

DESARROLLO EN VIVERO DE PORTAINJERTOS DE CÍTRICOS CON MALFORMACIÓN DE RAÍZ

Beatriz Guillermina Arrieta-Ramos¹; Ángel Villegas-Monter^{2*};
María de las Nieves Rodríguez-Mendoza³, Gregorio Luna-Esquivel¹

¹Universidad Autónoma de Nayarit, Unidad Académica de Agricultura. km 9 Carretera Tepic-Compostela, Xalisco, Nayarit, MÉXICO. C.P. 63155.

²Colegio de Postgraduados, Postgrado en Recursos Genéticos y Productividad- Fruticultura. km 36.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Estado de México, MÉXICO. C.P. 56230.

Correo-e: villema53@hotmail.com (* Autor para correspondencia)

³Colegio de Postgraduados, Instituto de Recursos Naturales, Programa de Edafología. km 36.5 Carretera México-Texcoco. Montecillo, Estado de México, MÉXICO. C.P. 56230.

RESUMEN

El estudio se llevó a cabo para evaluar el efecto de la malformación de la raíz en el crecimiento de tres portainjertos de cítricos y detectar este problema con base en el crecimiento y desarrollo en vivero. Se utilizaron plantas de cuatro meses obtenidas de semilla de los portainjertos Citrange 'Carrizo', Citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475) y Limón 'Volkameriano', con malformación en raíz y sin ella (Testigo = raíz recta; malformación 1 = raíz sinuosa; malformación 2 = presenta dos ángulos $\geq 90^\circ$, y malformación 3 raíz con tres ángulos $\leq 90^\circ$) y altura uniforme de 15 cm. Se trasplantaron a bolsas de polietileno negras de 20 x 34 cm que contenían mezcla de tierra vega, lombricomposta y agrolita (3:1:1 v/v/v). A los diez meses del transplante se evaluaron longitud y diámetro del tallo, número de hojas y área foliar, longitud y volumen de raíz, relación parte aérea/raíz y materia seca de hoja, tallo y raíz. La longitud y diámetro del tallo fueron superiores en 'Volkameriano'. No se encontraron diferencias entre niveles de malformación en raíz para estas variables. El área foliar de 'Volkameriano' fue mayor que en 'Carrizo' y 'Swingle'. El área foliar se incrementó con el nivel de curvatura de la raíz. La longitud de raíz fue mayor en 'Volkameriano' que en 'Carrizo' y 'Swingle'. Se encontró interacción entre portainjertos y nivel de curvatura para volumen de raíz. 'Volkameriano' fue el portainjerto más vigoroso. No fue posible identificar las plantas con malformación con base en su crecimiento y desarrollo.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: Citrumelo 'Swingle', Citrange 'Carrizo', Limón 'Volkameriano', *Citrus*.

NURSERY GROWTH OF CITRUS ROOTSTOCKS WITH ROOT MALFORMATION

ABSTRACT

This research was conducted to evaluate the effect of root malformation in plant growth of three *Citrus* rootstocks, and to detect this problem based on nursery growth and development. We used seedlings of rootstocks: Citrange 'Carrizo', Citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475) and 'Volkamerian' Lemon without and with root malformation (control = straight root; malformation 1 = sinuous root; malformation 2 = root with two angles $\geq 90^\circ$ and, malformation 3 = root with three angles $\leq 90^\circ$) and 15 cm uniform length. These plants were transplanted to 20 x 34 cm black polyethylene bags with a mixture of land soil, vermicompost and agrolite (3:1:1 v/v/v). Stem length and diameter; leaf number and area; root length and volume; leaf, stem and root dry matter and shoot/root were evaluated ten months after transplanting. Stem length and diameter were higher in 'Volkamerian'. No differences were found for root malformation. The foliar area of 'Volkamerian' was greater than 'Carrizo' and 'Swingle'. The foliar area increased with root malformation. Root length was longer in 'Volkamerian' than in 'Carrizo' and 'Swingle'. We observed interaction between rootstocks and root curvature level for root volume. 'Volkamerian' was the most vigorous rootstock. It was not possible to identify the plants with root malformation based on plant growth and development.

ADDITIONAL KEYWORDS: Citrumelo 'Swingle', Citrange 'Carrizo', Lemon 'Volkamerian', *Citrus*.

INTRODUCCIÓN

Los cítricos ocuparon en 2011 el primer lugar en producción mundial de fruta, con más de 115 millones de toneladas producidas (Anónimo, 2013). Estas plantas, durante su crecimiento y desarrollo, son atacadas por enfermedades causadas por virus y viroides, por lo que es indispensable la utilización de portainjertos obtenidos por semilla, que en ocasiones desarrollan malformación en la raíz. Estas plantas se eliminan cuando son detectadas en vivero. Esta práctica no siempre se lleva a cabo, por lo cual las plantas con malformaciones pueden ser injertadas y establecidas en campo.

