

ESTOMAS Y VIGOR DE NARANJO ‘VALENCIA’ INJERTADO EN PORTAINJERTOS TOLERANTES AL VIRUS DE LA TRISTEZA DE LOS CÍTRICOS

STOMATA AND VIGOR OF ‘VALENCIA’ ORANGE SCIONS GRAFTED ON ROOTSTOCKS TOLERANT TO THE CITRUS TRISTEZA VIRUS

Beatriz G. Arrieta-Ramos¹, Ángel Villegas-Monter^{1*}, Arcadio Hernández-Bautista², Ma. de las Nieves Rodríguez-Mendoza³, Lucero del Mar Ruiz-Posadas⁴ y Eduardo García-Villanueva¹

¹Posgrado de Recursos Genéticos y Productividad-Fruticultura. Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Km 36.5 Carr. México-Texcoco. 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México. ²Sanidad Vegetal, Cholula Pue. Prol. Miguel Hidalgo No 2107 Col. Sn. Cristóbal Tepontlán. 72760, San Pedro Cholula, Pue. Posgrado en ³Edafología y ⁴Botánica, Colegio de Posgraduados, Campus Montecillo. Km 36.5 Carr. México-Texcoco, 56230, Montecillo, Texcoco, Estado de México.

* Autor para correspondencia (avillega@colpos.mx)

RESUMEN

El principal problema al que se enfrentan los citricultores son las enfermedades que afectan a los árboles, motivo por el cual se ha generalizado la utilización de portainjertos, el ataque de patógenos disminuye el rendimiento y se presenta el reto de encontrar la mejor interacción injerto/portainjerto con la finalidad de optimizar el desarrollo del árbol. Con la medición de variables del desarrollo es posible evaluar el efecto de la interacción. En el presente trabajo se evaluó la interacción injerto/portainjerto en función de la altura de la planta y diámetro del dosel en árboles de naranjo ‘Valencia’ (*Citrus sinensis* L.) injertados en tres portainjertos tolerantes a VTC: limón ‘Volkameriano’ (*Citrus volkameriana* Ten. y Pasq.), y mandarinos ‘Cleopatra’ (*C. reshni* Hort. Ex Tan) y ‘Amblicarpa’ (*C. amblycarpa* Ochs) de cuatro a nueve años. Se hicieron mediciones anuales por un periodo de cinco años, en el último año también se evaluó la densidad y tamaño de estomas y de la hoja. Las plantas injertadas en ‘Volkameriano’ y ‘Amblicarpa’ presentaron altura de la planta y diámetro del dosel similares (3.3 m vs. 3.4 m y 3.2 m vs. 3.5 m, respectivamente). En ‘Cleopatra’ las variables presentaron valores menores (2.9 m y 2.7 m). No se encontraron diferencias en la densidad y largo de estomas en las hojas de naranjo ‘Valencia’, pero sí en el ancho de estomas. La forma (relación largo/ancho) en los estomas se modificó en las plantas, en ‘Volkameriano’ fueron más redondos (1.14) y en ‘Amblicarpa’ más elípticos (1.23). No existió correlación entre las variables vegetativas con la densidad y tamaño de estomas.

Palabras clave: *Citrus* spp., portainjertos, naranjo ‘Valencia’, densidad estomática.

SUMMARY

The main problem that citrus growers face is diseases that affect trees. For this reason the use of rootstocks has spread, and the challenge is to obtain the best scion/rootstock interaction. The present work evaluated the scion/rootstock interaction in function of tree height and canopy diameter of ‘Valencia’ orange (*Citrus sinensis* L.) grafted onto three tolerant VTC rootstocks: ‘Volkamerian’ le-

mon (*Citrus volkameriana* Ten. and Pasq.), and the tangerins ‘Cleopatra’ (*C. reshni* Hort. Ex Tan) and ‘Amblicarpa’ (*C. amblycarpa* Ochs), from 4 to 9 years old trees. The measurements were done for a period of five years, and during the last year stomatal density and size, and leaf area were evaluated. The plants grafted on ‘Volkamerian’ and ‘Amblicarpa’ had similar plant height and canopy diameter (3.3 m vs. 3.4 m and 3.2 m vs. 3.5 m, respectively). The plants on ‘Cleopatra’ presented the lowest values (2.9 y 2.7 m). There was no difference in stomatal density and length of ‘Valencia’ orange although stomatal width differed. Stomata shape (length/width relationship) was modified; in plants grafted on ‘Volkamerian’ he was rounder (1.14), and on ‘Amblicarpa’ it was more elliptical (1.23). There were no correlations between vegetative variables and stomatal density and size.

