos de trifoliata. *Scientia Agricola* 59: 93-97.
- Prasad, M. B. N. V. 1983. Stomatal count as an index for predicting vigour of citrus rootstocks. *South Indian Horticulture* 31: 27-28.
- Ram, L., Shyam Singh and R. A. Marathe. 1999. Performance of pre-bearing acid lime (*Citrus aurantifolia*) on various rootstock strains. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 69: 193-197.
- Raven J. A. 2002. Selection pressure on stomatal evolution. *New Phytology* 153: 371-386.
- Reed, H. S. 1931. The density of stomata in citrus leaves. *Journal of Agricultural Research* 43: 209-222.
- Reyes, F. y J. R. Ruiz. 1984. Comportamiento en vivero de patrones de cítricos tolerantes a tristeza. *Agronomía Tropical* 34: 35-41.
- Ribeiro, R. V., E. C. Machado, M. G. Santos, R. F. Oliveira. 2009. Seasonal and diurnal changes in photosynthetic limitation of Young sweet oranges trees. *Environmental and Experimental Botany* 66: 203-211.
- Richards L. A. (ed.). 1982. Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos. Departamento de Agricultura de E.U.A. 6a. ed. 4a. reimpression. Limusa. México, D. F.

- Richards, A. J. 1986. *Plant Breeding Systems*. George Allen and Unwin. London UK 529 p.
- Rieger, M., P. Litvin. 1999. Root system hydraulic conductivity in species with contrasting root anatomy. *Journal Experimental Botany* 50: 201-209.
- Rivas-Valencia, P., E. Loeza-Kuk, G. Mora-Aguilera, V. Febres, D. Ochoa-Martínez, M. A. Gutierrez-Espinoza, W. C. Jesus-Junior, C. Correira-Malvas y N. Arno-Wulff. 2008. Estructura poblacional de aislamientos del citrus tristeza virus y su asociación con la muerte súbita de los cítricos en Brasil. *Agrociencia* 42: 85-93.
- Robinson, D. 1994. The response of plants to non-uniform supplies of nutrients. *New Phytology* 127: 655-674.
- Rodríguez R., Walter G., P. S. Rodríguez de A. e K. Minami. 2000. Desenvolvimento de plântulas de limoeiro 'Cravo' relacionado a posição de sementeira. *Scientia Agricola* 57: 371-373.
- Roistacher, C. N. 1996. The Economics of Living with Citrus Diseases: Huanglongbing (Greening) in Thailand Thirteenth ZOCV Conference, 1996 - Procaryotes and Blight 279-285.
- Román, M. P., M. Cambra, J. Juárez, P. Moreno, N. Duran-Vila, F.A.O. Tanaka, E. Alves, E.W. Kitajama, P.T. Yamamoto, R. B. Bassanezi, D.C. Teixeira, W. C. Jesus Junior, A.J. Ayres, N. Gimenes-Fernandes, L.F. Giroto, J.M. Bové. 2004. Sudden death of citrus in Brazil: a graft-transmissible bud union disease. *Plant Disease* 88: 453-466.
- Ryser P. 1998. Intra and interespecific variation in root length, root turnover and the underlying parameters. In: *Inherent Variation in Plant Growth: Physiological mechanism and ecological consequences*. Lambers H. Poorter H. Van Vuuren MMI (eds.) Leiden: Backhuys Publishers. pp. 441-465.
- Ryser, P. 2006. The mysterious root length. *Plant Soil* 286: 1-6.
- S.A.S. 20. *The SAS System Release 9.2* Cary, N.C. SAS Institute Inc.
- SAGARPA. 2006. Avances del Programa de Reconversión Citricola. <http://www.concitver.com/DIPLO-MATERIAL-PROPAGATIVO/3.%20%20Avances%20del%20programa%20de%20reconversion.pdf>. (Fecha de consulta: marzo de 2010).
- Salibe, A. A. 1974. The tristeza disease. Proc. First Intern. Citrus Short Course. Sept. 24-29, 1973. Univ. of Fla., Gainesville. pp. 68-77.