En México, hasta 2005, el principal portainjerto utilizado era naranjo 'Ágrio', pero, debido a que es susceptible al Virus Tristeza de los Cítricos, se promovió la utilización de portainjertos tolerantes a esta enfermedad. Los más comúnmente usados son Limón 'Volkameriano', Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo', entre otros (Cruz, 2006).

La malformación de raíz ha sido estudiada en especies forestales (Cruiziat *et al.*, 2002; Amoroso *et al.*, 2010) y se ha encontrado que las raíces enroscadas, rizadas o deformes de plantas de pino (*Pinus radiata*) cultivadas en contenedores tienen mayor tasa de mortalidad, pobre mecanismo de estabilidad y susceptibilidad a sequía después del trasplante (Ortega *et al.*, 2006), así como mayor predisposición a enfermedades debido al estrés ocasionado por la deformación de la raíz (Szewczyk y Lechtański, 2008). Además, en *Pinus taeda* se encontró que la deformación de la raíz actúa como una faja que constriñe los vasos y afecta el transporte de fotoasimilados y agua en el punto de inflexión (McCulloh y Sperry, 2005; Gonçalves *et al.*, 2007).

En frutales se ha establecido que existe relación entre el desarrollo de la raíz y parte aérea, para optimizar la utilización de fotoasimilados y otros compuestos que son empleados para el crecimiento de brotes y definen el tamaño del dosel que captura luz para la fotosíntesis. El crecimiento de la raíz está definido por el volumen de suelo que la planta explora para la obtención de agua y nutrientes (Hsiao, 2000; Pérez-Pérez *et al.*, 2008). La malformación de raíz puede provocar desequilibrio para parte aérea/raíz y afectar el desarrollo de los árboles.

La respuesta a la malformación de raíz en los portainjertos propagados por semillas puede variar. Se han encontrado diferencias en el grado de poliembrionía, porcentaje de germinación (Shinde *et al.*, 2007), vigor de las plantas (área foliar y altura), contenido nutrimental de hojas, relaciones hídricas (Shäfer *et al.*, 2005), resistencia a estrés por inundación y sequía (García-Sánchez *et al.*, 2007), conductividad hidráulica, longitud de raíces, transpiración y condiciones de estrés por sales (Castle *et al.*, 2009; Gimeno *et al.*, 2009).

Con base en lo anterior, el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto de la malformación de la raíz en el creci-

INTRODUCTION

In 2011, citrus ranked first in world production of fruit, with more than 115 million tons produced (Anonymous, 2013). These plants, during their growth and development, are attacked by diseases caused by virus and viroids, so it is essential to use rootstocks obtained by seeds, which sometimes develop malformation on the root. These plants are eliminated when they are detected in nursery. This practice is not always carried out, so plants with root malformation can be grafted and established on the field.

Until 2005 in Mexico, the main rootstock used was Sour orange tree, but because it is susceptible to Citrus Tristeza Virus, the use of rootstocks tolerant to this disease was promoted. 'Volkamerian' Lemon, Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' among others are the most commonly used (Cruz, 2006).

Root malformation has been studied in forest species (Cruziat *et al.*, 2002; Amoroso *et al.*, 2010) and it has been found that twisted, curly or deformed roots of pine plants (*Pinus radiata*) grown in containers have higher mortality rate, poor stability mechanism and susceptibility to drought after transplanting (Ortega *et al.*, 2006), and greater susceptibility to diseases due to stress caused by root deformation (Szewczyk and Lechtański, 2008). Furthermore, *Pinus taeda* showed that root malformation acts as a belt limiting the vessels and affects the transport of photoassimilates and water at the point of inflection (McCulloh y Sperry, 2005; Gonçalves *et al.*, 2007).

In fruit trees, it has been established that there is a relationship between the root and shoot development, to optimize the use of photoassimilates and other compounds that are used for shoot growth and define the size of the canopy that capture light for photosynthesis. Root growth is defined by the volume of soil explored by the plant to obtain water and nutrients (Hsiao, 2000; Pérez-Pérez *et al.*, 2008). Root malformation may cause imbalance to shoot/root ratio and affects the growth of the trees.

The answer to root malformation in rootstocks propagated by seeds may vary. We have found differences in the degree of polyembryony, germination percentage (Shinde *et al.*, 2007), plant vigor (leaf area and height), leaf nutrient content, water relations (Shäfer *et al.*, 2005), flooding and drought stress resistance (García-Sánchez *et al.*, 2007), hydraulic conductivity, root length, transpiration and salt stress conditions (Castle *et al.*, 2009; Gimeno *et al.*, 2009).

Based on the above, the aim of the present research was to evaluate the effect of root malformation in growth and development of three citrus rootstocks under nursery conditions.