Index words: *Citrus* spp., rootstocks, orange ‘Valencia’, stomatal density.

INTRODUCCIÓN

Los cítricos, frutales importantes para México, produjeron en 2008 casi 7.3 millones de toneladas en un área de 681 300 ha (SIACON, 2008). Las principales especies cultivadas fueron: naranjo (*Citrus sinensis* L.), limón mexicano [*C. aurantifolia* Swingle (Cristm)], lima persa (*C. latifolia* Tan.), mandarina (*C. reticulata* Blanco), pomelo (*C. paradisi* Macf.), limón italiano (*C. limon* (L.) Burm.), lima (*C. limettoides* Tan.), de las cuales la más importante es el naranjo, que ocupa el 50.6 % de la superficie cultivada.

Las enfermedades que atacan a los cítricos, son diversas, una de las más importantes, es la tristeza de los cítricos (VTC) ocasionada por un virus de la familia *closterovirus*. Para hacer frente a esta enfermedad en Brasil, Venezuela, España, Estados Unidos e Israel se han

utilizado portainjertos tolerantes, reportando resultados diferentes, dependiendo del país (Ghorbel *et al.*, 2000; Levy y Lifshitz, 2000; Forner-Giner *et al.*, 2003; Castle *et al.*, 2004; Girardi *et al.*, 2007; Russián, 2007). Las plantas utilizadas para la producción al injertarse establecen una interacción cultivar y portainjerto que modifica el vigor, rendimiento, calidad del fruto, entre otras (Pérez-Zamora *et al.*, 2003b; Forner-Giner *et al.*, 2003; Pérez-Zamora, 2004).

Pompeu y Aparecido (2002) demostraron que el vigor de las plantas depende de la combinación cultivar-portainjerto. Así, al injertar naranjo 'Hamlin' en los portainjertos, citrangeros ('Morton', 'Carrizo' y 'Troyer'), y dos cruces de lima ['Rangpur' (*C. limonia* Osbeck) x citrumelo 'Swingle'], encontraron que con las cruces de lima 'Rangpur' x 'Swingle' las plantas a los 12 años mostraban mayor altura (> de 3.4 m) y mayor diámetro de copa (> de 3.8 m) que en los citrangeros 'Troyer' y 'Carrizo' que presentaban menos de 2.6 m de altura y 2.7 m de diámetro de copa; el citrange 'Morton' indujo vigor intermedio (3.2 m de altura y 3.3 m de diámetro de copa). Wutscher y Bowman (1999) injertaron naranjo 'Valencia' en 21 portainjertos entre los que se encontraban citrumelo 'Swingle', citrange 'Carrizo', mandarina 'Sunki' y naranjo 'Agrio' No.2; a los 7 años 'Sunki' y 'Carrizo' presentaron mayor altura, 3.6 y 3.5 m, en 'Swingle' fue de 3.2 m y en naranjo 'Agrio' No.2, sólo 1.8 m. El área de la sección transversal del tallo fue de 138.3 cm² en 'Sunki', casi la mitad en 'Swingle' con 81.3 cm² y 4.5 veces más que en naranjo 'Agrio' No.2, que presentó 30.4 cm². A pesar de que el vigor de 'Sunki' fue mayor, el rendimiento acumulado en 'Swingle' fue más alto (239.7 vs. 217.8 kg por árbol), el naranjo agrio acumuló únicamente 52.2 kg por árbol.

Varios autores han tratado de explicar las diferencias en el vigor a partir de la fisiología del portainjerto utilizado, Atkinson *et al.* (2001) lo relacionan con aspectos anatómicos, como la unión del portainjerto con el injerto, Pérez-Zamora (2004), con la capacidad de absorción de los nutrimentos y Lliso *et al.* (2004) con la partición de carbohidratos.

Desde hace tiempo, se ha relacionado el vigor inducido por los portainjertos con cambios provocados en la densidad estomática de la variedad. Pathak *et al.* (1976) concluyeron que el número de estomas por unidad de área foliar en el cultivar es mayor en los portainjertos que inducen vigor y menor en los enanizantes. Esto puede explicarse porque la conductancia estomática es proporcional al radio del área del poro y la profundidad (Brown y Escombe, 1900), por lo tanto, al aumentar el área de poro estomatal/profundidad por unidad de área foliar, se

incrementa la conductancia estomática y el intercambio de gases que permite mayor tasa fotosintética y desarrollo del cultivo (Franks y Farquhar, 2007).

La frecuencia estomática se determina genéticamente. La heterosis y el nivel de ploidía en cítricos tienden a disminuir la frecuencia estomática e incrementar el tamaño de estomas (Costa *et al.*, 2004). Según Costa *et al.* (2003), en cítricos poliploides los estomas son más grandes y menos frecuentes que en los progenitores, y presentan correlación negativa entre el número y el tamaño de estomas.

