

23 MAR. 1990

Universidad de la República  
FACULTAD DE AGRONOMIA



FACULTAD DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE DOCUMENTACION Y BIBLIOTECA

**ESTUDIO ANATOMICO PARA EL  
DIAGNOSTICO TEMPRANO DE  
LA INCOMPATIBILIDAD  
EN CITRUS**

LUIS BISIO - BEATRIZ VIGNALE  
DARIO SARACHO - GONZALO ZILIANI

**BOLETIN DE INVESTIGACION N° 21**

**MONTEVIDEO**

1989

**URUGUAY**

## ESTUDIO ANATOMICO PARA EL DIAGNOSTICO TEMPRANO DE LA INCOMPATIBILIDAD EN CITRUS<sup>1</sup>

Ing. Agr. Luis Bisio<sup>2</sup>, Ing. Agr. Beatriz Vignale<sup>3</sup>,  
Ing. Agr. Darío Saracho<sup>4</sup>, Ing. Agr. Gonzalo Ziliani<sup>5</sup>

### SUMMARY

Histological sections were made of the compatible combination Lisbon lemon/trifolia and in the incompatible combination Eureka lemon/trifolia, 45 and 60 days after grafting, seeking for parameters which could determine incompatibilities at an early stage. These parameters were callus thickness and cambium continuity. Differences were found only in the slides 45 days after grafting. It is concluded that anatomical incompatibilities can be determined at early stages in citrus grafts.

Key words: Citrus; Incompatibility-Anatomical study; Grafts in Citrus.

### RESUMEN

Se realizaron cortes histológicos en la combinación compatible limón Lisbon/trifolia y la incompatible limón Eureka/trifolia, a los 45 y 60 días de injertados, buscando parámetros que determinaran precozmente la incompatibilidad. Estos parámetros son espesor del callus y continuidad cambial. Se encontraron diferencias únicamente en los cortes realizados a 45 días en estas combinaciones estudiadas. Se concluye que se puede determinar incompatibilidad anatómica en etapas muy tempranas de los injertos en citrus.

Palabras claves: Citrus; Incompatibilidad-Estudio anatómico; Injerto en Citrus.

---

Recibido el 3 de noviembre, 1988

Aceptado el 13 de marzo, 1989

(1) Trabajo programado y realizado en la Sección Citricultura de la Estación Experimental de Facultad de Agronomía en Salto, durante el año 1986. Los cortes anatómicos del material obtenido fue realizado en el laboratorio de la Cátedra de Botánica de la Facultad. Se agradece la colaboración del Téc. Agr. Telismar de los Santos y del personal de la Sección Citricultura, quienes hicieron posible la ejecución de este trabajo.

(2) Cátedra de Fruticultura.

(3) Cátedra de Fruticultura

(4) Ingeniero Agrónomo

(5) Cátedra de Botánica

## INTRODUCCION

La incompatibilidad en árboles frutales es un fenómeno que ha sido descrito y estudiado desde hace muchos años. La manifestación de los síntomas externos de esta incompatibilidad pueden aparecer después de varios años de aparente crecimiento normal de las plantas (Herrero, 1951; Schneider, 1960; Mosse, 1962). Sin embargo, se han constatado anomalías en la estructura anatómica a nivel del injerto en combinaciones incompatibles a temprana edad (Schneider, 1960; Brossier, 1968; Bevington, 1976; Deloire, 1982; Deloire y Bernard, 1983). Estos síntomas permitirían realizar un diagnóstico temprano de la incompatibilidad, posibilitando no mantener combinaciones incompatibles a nivel comercial y reducir el costo y el tiempo en la obtención de nuevas combinaciones.

En el presente trabajo se realiza el estudio anatómico de combinaciones compatibles e incompatibles de limón/trifolia a nivel microscópico, buscando parámetros que permitan determinar tempranamente síntomas de incompatibilidad.

## MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron plantines de trifolia (*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.) origen INC III- 1 provenientes de semillas injertadas con limón (*Citrus limón* (L.) Burm. F.) Las combinaciones utilizadas fueron: una compatible, limón Lisbón/trifolia (Bevington, 1978; Schneider, 1984) y una incompatible limón Eureka/trifolia (Weathers *et al.*, 1955; Naunyal *et al.*, 1958; Schneider, 1960; Bevington *et al.*, 1978). El material utilizado de trifolia y de limón Eureka fue extraído de plantas madres testadas y el limón Lisbón era de origen nuclear. Los plantines fueron injertados en otoño a yema dormida y se realizaron dos muestreos: a los 45 y 60 días de injertados. Se cortaron dos plantines de cada combinación a los 45 días y tres a los 60 días. Las muestras se fijaron en una solución de formol-ácido acético-alcohol (F.A.A.) (Sass, 1958).