MATERIALS AND METHODS

This study was carried out in a commercial nursery located in Cazones, Veracruz. We used seedlings of rootstocks:

miento y desarrollo de tres portainjertos de cítricos en condiciones de vivero.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en un vivero comercial ubicado en Cazones, Veracruz. Se utilizaron plantas de cítricos de cuatro meses, provenientes de semilla de los siguientes portainjertos: Citrange 'Carrizo' (*P. trifoliata* L. Raf. x *C. sinensis* L.), Citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475) (*Citrus paradisi* Macf. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) and 'Volkamerian' Lemon (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.), con malformación en raíz y sin ella, y 15 cm de altura. Las plantas se trasplantaron a bolsas de polietileno negras de 20 x 34 cm que contenían mezcla de tierra vega, lombricomposta y agrolita en relación 3:1:1 (V/V/V). Se aplicó 1 kg·m⁻³ de azufre al momento de realizar la mezcla de sustrato. Previo al trasplante, las plántulas se sumergieron en solución de Benlate® (Benomyl) por 20 minutos con dosis de 1 g·litro⁻¹.

Variables evaluadas

Las plantas permanecieron en vivero por diez meses y después se llevaron al laboratorio donde se evaluaron los siguientes parámetros.

Al término del experimento se midió la longitud del tallo (cm) con un flexómetro, desde la base del cuello, hasta el ápice, se reportó en centímetros. El diámetro del tallo (mm) se midió 20 cm por arriba del cuello con vernier digital.

Se contó el total de hojas por planta. Enseguida seleccionaron 10 hojas maduras y expandidas por planta y se llevaron al Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo (UACH) para determinar el área foliar de cada muestra con un integrado de área foliar, Area meter LI-310 (LICOR INC., Lincoln, Nebraska, USA).

Se midió la longitud de la raíz (cm) desde el cuello hasta el ápice de la raíz. Posteriormente se determinó el volumen colocando la raíz en una probeta graduada que contenía 2000 ml de agua. Al sumergirla, elevó la columna de agua y el exceso fue extraído con una pipeta. El volumen de agua extraído correspondió al volumen de la raíz en milímetros.

La planta se disectó en hojas, tallo y raíz, que 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 evaluó el peso de materia seca. Con estos datos se obtuvo la relación de peso de materia seca, parte aérea/raíz mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Relación parte} = \frac{\text{Peso de la materia seca de la parte aérea}}{\text{área/raíz}} = \frac{\text{Peso de la materia seca de la parte aérea}}{\text{Peso de la materia seca de la raíz}}$$

Citrangle 'Carrizo' (*P. trifoliata* L. Raf. x *C. sinensis* L.), Citrumelo 'Swingle' (C.P.B. 4475) (*Citrus paradisi* Macf. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) and 'Volkamerian' Lemon (*C. volkameriana* Ten. & Pasq.), with and without root malformation, 15 cm height. Plants were transplanted to 20 x 34 cm black polyethylene bags with a mixture of land soil, vermicompost and agrolite (3:1:1 v/v/v). A total of 1 kg·m⁻³ sulfur was applied when performing the substrate mixture. Prior to transplantation, the seedlings were soaked in Benlate® solution (Benomyl) for 20 minutes with a dose of 1 g·Liter⁻¹.

Variables evaluadas

Plants remained in the nursery for ten months, and then were taken to the laboratory where the following parameters were evaluated.

At the end of the experiment, we measured: stem length (cm) using a measuring tape from the base to the apex, it was reported in cm. Stem diameter (mm) was measured 20 cm above the neck using digital vernier caliper.

The total leaves per plant were counted. Then, we selected 10 mature expanded leaves per plant, these leaves were taken to the Laboratory of Plant Physiology, Department of Plant Sciences at the Universidad Autónoma Chapingo (UACH) to determine the leaf area of each sample with an integrated leaf area, Area meter LI-310 (LICOR INC., Lincoln, Nebraska, USA).

Root length (cm) was measured from the neck to the apex of the root. Then, the volume was determined by placing the root in a graduated cylinder containing 2000 ml of water. When immersing the root, the water column raised and the excess was removed with a pipette. The volume of water extracted corresponded to the root volume in ml.

The plant was dissected into leaves, stem and root, which were placed in brown paper bags with holes and then in an oven with forced air circulation at 70° C for 72 h. Later, the weight of dry matter was assessed. With these data, we obtained the ratio of dry matter weight, shoot/root ratio using the following equation:

$$\text{shoot/root ratio} = \frac{\text{Shoot dry matter weight}}{\text{Root dry matter weight}}$$

Experimental design and statistical analysis

We used a design of 3 x 4 factorial, where the factors were three commercial rootstocks for citrus and root malformations, classified into four types.