Parés-Martínez *et al.* (2004) encontraron que el portainjerto puede afectar el número de estomas en la hoja de anonáceas. Así, *Annona muricata* L., sin injertar presenta 132.3 estomas por mm², al ser injertada en *A. muricata* y *A. montana* disminuye la densidad estomática a 111.5 y 110.9 estomas por mm², respectivamente; no obstante, el índice estomático (porcentaje de células estomáticas con relación al número de células epidérmicas totales) no se modificó ($P \leq 0.05$) en *A. muricata* (15.7) y sí disminuyó cuando se injertó en *A. montana* (13.7). El efecto del portainjerto en el número de estomas, también fue señalado por Cañizares *et al.* (2003) en lima 'Tahiti' (*C. latifolia* Tan.) ya que registraron mayor número de estomas en citrumelo 'Swingle', mandarino 'Cleopatra' y citrange 'Carrizo' (385, 375 y 340.4 por mm², respectivamente), mientras que con lima 'Rangpur', limón 'Volkameriano' y citrange 'Troyer' (316.9, 204.0 y 172.9 estomas en un área de 4.347 mm², respectivamente).

El objetivo general de esta investigación fue caracterizar agronómicamente el comportamiento vegetativo y densidad estomática de naranjo 'Valencia' injertado en tres portainjertos. Y los objetivos específicos fueron: a) Determinar la altura del árbol y diámetro de copa de naranjo 'Valencia' injertado en tres portainjertos, durante cinco años de desarrollo. b) Determinar la cantidad y dimensiones de los estomas en naranjo 'Valencia' injertado en tres portainjertos. c) Determinar la relación existente entre la densidad, tamaño y forma de estomas con la altura y el diámetro de copa de naranjo 'Valencia' injertado en tres portainjertos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en Cazonas, Veracruz en una huerta comercial de naranjo 'Valencia' injertada en tres portainjertos: limón 'Volkameriano' (*C. volkameriana* Ten. y Pasq.), mandarinos 'Cleopatra' (*C. reshni* Hort. Ex Tan) y 'Amblicarpa' (*C. amblycarpa* Ochse) distribuidos en un sistema de plantación en tres bolillo, a 6 x 6 m. La edad de los árboles era de 4 a 9 años.

Descripción del material vegetal

Los tres portainjertos son tolerantes al VTC. Limón ‘Volkameriano’: En campo propicia crecimiento rápido y desarrolla sistema radical extenso, (Saunt, 1990), es susceptible a blight (Young *et al.*, 1980) y menos susceptible que lima ‘Rangpur’ a muerte súbita de los cítricos (Roman *et al.*, 2004). Tolerante a sales y crece favorablemente en suelos calcáreos (Saunt, 1990). Mandarino ‘Amblicarpa’: Desarrolla más lentamente en vivero que ‘Volkameriano’ y naranjo ‘Agrio’ (Jiménez *et al.*, 1989), es considerado como intermedio en susceptibilidad a blight (Agostini y Haberde, 2000), se desarrolla en suelos calcáreos (Pérez - Zamora *et al.*, 2003a). Mandarino ‘Cleopatra’: desarrolla e inicia la producción de manera más lenta que ‘Volkameriano’ (Montilla y Gallardo, 1994), es menos susceptible a blight que ‘Rangpur’ (Hopkins, 1982), resistente a la muerte súbita (Roman *et al.*, 2004), y tolerante a sales (Levy y Lifshitz, 2000).

La evaluación se llevo a cabo en dos fases: en la primera se evaluó el desarrollo vegetativo de los árboles durante cinco años, y en la segunda se cuantificó el número y tamaño de estomas y se relacionó con el vigor de los árboles en el octavo año de establecimiento.

Tratamientos

Los tratamientos correspondieron a tres portainjertos tolerantes a VTC injertados con naranjo ‘Valencia’.

Variables vegetativas

Se evaluaron en el mes de noviembre en todos los años y fueron: a) **altura de la planta**, desde el establecimiento de los árboles en 2002 hasta 2008. Se midió con una regla, desde la superficie del suelo hasta la punta de la copa. A este valor se le restó la altura de la medición inicial para conocer el crecimiento por año; b) **el diámetro de la copa**, se midió por medio de la proyección de la copa sobre una regla colocada en dirección N-S y E-O; c) **los diámetros del tronco del portainjerto e injerto**, se midieron con un vernier digital (Truper® CALDI-6MP, México), el del portainjerto en la parte media del tronco y el injerto 5 cm arriba del punto de unión. Estas variables (altura de la planta, diámetro de la copa y diámetros del tronco del portainjerto e injerto) se midieron en los años de 2003 a 2007.