- Salisbury, F. B. y C. W. Ross. 1994. Fisiología Vegetal. Grupo Editorial Iberoamericana. México, D.F.
- Sánchez-Damas, J. J., E. Avitia-García, A. M. Castillo-González, A. Villegas-Monter y T. Corona-Torres. 2006. Estudio anatómico de la poliembrionía en tres portainjertos de cítricos. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 12: 145-152.
- Saunt, J. 1990. *Citrus Varieties of the World*. Sinclair Int., Norwich, England 160 p.
- Savage, E. M., W. C. Cooper and R.B. Piper. 1945. Root systems of various citrus rootstocks. *Proceedings of Florida State Horticultural Society* 58: 44-48.
- Schubert, T. S. and X. Sun. Bacterial citrus canker. *Plant Pathology Circular No. 377* Fl. Dept. of Agriculture & Cons. Svcs. May/June 1996 (fifth revision January 2003) Division of Plant Industry.  
[http://blogfile.paran.com/BLOG\\_862327/200808/1221223048\\_Bacterial%20Citrus%20Canker%20\(2003\).pdf](http://blogfile.paran.com/BLOG_862327/200808/1221223048_Bacterial%20Citrus%20Canker%20(2003).pdf) (Fecha de consulta: Enero de 2010)
- Schulte, P. J. 2006. Water flow through junctions in Douglas-fir roots. *Plant Cell and Environment* 29: 70-76.
- Shãfer, G., P. V. Dutra de Souza, R. H. Schüür D. e A. L. Cunha D. 2005. Substratos na emergência de plântulas e expressão da poliembrionia em porta-enxertos de citros. *Ciência Rural, Santa Maria* 35: 471-474.
- Sharma P. N., A. Tripathi and S. S. Bisht. 1995. Zinc requirement for stomatal opening in cauliflower. *Plant Physiology* 107: 751-756.
- Sharma, C. P. and P. N. Sharma. 1987. Mineral nutrient deficiencies affect plant water relations. *Journal of Plant Nutrition* 10: 1637-1643.
- Shinde, B. N., V. K. Patil and B. M. Kalalbandi. 2007. Studies on germination and polyembryony of different citrus rootstocks seedling at nursery stage. *Asian Journal of Horticulture* 2: 180-183.
- SIACON (Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta). 2009. SAGARPA..
- Simbolon, H., G. Panggabean. 1986 Some aspects of citrus with special reference to Indonesia. *Buletin Penelitian Hortikultura. Bogor* 14:32-40.
- Smith, P. F., W. Reuther and A. W. Specht. 1948. The influence of rootstocks on mineral composition of Valencia orange leaves. *Plant Physiology* 24: 455-461.
- Soares Filho, W. dos S., L. M. Lee e A. P. da Cunha S.1995. Influence of pollinators on polyembryony in citrus. *Acta Horticulturae* 403: 256-265.