The classification of root malformation was as follows: Control, corresponds to plants with straight root; malformation

Diseño experimental y análisis estadísticos

Se empleó un diseño de tratamientos factorial 3 x 4, donde los factores fueron tres portainjertos comerciales para cítricos y malformaciones de raíz, clasificadas en cuatro tipos.

La clasificación de la malformación de raíz se hizo de la siguiente forma: Testigo, corresponde a las plantas con raíz recta; malformación 1 (M1), plantas con raíz sinuosa; malformación 2 (M2), la raíz presenta dos ángulos > 90°, y malformación 3 (M3), la raíz presenta tres ángulos ≤ 90° (Figura 1).

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 y prueba de comparación de medias (Tukey, $P \leq 0.05$). Los datos se procesaron con el Programa SAS® 9.2 (Anónimo, 2000).

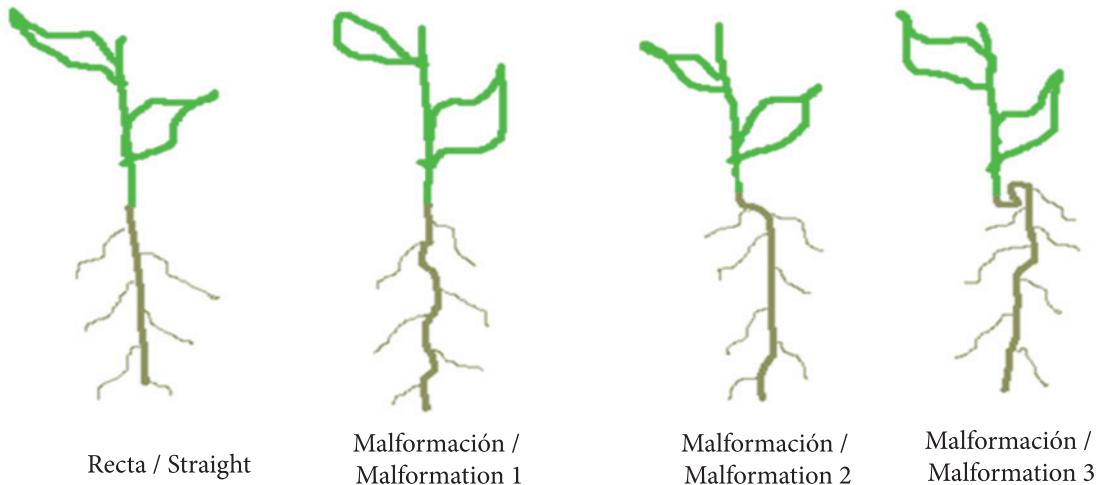


FIGURA 1. Clasificación de las plántulas de cítricos de acuerdo a la malformación de la raíz. Raíz recta= testigo; malformación 1 = raíz sinuosa; malformación 2 = raíz con dos ángulos ≥ 90°; malformación 3 = raíz con tres ángulos ≤ 90°.

FIGURE 1. Classification of citrus seedlings according to root malformation. Straight root = control; malformation 1 = sinuous root; malformation 2 = root with two angles ≥ 90°; malformation 3 = root with three angles ≤ 90°.

RESULTADOS

Longitud y diámetro del tallo

No se encontró interacción significativa entre portainjertos y malformación en raíz para longitud y diámetro de tallo (Cuadro 1). Se encontraron diferencias significativas entre portainjertos para esas variables, donde Limón 'Volkameriano' fue superior a Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo' (Cuadro 2). No hubo diferencia por malformación en raíz para número de hojas, longitud y diámetro de tallo, pero si para área foliar (Cuadro 1).

1 (M1), plants with sinuous root; malformation 2 (M2), root with two angles ≥ 90°, and malformation 3 (M3), root with three angles ≤ 90° (Figure 1).

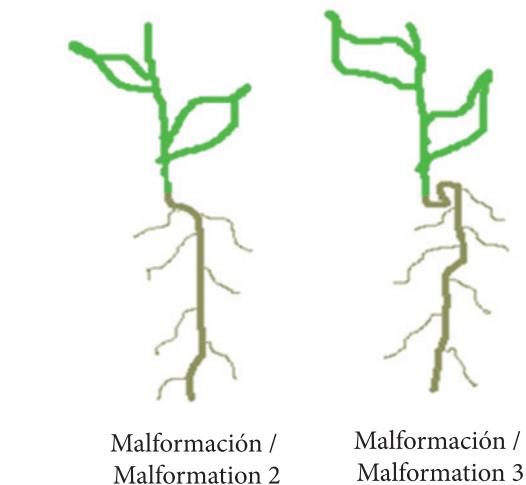
We used the Randomized Complete Block design, in divided plots and ten replications per treatment. The experimental unit consisted of one plant.

An analysis of variance and mean comparison test (Tukey, $P \leq 0.05$) were performed. The data was processed using the SAS® 9.2 program (Anonymous, 2000).