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones, considerando seis árboles por repetición.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos de la evaluación fueron analizados mediante el paquete estadístico SAS® 9.2 (SAS Institute, 2009), con el procedimiento ANOVA. Las medias observadas fueron comparadas por la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Variables anatómicas

El muestreo de hojas se realizó en julio de 2007, seleccionando 54 hojas completamente maduras y expandidas ubicadas al lado Este y Oeste del árbol y a la parte media de la copa. El total corresponde a seis hojas por árbol, de tres árboles injertados en cada uno de los portainjertos. Las hojas se etiquetaron al momento de ser colectadas y se colocaron en una hielera para evitar deshidratación y ser llevadas al laboratorio.

Área foliar

Se determinó por medio de un integrador de área foliar LI-3100® (LI-COR, Nebraska, USA).

Densidad estomática

La cuantificación se realizó en la parte media, abaxial de la hoja. Se utilizó el método de la réplica propuesto por Larqué-Saavedra y Trejo (1988), modificado por Engleman (sin publicar), que consiste en poner una gota de pegamento instantáneo Kola Loca® en un portaobjetos, posteriormente presionar la hoja por un minuto sobre la gota y enseguida despegar del portaobjetos. Las impresiones se llevaron al laboratorio donde se observaron en un microscopio óptico Olympus BX51® (Olympus, Tokio Japón) que tenía adaptada una cámara digital Evolution™ MP (Media Cybernetics, Florida, USA). Se fotografiaron tres campos elegidos al azar. Posteriormente con ayuda del programa Image Tool V 3.0 UTHSCSA (Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA) se realizó el conteo de estomas por campo utilizando el objetivo 40x X 10x. Se realizaron dos impresiones por hoja, y se fotografiaron tres campos por impresión. Se evaluó un total de 324 campos. El área del campo fue de 0.89 mm². La densidad se expresó en número de estomas por mm².

Largo y ancho de estomas

En cada uno de los 324 campos, de las impresiones utilizadas para determinar la densidad estomática, se midió la longitud y el ancho de diez estomas por campo, por medio del programa Image Tool V 3.0 UTHSCSA® (Texas Health Science Center, San Antonio, Texas, USA)

se midieron en total 3240 estomas. El tamaño se expresó en μm .

Relación largo/ancho de estomas

Posteriormente se obtuvo la relación del largo entre el ancho de los 3240 estomas. Esta variable, aún cuando no está establecida en otras referencias, se consideró para tratar de conocer la forma del estoma, ya que el área del poro depende de la forma que tiene, y una elipse de radio menor, presentará diferente área a otro que tienda a ser circular.

Análisis estadístico

A los datos obtenidos se les realizó análisis de varianza por medio del paquete estadístico SAS 9.2 (SAS Institute, 2009) y prueba de medias por Tukey ($P \leq 0.05$) en un modelo de factores anidados (Weber y Skillings, 2000), considerando el portainjerto utilizado como factor fijo y el árbol seleccionado como factor aleatorio. El análisis de los datos obtenidos se realizó en un diseño anidado ya que la densidad estomática varía significativamente entre individuos, cultivares y ecotipos dentro de una especie (Jones, 1992). Se realizaron correlaciones entre altura del árbol, diámetro del dosel, densidad estomática, largo y ancho de estomas y área foliar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Altura de la planta

En 2002, la altura de las plantas fue mayor en 'Volkameriano' y menor en 'Cleopatra' (Cuadro 1). La

diferencia en altura inicial, se debe a que el comportamiento de las plantas en vivero varía; las plantas de 'Cleopatra' desarrollaron lentamente, y eran de menor tamaño desde antes de injertar. Se ha establecido que los portainjertos tipo limón son vigorosos y desarrollan más rápido desde vivero que las mandarinas. Girardi *et al.* (2007) evaluaron 11 portainjertos y los agruparon por su desarrollo en: limones, de mayor desarrollo; mandarinas y citrumelo 'Swingle' en posición intermedia y *P. trifoliata* y naranja 'Caipira DAC' con el menor desarrollo. Sólo limón 'Rugoso' superó en vigor a 'Volkameriano'.