- Sogomà, A. M. R. Abenavoli, P. G. Gringeri and G. Cacco. 2006. A comparison of nitrogen use efficiency definitions in *Citrus* rootstocks. *Scientia Horticulturae* 109: 389-393.
- Solari, L. I., S. Johnson and T. M. Dejong. 2006. Relationship of water status to vegetative growth and leaves Exchange of peach (*Prunus persica*) trees on different rootstocks. *Tree Physiology* 26: 1333-1341.
- Sperry, J. S., J. R. Donnelly, M. T. Tyree. 1988. A method for measuring hydraulic conductivity and embolism in xylem. *Plant Cell Environment* 11: 35-40.
- Srivastava R. P., K. L. Chaudha and N. P. Singh. 1980. Stomatal count as an index for prediction and classification of vigour in mango rootstocks. *Indian Journal Horticulture* 37: 10-15
- Srivastava, A. K., R. R. Kohli, Lallan Ram, A.D. Huchche and H.C. Dass. 1994. Cation exchange capacity of root as a marker for vigour of citrus species. *Indian Journal Agriculture Science* 64: 324-325.
- Sven, E. S. and T. K. Broschat. 1992. Copper hydroxide controls root circling in container-grown West Indies Mahogany and Carpentaria palm. *Proceedings of Florida State Horticultural Society* 105: 219-220.
- Syvertsen, J. P. 1981. Hydraulic conductivity of four commercial citrus rootstocks. *Journal of the American Society for Horticulture Science* 106: 378-381.
- Syvertsen, J. P. and J. H. Graham. 1985. Hydraulic conductivity of roots, mineral nutrition, and leaf gas exchange of Citrus rootstocks. *Journal of the American Society for Horticulture Science* 110: 865-869.
- Syvertsen, J.P., and M.L. Smith. 1996. Nitrogen uptake efficiency and high yield and quality of citrus in sandy soils. *Soil. Sci. Soc. Am.* leaching losses from lysimeter-rown citrus trees fertilized at three nitrogen rates. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 121:57–62.
- Szczerba, M. W., D. T. Britto and H. J. Kronzucker. 2009. K<sup>+</sup> transport in plants: Physiology and molecular biology. *Journal of Plant Physiology*. 166: 447-466.
- Szewczyk, W. y S. Lechtański. 2008. Deformation of scots pine root system in young plantation and the threat by root pathogens. *Acta Scientiarum Polonorum* 7: 39-43.
- Teófilo Sobrinho, J. 1991. Propagação dos citros. *In: Citricultura brasileira*. O. Rodriguez, F. Viégas, J. Pompeu, A. Amaro (eds) 2ed. Campinas; Fundação Cargill 1: 281-301.

- Timmer, L. W., S. M. Garnsey and J. H. Graham. 2000. Compendium of citrus diseases. 2ed. APS Press. St Paul 128 p.
- Toplu, C., M. Kaplankran, T. Hakan Demirkeseer and E. Yildiz. 2008. The effects of citrus rootstocks on Valencia Late and Rhode Red Valencia oranges for some plant nutrient elements. *African Journal of Biotechnology* 7: 4441 - 4445.
- Tyree M. T. and Ewers F. W. 1991. The hydraulic architecture of tree and other woody plantas. *New Phytologist* 119: 345-360.
- Tyree, M. T. 2003. Hydraulic limits on tree performance: transpiration, carbon gain and growth of tree. *Trees* 17: 95-100.
- UF/IFAS (University of Florida, Institute of Food and Agricultural Sciences) 2008. Citrus sudden death in Brazil. <http://edis.ifas.ufl.edu/HS243> (Fecha de consulta: Septiembre de 2008).
- Vasconcellos, L. A. B. and W. S. Castle 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.
- Villegas M., A. y M. Andrade R. 2005. Secado y almacenamiento de semillas de mandarina 'Cleopatra'. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira* 40: 79-85.
- Villegas M., A. y M. Andrade R. 2008. Poliembrionía, ventajas y oportunidades para la propagación vegetativa. *In: Enfoques Tecnológicos en la Fruticultura*. J. Cruz Castillo (ed.) Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, Edo de México pp. 149-167.
- Vysotskaya, L. B., T. N. Arkhipova, L. N. Timergalina, A. V. Dedov, S. Y. Veselov, G. and R. Kudoyarova. 2004. Effect of partial root excision on transpiration, root hydraulic conductance and leaf growth in wheat seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 251-255.
- Weber, D. C. and J. H. Skillings. 1999. *A first Course in the Design of Experiments. A linear Models Approach*. CRC. Press LLC. Washington DC. 680 p.
- Weiner, Jacob. 2004. Allocation, Plasticity and Allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 6: 207-215.
- Wiegand, C.L., and W.A. Swanson. 1982. Citrus responses to irrigation:I. Irrigation requirements; daily, monthly, and annual evapotranspiration amounts; and water management recommendations. *J. Rio Grande Valley Hort. Soc.* 35:73–85.