RESULTS

Stem length and diameter

No significant interaction was found between rootstocks and root malformation for stem length and diameter (Table 1). Significant differences were found among rootstocks for those variables, where 'Volkamerian' Lemon was greater than



Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' (Table 2). No differences were found due to root malformation for leaf number, stem length and diameter, but we observed differences for leaf area (Table 1).

Number of leaves and leaf area

No significant interaction was found between rootstock and root malformation for number of leaves and leaf area (Table 1). The Mean test showed that 'Volkamerian' Lemon exceeded the number of leaves compared to Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' (Table 2). The leaf area of 'Volkamerian'

CUADRO 1. Análisis de varianza para las variables longitud y diámetro de tallo, número de hojas, área foliar, longitud y volumen de raíz, relación parte aérea/raíz, materia seca en hojas, tallo y raíz en plantas de tres portainjertos de cítricos con malformación en raíz.

TABLE 1. Analysis of variance for variables: stem length and diameter; leaf number and area; root length and volume; shoot/root; leaf, stem and root dry matter in plants of three citrus rootstocks with root malformation.

Variable dependiente / Dependent variable	CV	Pi ^z	P ≥ F	
			Malformación / Malformation	Pi-Malformación / Pi-Malformation
Longitud del tallo / Stem length	10.21	< 0.0001**	0.8272	0.7964
Diámetro del tallo / Stem diameter	23.52	< 0.0001**	0.1448	0.6112
Número de hojas / Number of leaves	59.71	< 0.0001**	0.5290	0.5929
Área foliar / Leaf area	26.16	< 0.0001**	0.0048**	0.0912
Longitud de raíz / Root length	27.59	< 0.0001**	0.8520	0.0111*
Volumen de raíz / Root volume	28.46	< 0.0001**	0.0091**	0.0007**
Relación parte aérea/raíz / Shoot/root	37.14	< 0.0001**	0.2706	0.8892
Materia seca de hoja / Leaf dry matter	2.60	< 0.0001**	0.5861	0.3602
Materia seca de tallo / Stem dry matter	10.74	< 0.0001**	0.1195	0.1014
Materia seca de raíz / Root dry matter	22.33	0.0018**	0.1719	0.9299

*, **: Significativo con $P \leq 0.05$ y $P \leq 0.01$, respectivamente; CV: Coeficiente de variación; Pi^z: portainjerto.

*, **: Significant at $P \leq 0.05$ and $P \leq 0.01$, respectively; CV: Coefficient of variation; Pi^z: rootstock.

CUADRO 2. Pruebas de comparación de medias para longitud y diámetro del tallo, número de hojas y área foliar, en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante.

TABLE 2. Means comparison tests for stem length and diameter; leaf number and area in three citrus rootstocks, ten months after transplanting.

Portainjerto / Rootstock	Longitud del tallo / Stem length (cm)	Diámetro del tallo / Stem diameter (mm)	Número de hojas / Number of leaves	Área foliar ^y /Leaf area ^y (cm ²)
Limón / Lemon 'Volkameriano'	85.97 a ^z	7.54 a	93.55 a	188.96 a
Citrumelo 'Swingle'	71.32 b	6.45 b	35.03 b	155.43 b
Citrangle 'Carrizo'	73.47 b	5.89 b	33.60 b	86.03 c
C.V.	10.21	23.52	59.71	26.16
DMSH / HSD	0.23	0.81	17.15	19.94

^zLetras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$); ^yMedia de 10 hojas; CV: Coeficiente de variación; DMSH: Diferencia mínima significativa honesta.

^zSimilar letters in the same column are not statistically different (Tukey, $P \leq 0.05$); ^yAverage of 10 leaves; CV: Coefficient of variation; HSD: Honestly Significant Difference.

Número de hojas y área foliar

No se encontró interacción significativa entre portainjerto y malformación en raíz para número de hojas y área foliar (Cuadro 1). La prueba de medias mostró que Limón 'Volkameriano' superó en número de hojas a Citrumelo 'Swingle' y Citrangle 'Carrizo' (Cuadro 2). El área foliar de Limón 'Volkameriano' (188 cm²) también fue

Lemon (188 cm²) was greater compared to Citrangle 'Carrizo', which in turn was superior to Citrumelo 'Swingle'.

No significant difference was found for root malformation in number of leaves, but we observe differences in leaf area (Figure 2). The increase in leaf area highlights with the intensity of the malformation. Plants with straight root (control) and M3 had lower leaf area.

superior a Citrange 'Carrizo' que a su vez superó a Citrumelo 'Swingle'.

No se encontró diferencia significativa para el factor malformación de raíz en la variable número de hojas, pero sí en área foliar (Figura 2). Destaca el incremento de área foliar con la intensidad de la malformación. Las plantas con raíz recta (testigo) y la M3 presentaron menor área foliar.