Para 2006, la altura de las plantas en 'Amblicarpa' fue de tamaño similar a las de 'Volkameriano'. En 'Cleopatra', presentaron menor altura, debido al menor crecimiento en vivero y en los tres primeros años en campo. El crecimiento acumulado de las plantas injertadas en 'Volkameriano' durante los cinco años fue de 1.2 m y el de 'Amblicarpa' de 1.6 m, lo cual indica que el crecimiento en las plantas en 'Volkameriano' es acelerado en los primeros años y posteriormente disminuyó. Aun cuando se considera que 'Volkameriano' es un portainjerto vigoroso, al evaluar el desarrollo de las plantas en función del tiempo, destacó el hecho de que su crecimiento disminuyó notoriamente cuando comenzó a producir (datos no mostrados). El desarrollo vegetativo continuado de 'Amblicarpa' y 'Cleopatra' está asociado a menor producción (Cuadro 2). Por lo que se observó la dominancia del desarrollo reproductivo sobre el desarrollo vegetativo, en las plantas injertadas en 'Volkameriano' y que el patrón de distribución de asimilados cambia con el portainjerto de acuerdo a lo encontrado por Lliso *et al.* (2004).

Cuadro 1. Altura de las plantas de naranjo 'Valencia' injertadas en tres portainjertos tolerantes a VTC, evaluada durante cinco años.

'Valencia' en:	Altura (m)					Crecimiento acumulado en cuatro años (m)
	2002	2003	2004	2005	2006	
'Volkameriano'	2.1 a [†]	2.8 a	2.9 a	3.0 ab	3.3 ab	1.2
'Amblicarpa'	1.8 b	2.5 b	2.8 a	3.1 a	3.4 a	1.6
'Cleopatra'	1.7 c	2.2 c	2.5 b	2.7 c	2.9 c	1.2
CV	7.5	6.0	5.4	7.2	7.0	
DMSH	0.18	0.20	0.20	0.17	0.18	

[†] Medias con la misma letra en cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey $P < 0.05$); CV = coeficiente de variación; DMSH = diferencia mínima significativa honesta.

Cuadro 2. Incremento en altura por año de las plantas de naranjo 'Valencia' injertado en tres portainjertos tolerantes a VTC evaluado durante cuatro años.

'Valencia' en:	Crecimiento en un año (m)				Crecimiento en 4 años (m)
	2003	2004	2005	2006	
'Volkameriano'	0.70	0.10	0.10	0.30	1.2
'Amblicarpa'	0.60	0.30	0.20	0.30	1.6
'Cleopatra'	0.50	0.30	0.20	0.20	1.2

Diámetro de la copa

El diámetro de copa presentó la misma tendencia que la altura de la planta (Cuadro 3). En 2004 las plantas en ‘Amblicarpa’ alcanzaron 2.6 m de diámetro, que fue similar a las que se encontraban en ‘Volkameriano’ con 2.7 m. El incremento acumulado para esta variable en los cuatro años en ‘Volkameriano’ fue de 0.6 m, lo cual indicó que aún cuando desarrolló rápidamente, después disminuyó el ritmo de crecimiento a diferencia de ‘Amblicarpa’ y ‘Cleopatra’ que tienen valores de 1.3 y 0.9 m, respectivamente.

Los resultados obtenidos en otras investigaciones difieren con lo aquí presentado, Monteverde *et al.* (1991) encontraron que ‘Volkameriano’ induce mayor vigor, determinado por el volumen de la copa. En contraste, Montilla y Gallardo (1994) no encontraron diferencias en altura del árbol ni en el diámetro de copa en naranjo ‘Valencia’ injertado en ‘Volkameriano’ y ‘Cleopatra’ a los tres años de establecidos, aún cuando existían diferencias en el primer año. Las diferencias en los resultados obtenidos son compatibles con lo observado con Jafar *et al.* (2006) acerca de que el comportamiento de los portainjertos y cultivares puede ser afectado por el clima, enfermedades e incompatibilidad fisiológica, ya que combinaciones que son exitosas en una región pueden ser insatisfactorias en otras.

Área foliar

El portainjerto utilizado modificó el tamaño de las hojas de naranjo ‘Valencia’ (Cuadro 4). Cuando está injertado en ‘Volkameriano’, el área foliar se incrementó en 20.26

y 16.85 % en comparación con ‘Cleopatra’ y ‘Amblicarpa’, respectivamente. No existen referencias en la literatura para contrastar este resultado.

Densidad de estomas

En las hojas de naranjo ‘Valencia’ injertado en los tres portainjertos, la densidad de estomas fluctuó entre 294 y 313 estomas por mm². El portainjerto modificó la densidad estomática (Cuadro 4), ‘Cleopatra’ tuvo mayor número de estomas por mm² y ‘Volkameriano’ el menor. Esto coincide con Cañizares *et al.* (2003) quienes encontraron en lima ‘Tahití’ que el portainjerto utilizado afecta la densidad de estomas en el injerto; en este caso las plantas injertadas en ‘Cleopatra’ presentaron 375 estomas por mm², mientras que en ‘Volkameriano’ la densidad disminuyó a 204 estomas mm².