- Wiltbank, J. W., R. E. Rouse, L. N. Khoi. 1995. Influence of temperature on citrus rootstock seed emergence. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 108: 137-139.
- Wistuba N., R. Reich, H. J. Wagner, J. J. Zhu, H. Schneider, F.W. Bentrup, A. Haase and U. Zimmermann. 2000. Xylem flow and its driving forces in a tropical liana: concomitant flow-sensitive NMR imaging and pressure probe measurements. *Plant Biology* 2: 579-582.
- Wutscher, H. K. 1979. Citrus rootstocks. *In: Horticultural Reviews Vol 1*. Janick, J. (ed.). AVI Publishing Company, Inc. Westport Connecticut. pp. 230-269.
- Wutscher, H. K. and K. D. Bowman. 1999. Performance of 'Valencia' orange on 21 rootstocks in central Florida. *HortScience* 34: 622-624.
- Yang, S., M. T. Tyree. 1992. A theoretical model of hydraulic conductivity recovery from embolism with comparison to experimental data on *Acer saccharum*. *Plant Cell Environment* 15: 633-643.
- Young, R. H., L. G. Albrigo, Mortimer Cohen, W. S. Castle. 1982. Rates of blight incidence trees on Carrizo citrange and others rootstocks. *Proc. Fla. State Hort. Soc.* 95: 76-78.
- Young, R. H., L. G. Albrigo, D. P. H. Tucker and G. Williams. 1980. Incidence of citrus blight on Carrizo citrange and some other rootstocks. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 93: 14-17.
- Zekri, M. and T. Obreza. 2003. Plant nutrients for citrus trees. SL 200. Soil and Water Science Department, Florida Cooperative Extension Service. Institute of Food and Agricultural Sciences. University of Florida.
- Zhao, D., D. M. Oosterhuis, C. W. Bednartz. 2001. Influence of potassium deficiency on photosynthesis, chlorophyll content, and chloroplast ultrastructure of cotton plants. *Photosynthetica* 39:103-109.
- Zimmermann, M.H. 1983. Xylem structure and the ascent of sap. Springer-Verlang. New York 283 p.



## APÉNDICE

Cuadro 1 A. Análisis de con diseño en parcelas divididas divididas para las variables: porcentaje de germinación, malformación de tallo y malformación de raíz grados 0, 1, 2, y 3 de cinco portainjertos colocados en tres posiciones.

VARIABLE DEPENDIENTE	C.V.	P ≥ F		
		Pi	Posición	Pi*Posición
Porcentaje de germinación				
Malformación en tallo	92.55	0.1599	0.5124	0.4294
Grado de malformación en raíz 0	38.80	<0.0001	0.4842	0.0888
Grado de malformación en raíz 1	43.22	0.0028	0.4929	0.2910
Grado de malformación en raíz 2	51.44	0.0006	<0.0001	0.2355
Grado de malformación en raíz 3	97.38	0.0116	0.1841	0.5879

Cuadro 2 A. Análisis de varianza en diseño factorial para las variables: longitud y diámetro del tallo, número y longitud de brotes laterales, número de hojas y área foliar de 10 hojas, longitud y volumen de raíz, relación raíz/parte aérea, materia fresca, seca y contenido de agua en hoja, tallo y raíz en plantas de tres portainjertos con cuatro grados de malformación de raíz.