Longitud y volumen de raíz

En longitud de raíz se encontró interacción significativa entre portainjerto y malformación de raíz, y altamente significativa para volumen de raíz (Cuadro 1). Al realizar la prueba de medias para portainjerto y malformación de raíz, se encontró que la longitud de raíz varió con el portainjerto (Cuadro 3), pero no hubo diferencia estadística para malformación (Cuadro 4). Este resultado indica que la variación en longitud de raíz se debió al portainjerto. Limón 'Volkamerian' tuvo la raíz más larga y fue estadísticamente superior a Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo', que fueron estadísticamente iguales.

Volumen de raíz

Se encontró significancia para la interacción entre portainjertos y malformación de raíz. El portainjerto afectó el volumen de raíz: Limón 'Volkameriano' fue igual que Citrumelo 'Swingle' pero superó a Citrange 'Carrizo' (Cuadro 3). La malformación también afectó el volumen, los tratamientos

Root length and volume

Root length showed significant interaction between rootstock and root malformation, and highly significant for root volume (Table 1). When performing the mean test for rootstock and root malformation, we found that root length varied with the rootstock (Table 3), but there was no statistical difference for root malformation (Table 4). This result indicates that the change in root length was due to the rootstock. 'Volkamerian' Lemon had the longest root and was statistically superior to Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo', which were statistically equal.

Root volume

We found significance for the interaction between rootstock and root malformation. The rootstock affected the root volume: 'Volkamerian' Lemon was equal to Citrumelo 'Swingle' but superior to Citrange 'Carrizo' (Table 3). Root malformation also affected the volume; treatments with M1 and M3 were equal, but superior to the control treatment (Table 4). In the interaction malformation/rootstock interaction, Citrumelo 'Swingle', root volume with malformation (M1, M2 and M3) was higher than 'Volkamerian' Lemon and Citrange 'Carrizo' (Figure 3).

Leaf, stem and root dry matter

No interaction was found between rootstock and root malformation for dry matter of leaves, stem and root, but we ob-

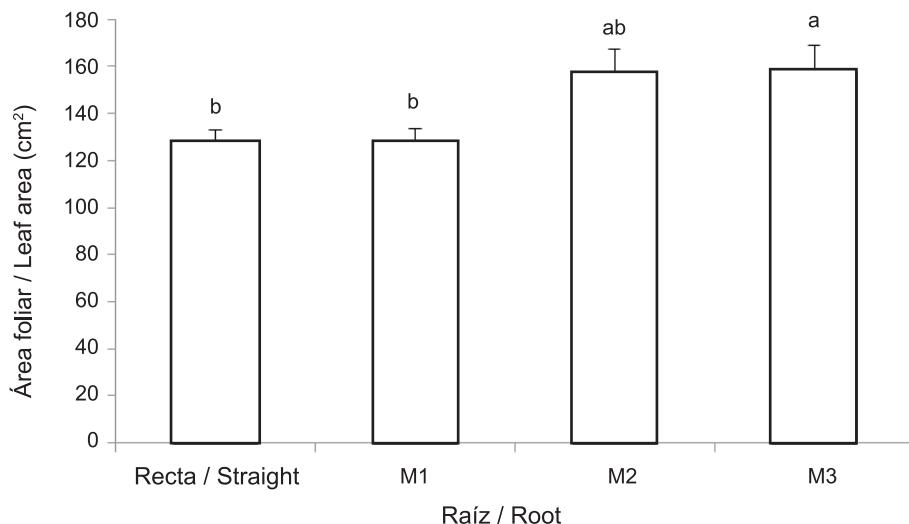


FIGURA 2. Efecto de la malformación de la raíz sobre el área foliar de portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante. Medias con letras iguales no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$). Raíz recta = testigo; M1 = raíz sinuosa; M2 = raíz con dos ángulos $\geq 90^\circ$; M3 = raíz con tres ángulos $\leq 90^\circ$.

FIGURE 2. Effect of root malformation on the leaf area of citrus rootstocks, ten months after transplanting. Means with the same letter do not differ statistically (Tukey, $P \leq 0.05$). Straight root = control; M1 = sinuous root; M2 = root with two angles $\geq 90^\circ$; M3 = root with three angles $\leq 90^\circ$.

CUADRO 3. Pruebas de comparación de medias para longitud, volumen de raíz y relación parte aérea/raíz en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante.

TABLE 3. Means comparison tests for root length and volume, shoot/root in three citrus rootstocks, ten months after transplanting.