En este caso, aún cuando la densidad de estomas de naranjo ‘Valencia’ fue mayor en ‘Cleopatra’ que en ‘Volkameriano’ es necesario considerar el área foliar de las plantas, ya que diferencias pequeñas en densidad pueden ser grandes cuando se relaciona con el área foliar. Al multiplicar los valores de densidad de estomas por el área foliar, el portainjerto ‘Volkameriano’ que tiene la menor densidad, pero mayor área foliar, obtuvo mayor número de estomas (17 061) y ‘Cleopatra’, presentó mayor densidad de estomas, tiene menor número de estomas por área foliar (14 908). Si consideramos que el intercambio gaseoso depende del área foliar (Pandey *et al.*, 2007) esto se puede explicar porque ‘Volkameriano’ tiene mayor crecimiento y rendimiento.

Cuadro 3. Diámetro de copa en árboles de naranjo ‘Valencia’ injertados en tres portainjertos tolerantes a VTC, evaluado durante cuatro años.

‘Valencia’ en:	Diámetro de copa (m)				Incremento acumulado en cuatro años (m)
	2003	2004	2005	2006	
‘Volkameriano’	2.6 a [†]	2.7 a	2.9 a	3.2 a	0.6
‘Amblicarpa’	2.2 b	2.6 a	3.1 a	3.5 a	1.3
‘Cleopatra’	1.8 c	2.1 b	2.4 b	2.7 b	0.9
CV	9.9	7.3	11.7	12.7	
DMSH	0.2	0.2	0.26	0.26	

[†] Medias con la misma letra en cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey P < 0.05); CV = coeficiente de variación; DMSH = diferencia mínima significativa honesta.

Cuadro 4. Densidad y dimensiones de los estomas y área foliar de naranjo ‘Valencia’ injertado en tres portainjertos de cítricos.

‘Valencia’ en:	Estomas				Área foliar ⁺⁺⁺ (cm ²)
	Densidad [†] (estomas/mm ²)	Longitud ⁺⁺ (μm)	Ancho ⁺⁺ (μm)	Relación Largo/ancho	
‘Cleopatra’	115.92 a [†]	24.04 b	21.00 b	1.171	128.61 b
‘Amblicarpa’	112.44 b	24.39 a	21.55 a	1.230	133.48 b
‘Volkameriano’	106.28 c	23.92 b	19.99 c	1.140	160.53 a
CV	8.88	4.10	4.84		6.37
DMSH	3.18	0.32	0.32		22.48

[†] Media de 108 campos; ⁺⁺ Media de 1080 estomas; ⁺⁺⁺ Media de 18 hojas.

[†] Medias con la misma letra en cada columna, son estadísticamente iguales (Tukey P < 0.05) CV = coeficiente de variación; DMSH = diferencia mínima significativa honesta.

Es necesario también considerar que mayor densidad de estomas puede determinar el desarrollo, ya que a través de los estomas no sólo se lleva a cabo la absorción de CO₂ y por lo tanto la fotosíntesis, sino también la pérdida de agua en el proceso de transpiración, la cual es esencial en la absorción de nutrimentos por las raíces, el cierre de estomas reduce la transpiración, pero disminuye el intercambio de CO₂ afectando adversamente a la fotosíntesis (Wang *et al.*, 2007).

Tamaño de estomas

El portainjerto influyó también en el tamaño de los estomas, determinado por la longitud y ancho. Las hojas de naranjo 'Valencia' injertado en 'Amblicarpa' tuvieron estomas más largos que las plantas en 'Cleopatra' y 'Volkameriano'. Las plantas en 'Amblicarpa' también presentaron los estomas más anchos, y en 'Volkameriano' los más angostos (Cuadro 4). Por lo tanto, el portainjerto modificó la forma de los estomas de naranjo 'Valencia'. En 'Volkameriano' los estomas fueron redondos (valores cercanos a 1, de la relación largo/ancho) y en 'Amblicarpa' fueron elípticos (valores más alejados de uno). Pandey *et al.* (2007) sugieren que la forma de los estomas (relación largo/ancho) de la *Rosa hybrida* L. que crece sobre un portainjerto, es un carácter genotípico, debido a que no fue modificada por concentraciones altas de CO₂ y alta temperatura. En este estudio se demuestra que el portainjerto modificó la forma de los estomas de las hojas del naranjo 'Valencia'.