VARIABLE DEPENDIENTE	C.V.	P ≥ F		
		Pi	Malformación	Pi*Malformación
Longitud del tallo	10.21	<0.0001	0.8272	0.7964
Diámetro del tallo	23.52	<0.0001	0.1448	0.6112
Número de brotes laterales	10.21	<0.0001	0.0515	0.1552
Longitud de brotes laterales	3.13	<0.0001	0.8272	0.7964
Número de hojas	59.71	<0.0001	0.5290	0.5929
Área foliar de diez hojas	26.16	<0.0001	0.0048	0.0912
Longitud de raíz	27.59	<0.0001	0.8520	0.0111
Volumen de raíz	28.46	<0.0001	0.0091	0.0007
Relación raíz/parte aérea	37.14	<0.0001	0.2706	0.8892
Materia fresca de hoja	61.29	<0.0001	0.4674	0.3994
Materia fresca de tallo	38.67	<0.0001	0.4136	0.4483
Materia fresca de raíz	22.49	<0.0001	0.0390	0.1741
Materia seca de hoja	2.60	<0.0001	0.5861	0.3602
Materia seca de tallo	10.74	<0.0001	0.1195	0.1014
Materia seca de raíz	22.33	0.0018	0.1719	0.9299
Contenido de agua en hoja	10.21	<0.0001	0.8272	0.7964
Contenido de agua en tallo	15.94	0.0368	0.3115	0.4278
Contenido de agua en raíz	12.22	0.0044	0.5003	<0.0001

Cuadro 3 A. Longitud (cm) y diámetro del tallo (mm), número y longitud de brotes laterales (cm) número de hojas y área foliar de 10 hojas en plantas con cuatro grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz	Longitud del tallo (cm)	Diámetro del tallo (mm)	Número de brotes laterales	Longitud de brotes (cm)	Número de hojas	Área foliar (10 hojas)
0	71.41 a <sup>z</sup>	6.79 a	5.04 a	3.76 a	60.60 a	126.37 b
1	81.67 a	6.29 a	2.62 a	3.49 a	54.13 a	136.33 ab
2	79.54 a	6.33 a	2.25 a	3.31 a	48.23 a	154.22 a
3	75.09 a	7.09 a	2.63 a	2.72 a	53.27 a	156.96 a
C.V.	10.21	23.524	123.195	56.72	59.709	26.1597
DMS	12.994	1.050	2.91	1.27	21.748	25.288

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$

Cuadro 4 A. Longitud (cm) y volumen de raíz (cm<sup>3</sup>), número y longitud (cm) de raíces secundarias y relación raíz/parte aérea en plantas con cuatro grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>w</sup>	Longitud de la raíz (cm)	Volumen de raíz (cL)	Número de raíces secundarias	Longitud de raíces secundarias (cm)	Relación raíz/parte aérea
0	33.204 a <sup>z</sup>	24.179 b	2.60 a	4.05 a	1.16 a
1	33.875 a	30.458 a	4.03 a	3.06 b	1.15 a
2	31.638 a	23.996 b	2.33 a	4.49 a	1.35 a
3	33.242 a	25.176 ab	2.93 a	3.06 b	1.16 a
C.V. <sup>x</sup>	27.59	28.42	97.82	47.26	37.1382
DMS <sup>y</sup>	6.887	5.579	1.96	1.17	

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$

Cuadro 5 A. Materia fresca y seca (g) y contenido de agua (%) en hoja, tallo, y raíz en plantas con cuatro grados de malformación de raíz en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Cazones Ver. 2008.

Raíz <sup>w</sup>	Materia fresca (g)			Materia seca (g)			Contenido de agua %		
	Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz	Hoja	Tallo	Raíz
0	11.4 a <sup>z</sup>	23.7 a	20.3 ab	2.8 a	10.3 a	7.9 a	77 a	56 a	59 a
1	10.2 a	20.5 a	20.5 ab	2.7 a	10.5 a	7.7 a	77 a	52 a	62 a
2	11.4 a	19.2 a	19.2 b	2.7 a	9.9 a	7.7 a	77 a	56 a	60 a
3	13.5 a	26.5 a	23.1 a	2.3 a	12.2 a	8.8 a	75 a	54 a	61 a
C.V. <sup>x</sup>	61.29	38.67	22.49	56.94	40.18	22.70	10.21	15.94	12.2
DMS <sup>y</sup>	5.41	6.97	3.53	1.12	3.27	1.38	12.99	2.91	6.89