Portainjerto / Rootstock	Longitud de raíz / Root length (cm)	Volumen de raíz / Root volume (ml)	Relación parte aérea raíz / Shoot/root
Limón / Lemon 'Volkameriano'	40.14 a ^z	30.08 a	2.12 a
Citrumelo 'Swingle'	31.74 b	26.08 ab	1.46 b
Citrangle 'Carrizo'	27.08 b	21.69 b	1.39 b
CV	10.21	28.42	32.45
DMSH / HSD	5.43	4.40	0.29

^zLetras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación; DMSH: Diferencia mínima significativa honesta.

^zSimilar letters in the same column are not statistically different (Tukey, $P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation; HSD: Honestly Significant Difference.

CUADRO 4. Pruebas de comparación de medias para longitud y volumen de raíz, relación parte aérea/raíz en plantas con malformación en raíz, diez meses después del trasplante.

TABLE 4. Means comparison tests for root length and volume, shoot/root in plants with root malformation, ten months after transplanting.

Malformación en raíz ^w / Root malformation ^w	Longitud de raíz / Root lenght (cm)	Volumen de raíz / Root volume (ml)	Relación parte aérea/ raíz / Shoot/root
Testigo / Control	33.204 a ^z	24.179 b	1.69 a
Malformación / Malformation 1	33.875 a	30.458 a	1.63 a
Malformación / Malformation 2	31.638 a	23.996 b	1.65 a
Malformación / Malformation 3	33.242 a	25.176 ab	1.67 a
CV	27.59	28.42	32.45
DMSH / HSD	6.887	5.579	0.36

^zLetras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación; DMSH: Diferencia mínima significativa honesta.

^wTestigo = raíz recta; malformación 1 = raíz sinuosa; malformación 2 = raíz con dos ángulos $\leq 90^\circ$; malformación 3 = raíz con tres ángulos $\geq 90^\circ$.

^zSimilar letters in the same column are not statistically different (Tukey, $P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation; HSD: Honestly Significant Difference.

^wControl = straight root; malformation 1 = sinuous root; malformation 2 = root with two angles $\leq 90^\circ$; malformation 3 = root with three angles $\geq 90^\circ$.

con M1 y M3 fueron iguales entre sí, pero superaron al testigo (Cuadro 4). En la interacción malformación/portainjerto, Citrumelo 'Swingle', el volumen de raíz con malformación (M1, M2 y M3) fue superior a Limón 'Volkameriano' y Citrange 'Carrizo' (Figura 3).

Materia seca de hojas, tallo y raíz

No se encontró interacción entre portainjerto y malformación de raíz para materia seca de hojas, tallo y raíz, pero si hubo efecto del portainjerto (Cuadro 1). Limón 'Volkameriano' acumuló mayor cantidad de materia seca en hojas y tallo

served rootstock effect (Table 1). 'Volkamerian' Lemon accumulated higher amount of dry matter in leaves and stem than Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo'; however, the amount of dry matter accumulated in root was equal to that of Citrumelo 'Swingle' and both were superior to Citrange 'Carrizo' (Table 5). Root malformation did not affect the accumulation of dry matter in leaves, stem and root.

Shoot/root ratio

Dry weight ratio of shoot/root is in part a function of the rootstock, and was higher in 'Volkamerian' Lemon with a

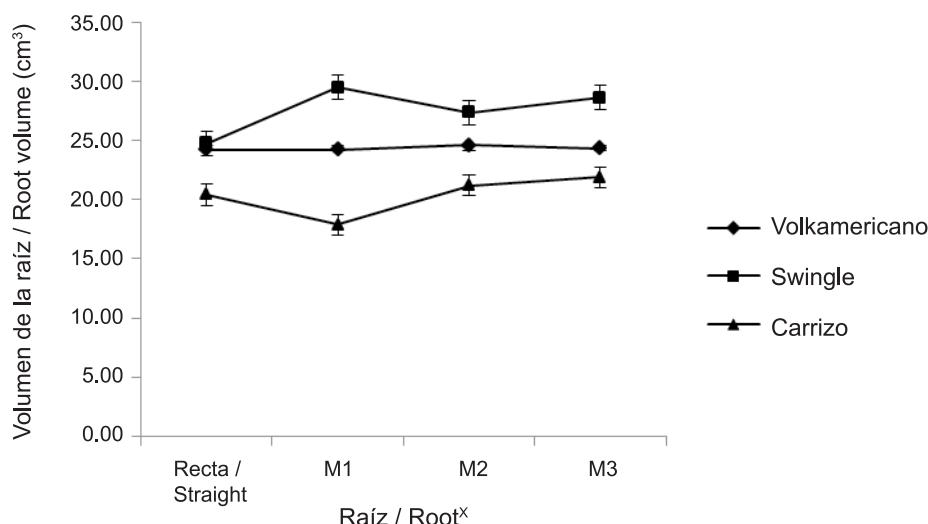


FIGURA 3. Interacción entre portainjertos y malformación de la raíz para volumen de raíz de tres portainjertos, diez meses después del trasplante. ^xRaíz recta = testigo; M1 = raíz sinuosa; M2 = raíz con dos ángulos $\geq 90^\circ$; M3 = raíz con tres ángulos $\leq 90^\circ$.