El área del poro junto con la densidad estomática determina la porosidad de la capa de estomas, la cual tiene relación directa con el intercambio gaseoso (Konrad *et al.*, 2008). Así también, la forma del estoma puede tener efecto en la conductancia estomática y el intercambio gaseoso como lo indican Franks y Farquhar (2007). Con base a lo anterior, y considerando que la forma del estoma determina el área del poro y que dicha forma fue modificada por los portainjertos, se sugiere que el patrón puede influir en la capacidad de intercambio gaseoso y conductancia estomática, lo cual es necesario comprobar en futuros estudios.

No se observó correlación entre las variables número, longitud y ancho de estomas, con la altura del árbol y diámetro del dosel, sin embargo es necesario evaluar el área foliar de las plantas completas, ya que en las injertadas en 'Volkameriano' se observó mayor cantidad de hojas, que las plantas en 'Amblicarpa' y 'Cleopatra'. Además, la producción de fruta en este portainjerto fue mayor, lo que representa utilización de asimilados, los cuales son obtenidos por el crecimiento vegetativo (Lliso *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

Aún cuando la altura y diámetro de copa de naranjo 'Valencia' injertado en mandarino 'Amblicarpa' fue menor en los primeros dos años, que con limón 'Volkameriano', posteriormente ambas variables fueron estadísticamente iguales con los dos portainjertos y superaron al tamaño de copa obtenido con mandarino 'Cleopatra'. El portainjerto afectó la densidad, tamaño y forma de los estomas en naranjo 'Valencia' pues con 'Cleopatra' se observó mayor densidad estomática, con 'Amblicarpa' los estomas más largos y anchos, mientras que con 'Volkameriano' la menor densidad estomática y menor diámetro de estomas, pero mayor área foliar que en los otros portainjertos. No existió correlación entre la cantidad y forma de estomas con la altura y diámetro de copa.

BIBLIOGRAFÍA

- Agostini J P, T J Habere (2000) Screening for 26 rootstocks for decline tolerance in Misiones Argentina. In: Proc. 14th International Organization Citrus Virology Conference 2000-Blight. UCR. Riverside, USA. pp:304-310.
- Atkinson C J, M A Else, L Taylor, A D Webster (2001) The rootstock graft union: a contribution to the hydraulic of the worked fruit tree. Acta Hort. 557:117-122.
- Brown H T, F Escombe (1900) Static diffusion of gases and liquids in relation to assimilation of carbon and translocation in plants. Phil. Trans. Royal Soc. London 193:223-291.
- Cañizares A, M A Sanabria, D A Rodríguez, 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. Rev. Cien. UDO Agríc. 3:59-64.
- Castle W S, J W Grosser, F G Gimter, R J Schnell, T Ayala-Silva, J H Crane, K D Bowman (2004) Evaluation of new citrus rootstocks for 'Tahiti' lime production in southern Florida. Proc. Florida State Hort. Soc. 117:174-181.
- Costa M A P C, W A B Almeida, F A A Mourao Filho, B M J Mendes, A P M Rodriguez (2004) Stomatal analysis of citrus somatic hybrids obtained by protoplast fusion. Pesq. Agrop. Bras. 39:297-300.
- Costa M A P, B M J Mendes, F A A Mourão Filho (2003) Somatic hybridization for improvement of citrus rootstock: production of five combinations with potential for improvement disease resistance. Aust. J. Exp. Agric. 43:1151-1156.
- Franks P J, G D Farquhar (2007) The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control. Plant Physiol. 143:78-87.
- Forner-Giner M A, A Alcaide, E Primo-Millo, J B Forner (2003) Performance of 'Navelina' orange on 14 rootstocks in Northern Valencia (Spain). Sci. Hort. 98:223-232.
- Ghorbel R, A Domínguez, L Navarro, L Peña (2000) High efficiency genetic transformation of sour orange (*Citrus aurantium*) and production of transgenic trees containing the coat protein gene of citrus tristeza virus. Tree Physiol. 20:1183-1189.
- Girardi E A, F A A Mourão F, 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.