Se efectuaron series de cortes transversales a lo largo de la zona de injerto, por encima, a nivel y por debajo de la yema de la variedad. El espesor de los cortes fue de  $45 \pm 5$  micras. La coloración fue realizada con Safranina-Fast green (Sass, 1958) con la siguiente modificación: 1 min en hipoclorito de sodio, 2 min en safranina, 2 lavados en agua destilada, 5 min en alcohol 50°, 5 min en alcohol 96°, 2 pasajes de 5 min en alcohol 100°, 4 seg en Fast green y 5 min en Xilol.

Las combinaciones de limón Eureka/trifolia que no fueron muestreadas después de dos años y medio de crecimiento en vivero declinaron y murieron.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Estudio de las combinaciones a los 45 días de injertadas

El estudio de los cortes histológicos se presenta a continuación, a través del análisis del callus y de la continuidad cambial:

#### Análisis del callus.

En la combinación limón Lisbón/trifolia se observa la formación de abundante callus bajo la yema, cuyas células tienen tamaño y forma similar, dándole un aspecto ordenado (fig. No.1)

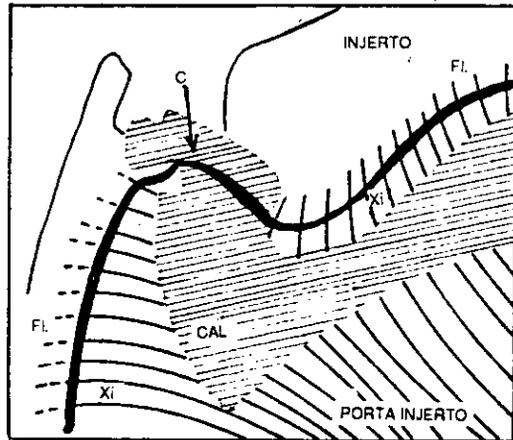


FIGURA N°1 Corte transversal de la combinación limón Lisbón/trifolia a los 45 días de injertado.

En cambio como se observa en la figura No.2 en la combinación limón Eureka/trifolia la formación del callus es casi nula. Resultados similares ya habían sido obtenidos por Brossier (1968) en trabajos realizados en combinaciones entre pera/membrillo y por Deloire (1982) en vid. La medición del espesor del callus de las dos combinaciones en estudio se muestra en el Cuadro No.1

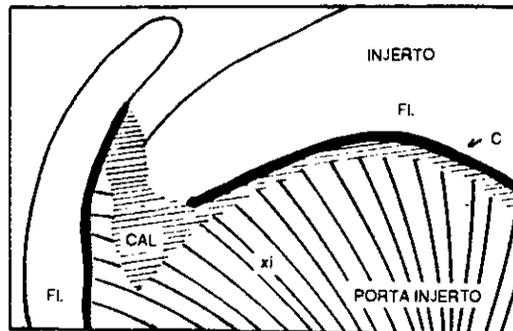


FIGURA N°2 Corte transversal de la combinación limón Eureka/trifolia a los 45 días de injertado.

En todos los cortes de ambas combinaciones se observa una línea de células necróticas, debida a la herida producida en el tejido en el momento de injertar. Esta línea en el caso de limón Lisbón/trifolia está ubicada cerca del xilema del portainjerto por lo cual es posible que la mayor cantidad de callus formado provenga de los tejidos de la yema. (Figura No.3)

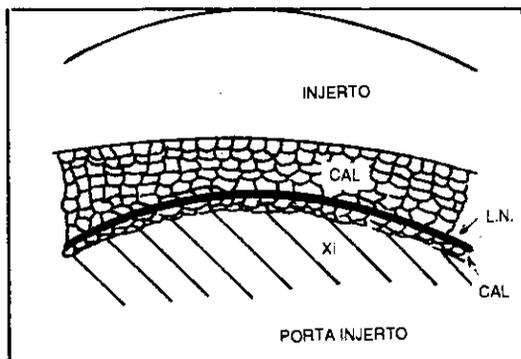


FIGURA N°3 Callus formado a los 45 días en la combinación limón Lisbón/trifolia.

.. En el caso de limón Eureka/trifolia las pocas células de callus formadas se hallan contra el xilema del portainjerto, lo que haría suponer que dichas células provendrían del portainjerto (Figura No.4)

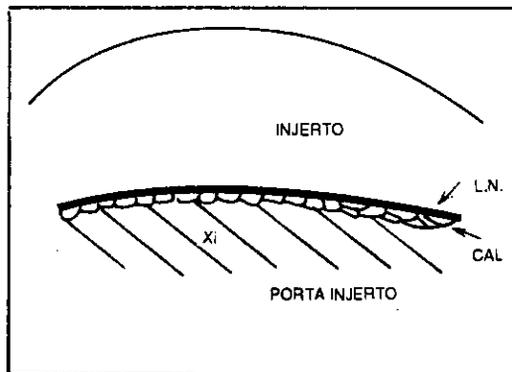


FIGURA N°4 Callus formado a los 45 días en la combinación limón Eureka/trifolia.