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>Raíz 0 = recta; 1 = sinuosa; 2 = con dos ángulos  $\leq 90^\circ$ ; 3 = con tres ángulos  $\geq 90^\circ$

Cuadro 6 A. Análisis de varianza en parcelas divididas para las variables: contenido y extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por las hojas y el tallo de plantas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz.

VARIABLE DEPENDIENTE	C.V.	$P \geq F$		
		Pi	Malformación	Pi*Malformación
Contenido en hojas de N	8.45	0.0190	0.2695	0.1796
Contenido en hojas de P	35.86	0.1801	0.4279	0.9913
Contenido en hojas de K	22.24	0.0107	0.7688	0.7670
Contenido en hojas de Ca	39.43	0.2842	0.7728	0.3827
Contenido en hojas de Mg	33.45	0.0343	0.3145	0.9780
Contenido en hojas de Zn	24.10	0.6095	0.7008	0.8976
Contenido en tallo de N	13.14	<0.0001	0.5170	0.6418
Contenido en tallo de P	17.95	0.0080	0.3428	0.4465
Contenido en tallo de K	21.23	0.2045	0.1958	0.4809
Contenido en tallo de Ca	12.96	<0.0001	0.5076	0.2000
Contenido en tallo de Mg	22.86	0.0028	0.7407	0.9931
Contenido en tallo de Zn	29.68	0.0381	0.7626	0.1250
Extracción por hojas de N	50.18	0.0032	0.9259	0.4796
Extracción por hojas de P	66.64	0.0267	0.4591	0.4112
Extracción por hojas de K	55.79	0.0156	0.6228	0.3243
Extracción por hojas de Ca	61.72	0.0286	0.6551	0.2290
Extracción por hojas de Mg	56.46	0.0334	0.4099	0.3575
Extracción por hojas de Zn	24.10	0.6095	0.7008	0.8976
Extracción por tallo de N	26.35	0.1126	0.3802	0.4447
Extracción por tallo de P	32.10	0.5444	0.9245	0.3693
Extracción por tallo de K	38.06	0.5063	0.9679	0.6279
Extracción por tallo de Ca	33.98	0.6439	0.4889	0.5264
Extracción por tallo de Mg	39.03	0.3252	0.9831	0.4489
Extracción por tallo de Zn	29.68	0.0381	0.7626	0.1250

Cuadro 7 A. Nivel de suficiencia de N, P, K, Ca, Mg y Zn en hojas maduras de diversos cítricos (Mills y Benton, 1996).

Especie	Nivel de suficiencia					
	N (g Kg <sup>-1</sup> )	P (g Kg <sup>-1</sup> )	K (g Kg <sup>-1</sup> )	Ca (g Kg <sup>-1</sup> )	Mg (g Kg <sup>-1</sup> )	Zn (mg kg <sup>-1</sup> )
Lima 'Persa' <sup>z</sup>	2.4-3.0	1.50- 5.00	1.6-2.5	1.5-5.0	2.50-10.0	20-100
Limón <sup>y</sup>	2.2-2.7	0.10-0.30	1.0-2.0	1.5-4.0	0.20-0.50	20- 75
Mandarino 'satsuma' <sup>x</sup>	3.0-3.4	0.15- 0.25	0.9-1.1	ND	0.17-0.44	5- 30
Pomelo <sup>w</sup>	2.4-3.0	0.15-0.50	0.8-2.2	1.5-5.5	0.25-0.75	25-100
Naranja 'valencia' <sup>v</sup>	2.2-3.5	0.12-0.50	1.2-3.0	1.1-4.0	0.3-0.5	25-150