- Hopkins D L (1982)** Relation of Pierce's disease bacterium to a wilt-type disease in citrus in the greenhouse. *Phytopathology* 72:1090-1092.
- Jafar M, H Abbas, M M Khan, U Shahzad, Z Hussain (2006)** Morphological description of three potential citrus rootstocks. *Pakistan J. Bot.* 38:311-317.
- Jiménez, R, Elsa Frometa, M Santos (1989)** Estudio fenológico de seis patrones en combinación con el híbrido tangelo 'Orlando' (*Citrus paradisi* x *Citrus reticulata*) en la fase de vivero en el sur de La Habana. *Agrotec. Cuba* 21:111-115
- Jones H G (1992)** Plant and Microclimate. 2nd ed. University Press. Cambridge, NY, USA. 428 p.
- Konrad W, A Roth-Nebelsick, M Grein (2008)** Modelling of stomatal density response to atmospheric CO₂. *J. Theor. Biol.* 253:638-658.
- Larqué-Saavedra A, C Trejo (1988)** El Agua en las Plantas. Manual de Prácticas de Fisiología Vegetal. Ed. Trillas D.F. México. 88 p.
- Levy Y, J Lifshitz (2000)** The response of orchard citrus trees on different rootstocks to irrigation with saline water, evaluated by trickle linear gradient. *Acta Hort.* 537:629-634.
- Lliso I, J B Forner, M Talon (2004)** The dwarfing mechanism of citrus rootstocks F&A 418 and #23 is related to competition between vegetative and reproductive growth. *Tree Physiol.* 24:225-232.
- Monteverde E E, F Reyes, G Laborem, J R Ruiz, M Espinoza (1991)** Evaluación del naranjo 'Valencia' sobre seis patrones en los Valles Altos de Carobobo-Yaracuy, Venezuela. *Agron. Trop.* 41:119-134.
- Montilla B I, E Gallardo (1994)** Comportamiento del naranjo 'Valencia' sobre trece portainjertos en Lara, Venezuela. I. Crecimiento. *Agron. Trop.* 44:619-628.
- Pandey R, Priya M Chacko, M L Choudhary, K V Prasad, Madan Pal (2007)** Higher than optimum temperature under CO₂ enrichment influences stomata anatomical characters in rose (*Rosa hybrida*). *Sci. Hort.* 113:74-81.
- Parés-Martínez J, M Arizaleta, M E Sanabria, L Brito (2004)** Características de los estomas, densidad e índice estomático y su función a la injertación en *Annona muricata* L. y *A. montana* MADFAC. *Bioagro* 16:213-218.
- Pathak R K, D Pandey, V S Pandey (1976)** Stomatal distribution as an index for predicting the growth potencial of apple stocks. *J. Hort. Sci.* 51:429-431.
- Pérez-Zamora O (2004)** Concentración nutrimental en hojas, rendimiento, eficiencia e producción, calidad de jugo e índices nutrimentales de naranjo 'Valencia' injertado en portainjertos de cítricos. *Agrociencia* 39:141-154.
- Pérez-Zamora O, S Becerra R, V Medina U (2003a)** Selección de portainjertos para naranja 'Valencia' en suelos calcinomórficos. *Terra* 21:47-55.
- Pérez-Zamora O, V Medina-Urrutia, S. Becerra-Rodríguez (2003b)** 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 Junior J, F Ferraz L, S Blumer (2002)** Laranjeiras 'Valência' enxertadas em híbridos de *Trifoliata*. *Sci. Agric.* 59:93-97.
- Roman M P, M Cambra, J Juárez, P Moreno, Duran-Vilan, F A O Tanaka, E Alves, E W Kitajama, P T Yamamoto, R B Bassanesi, C Teixeira, W C Jesus, A J Ayres, N Gimenes-Fernandes, F Rabenstein, L F Girotto, J M Bove (2004)** Sudden death of citrus in Brazil: a graft-transmissible bud union disease. *Plant Dis.* 88:453-467.
- Russión L T (2007)** Comportamiento de la lima (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) cv. Thaití sobre diez patrones diferentes en el municipio autónomo Mara del estado de Zulía. *Rev. Fac. Agron.* 50:65-71.
- Saunt J (1990)** Citrus Varieties of the World. Sinclair International Limited. Norwich, England. pp:119-126.
- SAS Institute (2009)** SAS/STAT® 9.2. Users's Guide Release. Cary, NC: SAS Institute Inc., USA.
- Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta, (SIACON) (2008)** SAGARPA. Disponible en: http://www.oeidrusta-maulipas.gob.mx/cd_anuario_06/SIACON_2008.html (Diciembre 2009).
- Young R H, L G Albrigo, D P H Tucker, G Williams (1980)** Incidence of citrus blight on Carrizo citrange and some other rootstocks. *In: Proc. Florida State Hort. Soc.* 93:14-17.
- Wang Y, X Chen, Ch Xiang (2007)** Stomatal density and bio-water saving. *J. Integrat. Plant Biol.* 49:1435-1444.
- Weber D C, J H Skillings (2000)** A First Course in the Design of Experiments. A Linear Models Approach. CRC Press. LLC Florida, USA. 680 p.
- Wutscher H K, K D Bowman (1999)** Performance of 'Valencia' orange on 21 rootstocks in Central Florida. *HortScience* 34: 622-624.