### Análisis de la continuidad cambial

Como se muestra en la figura No.1, en la combinación limón Lisbón/trifolia se observa continuidad cambial. Esta observación coincide con la descripción de la evolución de un injerto realizada por Mendel (1936), en la cual afirma que ya a los 20 días de realizado el injerto la continuidad cambial es completa. En el caso de limón Eureka/trifolia, como se muestra en la Figura No.2, no se observa dicha continuidad. Deloirc en 1982, trabajando en vid, encontró similares resultados.

En el cuadro No.1 se resumen los parámetros descriptos anteriormente.

**CUADRO N°1**  
**Media del espesor del callus (micras) debajo de la yema y continuidad cambial a los 45 días del injerto.**

COMBINACIONES	MEDIA DEL ESPESOR DEL CALLUS (micras)	CONTINUIDAD CAMBIAL
limón Lisbón/ trifolia	225,43	SI
limón Eureka/ trifolia	82,07	NO

Estos resultados muestran que a los 45 días las combinaciones compatibles e incompatibles estudiadas presentan un comportamiento diferente, a través del cual sería posible detectar tempranamente, mediante esta técnica, problemas de incompatibilidad.

#### **Estudio de las combinaciones a los 60 días de injertadas**

En la combinación limón Lisbón/trifolia se observa un normal desarrollo del injerto, mostrando formación del tejido xilemático nuevo producido por una mayor actividad cambial y por diferenciación de células del callus.

En la combinación limón Eureka/trifolia también se puede observar continuidad cambial, no constatada a los 45 días, presentando el proceso de unión del injerto un enlentecimiento marcado con respecto a la combinación compatible, manifestada por la poca formación de xilema. No obstante, se observa que el callus se ha seguido desarrollando, presentándose muy ordenado. Brossier (1968) también observó que las combinaciones incompatibles muestran un enlentecimiento relativo en el proceso de unión con respecto a las combinaciones compatibles.

Las observaciones a los 60 días, aunque muestran una diferente evolución del proceso de unión de las dos combinaciones estudiadas, no permitirían definir parámetros concluyentes para detectar incompatibilidad.

## CONCLUSIONES

De los resultados expuestos anteriormente se puede concluir que:

1. Las combinaciones incompatibles presentan una evolución más lenta del proceso de unión a nivel del injerto.
2. Sería posible detectar incompatibilidad a los 45 días de realizado el injerto, basándose en la diferencia del espesor de la capa del callus y en la continuidad cambial;
3. No sería posible diferenciar claramente combinaciones compatibles de incompatibles a los 60 días de realizado el injerto.

Un estudio en edad temprana del injerto y portainjerto a través de técnicas como el microinjerto y fusión de protoplastos conducirían a resultados más precisos y en menor tiempo.

## BIBLIOGRAFIA

1. BEVINGTON, K.B. 1976. Development of union abnormalities in grafts between Lemon (*Citrus limon*) and *Poncirus trifoliata*. *Australian Journal of Agricultural Research* 27(5): 661-668.
2. ----- GREENHALGH, W. J. and Mc. WHIRTER, K.S. 1978. Forecasting rootstockscion incompatibility citrus. *Proceedings of the International Society of Citriculture* 1978: 121-123.
3. BROSSIER, J. 1968. Prévision et expressions de l' incompatibilité dans le cas d' association diverses. *In Seminars d' Horticulture Scientifique, Gembloux 1968. Table ronde sur les problèmes d' incompatibilité lors du greffage de plants ligneux. Gembloux, 1968. pp.25-35.*
4. DELOIRE, A. 1982. Contribution à L' étude de la greffe végétale; histophysiologie des greffes compatibles et incompatibles de plantes cultivées dans la région méditerranéenne (arbres fruitier, vigne). Thèse Dr. Sc. Nat. Montpellier, Université des Sciences et Techniques du Languedoc. 37 p.
5. ----- et BERNARD, A.C. 1983. Etude histogénétique du greffage ligneux et de combinaisons compatibles et incompatibles du genre *Vitis*. *Le Progres Agricole et Viticole* 100 (1): 29-32.
6. HERRERO, J. 1951. Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees. *Journal of Horticultural Science* 26: 186-237.
7. MENDEL, K. 1936. The anatomy and histology of the bud-union in citrus. *Palestinian Journal of Botanical Horticulture Science* 1 (2): 13-46.
8. MOSSE, B. 1962. Graft-incompatibility in fruit trees, with particular reference to its underlying causes. *In Common Bureau of Horticultural and Plant Crops, East Malling, Kent. Technical Communication No. 28. pp. 1-36*
9. SASS, J.E. 1958. *Botanical microtechnique*. Ames, Iowa State University Press.
10. SCHNEIDER, H. 1960. Bud-union trouble in *Macrophylla* rootstocks of Frost Nucellar Eureka. *California Citrograph* 46 (1):2, 33.
11. ----- and SAKOVICH, N. J. 1984. Compatible rootstocks for lemon trees. *Citrograph* 70 (1):17-18
12. WEATHERS, L.G. *et al.* 1955. A bud-union and rootstock disorder of troyer citrange with Eureka lemon tops. *Plant Disease Reporter* 39: 665-669.