<sup>z</sup>*C. aurantifolia* hojas de brotes vegetativos en verano

<sup>y</sup>*C. limón* hojas maduras de ramas sin frutos en el ciclo de crecimiento

<sup>x</sup>*C. reticulata* hojas maduras de brotes vegetativos en el ciclo de crecimiento

<sup>w</sup>*C. paradisi* hojas maduras de nuevo crecimiento sin frutos

<sup>v</sup>*C. sinensis* ramas con frutos

<sup>u</sup>ND no disponible

Cuadro 8 A. Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por el tallo de plantas de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Cazonas, Ver. 2009.

Tratamientos Pi/Raíz <sup>w</sup>	Extracción					
	N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	Zn (mg)
Volkameriano 0	0.134 a <sup>z</sup>	0.095 a	0.439 a	0.455 a	0.059 a	94.59 a
Volkameriano 3	0.134 a	0.077 a	0.353 a	0.408 a	0.053 a	79.00 a
Swingle 0	0.155 a	0.106 a	0.528 a	0.448 a	0.073 a	58.17 a
Swingle 3	0.154 a	0.098 a	0.500 a	0.492 a	0.059 a	85.90 a
Carrizo 0	0.086 a	0.070 a	0.392 a	0.314 a	0.037 a	62.15 a
Carrizo 3	0.131 a	0.100 a	0.497 a	0.464 a	0.055 a	40.91 a
C.V. <sup>x</sup>	26.357	32.099	38.060	33.987	39.030	29.686
DMS <sup>y</sup>	0.096	0.080	0.471	0.401	0.060	57.087

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Coficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 9 A. Contenido de N, P, K, Ca, Mg y Zn en tallo de plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>w</sup>	N (%)	P (%)	K (%)	Ca (%)	Mg (%)	Zn (ppm)
0	1.203 a	0.83 a	4.19 a	3.85 a	0.50 a	71.64 a
3	1.155 a	0.77 a	3.65 a	3.69 a	0.48 a	68.60 a
C.V. <sup>x</sup>	13.144	17.953	21.324	12.962	22.866	29.686
DMS <sup>y</sup>	1.59	1476	8578	5023	1159	21.38

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa <sup>w</sup> 0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 10 A. Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por las hojas de plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>w</sup>	Extracción					
	N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	Zn (mg)
0	0.078 a <sup>z</sup>	0.034 a	0.203 a	0.200 a	0.027 a	93.82 a
3	0.080 a	0.026 a	0.178 a	0.175 a	0.022 a	98.11 a
CV	50.182	66.64	55.679	61.72	56.46	24.10
DMS	0.041	0.021	0.109	0.119	0.014	23.75

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup> 0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 11 A. Extracción de N, P, K, Ca, Mg y Zn por el tallo de plantas con dos grados de malformación de raíz de tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>w</sup>	Extracción					
	N (g)	P (g)	K (g)	Ca (g)	Mg (g)	Zn (mg)
0	0.125 a <sup>z</sup>	0.090 a	0.453 a	0.406 a	0.056 a	71.636 a
3	0.140 a	0.092 a	0.450 a	0.455 a	0.056 a	68.603 a
C.V. <sup>x</sup>	26.357	32.012	38.060	33.987	39.030	29.686
DMS <sup>y</sup>	0.036	0.030	0.176	0.150	0.022	21.38

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey,  $P \leq 0.05$ )

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup> 0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 12 A. Análisis de varianza en diseño anidado para las variables densidad estomática y longitud de estomas en plantas de tres portainjertos y dos grados de malformación de raíz.

VARIABLE DEPENDIENTE	C.V.	P ≥ F		
		Pi	Malformación	Pi*Malformación
Densidad estomática	16.04	<0.0001	0.4264	0.9063
Longitud de estomas	5.14	<0.0001	0.0370	0.0290

Cuadro 13 A. Densidad estomática (número de estomas mm<sup>2</sup>) y longitud de estomas (µm) en plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>w</sup>	Densidad (No. Estomas mm <sup>2</sup> )	Longitud (µm)
0	33.47 a <sup>z</sup>	6.869 a
3	32.85 a	6.770 a
C.V. <sup>x</sup>	16.0379	5.1238
DMS <sup>y</sup>	1.5671	0.103

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 14 A. Densidad estomática (número de estomas mm<sup>2</sup>) y longitud de estomas (µm) en plantas de tres portainjertos con dos grados de malformación de raíz, diez meses después del trasplante. Montecillo, 2009.

Tratamientos Pi/Raíz <sup>w</sup>	Densidad (No. estomas mm <sup>2</sup> )	Longitud (µm)
Volkameriano 0	29.00 b <sup>z</sup>	7.13 a
Volkameriano 3	28.04 b	7.22 a
Swingle 0	34.34 a	6.32 b
Swingle 3	33.60 a	7.01 b
Carrizo 0	37.08 a	6.32 b
Carrizo 3	36.93 a	6.08 b
C.V. <sup>x</sup>	15.64	5.07
DMS <sup>y</sup>	3.86	0.26

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 15 A. Análisis de varianza en diseño parcelas divididas para las variables: densidad, área del lumen, perímetro, diámetro longitudinal y transversal de vasos en plantas de tres portainjertos y dos grados de malformación de raíz.

VARIABLE DEPENDIENTE	C.V.	P ≥ F		
		Pi	Malformación	Pi*Malformación
Densidad de vasos	10.52	<0.0001	0.1949	0.0176
Área del lumen	20.55	<0.0001	0.1801	0.0313
Perímetro de vasos	9.51	<0.0001	0.0156	0.3553
Diámetro transversal de vaso	9.69	<0.0001	0.1813	0.0279
Diámetro longitudinal de vaso	10.52	<0.0001	0.1949	0.0176
Corteza	19.08	0.0189	0.0091	0.1932
Grosor del floema	9.92	0.0115	0.1331	0.0283
Área del xilema	51.71	0.1782	0.6449	0.1307

Cuadro 16 A. Densidad de vasos (mm<sup>2</sup>), área del lumen (µm<sup>2</sup>), perímetro de vaso (µm), diámetro longitudinal (µm), diámetro transversal (µm), en plantas con dos grados de malformación de raíz, diez meses después de trasplante. Montecillo, 2009.

Raíz <sup>x</sup>	Densidad de vasos (mm <sup>2</sup> )	Área del lumen (µm <sup>2</sup> )	Perímetro (µm)	Diámetro longitudinal (µm)	Diámetro transversal (µm)
0	138.34 a <sup>z</sup>	497.54 a	78.87 b	26.70 a	20.25 a
3	144.92 a	452.86 a	85.88 a	25.54 a	20.21 a
C.V.	10.52	20.54	9.51	9.70	10.52
DMS	10.15	66.48	5.32	1.73	1.48

<sup>z</sup>Letras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, P ≤ 0.05)

<sup>x</sup>Coefficiente de variación; <sup>y</sup>Diferencia mínima significativa

<sup>w</sup>0 = raíz recta; 3 = raíz con dos curvaturas

Cuadro 17 A. Análisis de varianza en diseño parcelas divididas para las variables: grosor de la corteza externa (µm), grosor del floema (µm) y área del xilema (mm) de tres portainjertos de cítricos con dos grados de malformación en raíz.

	C.V.	P ≥ F		
		Pi	Malformación	Pi*Malformación
Grosor de la corteza	19.08	0.0189	0.0091	0.1932
Grosor del floema	9.92	0.0115	0.1331	0.0283
Área del xilema	51.71	0.1782	0.6449	0.1307
Área conductora total				