FIGURE 3. Interaction between rootstocks and root malformation for root volume of three rootstocks, ten months after transplanting. ^xStraight root = control; M1 = sinuous root; M2 = root with two angles $\geq 90^\circ$; M3 = root with three angles $\leq 90^\circ$.

CUADRO 5. Pruebas de comparación de medias para materia seca en hoja, tallo y raíz en tres portainjertos de cítricos, diez meses después del trasplante.

TABLE 5. Mean comparison tests for leaf, stem and root dry matter in three citrus rootstocks, ten months after transplanting.

Portainjerto / Rootstock	Materia seca / Dry matter (g)		
	Hoja / Leaf	Tallo / Stem	Raíz / Root
Limón / Lemon 'Volkameriano'	4.7 a ^z	13.7 a	8.8 a
Citrumelo 'Swingle'	1.9 b	10.0 b	8.7 a
Citrango 'Carrizo'	1.2 b	8.5 b	6.5 b
CV	56.9	40.18	22.70
DMSH / HSD	0.9	2.6	1.1

^zLetras iguales en la misma columna no difieren estadísticamente (Tukey, $P \leq 0.05$); CV: Coeficiente de variación, DMSH: Diferencia mínima significativa honesta.

^zSimilar letters in the same column are not statistically different (Tukey, $P \leq 0.05$); CV: Coefficient of variation; HSD: Honestly Significant Difference.

que Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo'; sin embargo, la cantidad de materia seca acumulada en la raíz fue igual a la de Citrumelo 'Swingle' y ambos fueron superiores a Citrange 'Carrizo' (Cuadro 5). La malformación de la raíz no afectó la acumulación de materia seca en hojas, tallo y raíz.

Relación parte aérea/raíz

La relación peso seco de parte aérea/raíz está en función del portainjerto, y fue mayor en Limón 'Volkameriano' con valor de 2.12, mientras que en Citrumelo 'Swingle' y Citrange

value of 2.12, while Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' had 1.46 and 1.39, respectively (Table 3). Root malformation, at least during the study period, showed no effect on this variable (Table 4).

DISCUSSION

The rapid growth of the stem of 'Volkamerian' Lemon has been reported by Girardi *et al.* (2007), who affirm that it is a vigorous rootstock, in nursery. 'Volkamerian' Lemon also had greater stem diameter, indicating that the two

'Carrizo' fue de 1.46 y 1.39, respectivamente (Cuadro 3). La malformación en raíz, al menos durante el periodo de estudio, no mostró efecto para esta variable (Cuadro 4).

DISCUSIÓN

El rápido crecimiento del tallo de Limón 'Volkameriano' ha sido señalado por Girardi *et al.* (2007), quienes afirman que es un portainjerto vigoroso en vivero. También Limón 'Volkameriano' tuvo mayor diámetro del tallo, lo que indica que ambas variables están relacionadas. El diámetro de tallo tiene mucha importancia en vivero debido a que el injerto se realiza cuando el tallo es mayor a 0.55 cm (Girardi *et al.*, 2007). Limón 'Volkameriano' alcanza más rápido este grosor, lo que representa menor tiempo en vivero, costos de producción más bajos y una excelente alternativa para los viveristas.

El área foliar y número total de hojas de Limón 'Volkameriano' son mayores que en Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo', lo cual explica el sobresaliente vigor de este portainjerto, debido al mayor aparato fotosintético.

Cuando la malformación de la raíz afecta el área foliar, se puede estar afectando la disponibilidad de agua por la planta. Se ha reportado que la restricción hídrica disminuye el área foliar en vid, lo cual es una adaptación al estrés hídrico moderado pero continuo (Klamkowski y Treder, 2008). La reducción en la superficie transpiratoria es una adaptación a la falta de agua (Gonçalves *et al.*, 2007), debido a que las obstrucciones causadas por el desarrollo de anomalías vasculares pueden reducir la conductividad hídrica del sistema. Se esperaba que el área foliar en plantas con malformación disminuyera, pero la respuesta observada no concuerda con lo indicado en otras especies y se desconocen las causas de este comportamiento.

Se reconoce que las plantas poseen plasticidad fenotípica, ya que responden morfológicamente a las condiciones ambientales (Weiner, 2004). Lo anterior se basa en la teoría del balance funcional. Esta 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 (McCarthy y Enquist, 2007). En este caso, la obstrucción en el sitio de la malformación puede disminuir el transporte, aun cuando el agua del suelo no sea 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). En este caso, las plantas no están respondiendo a una condición del ambiente, sino a una limitación propia. Las plantas poseen mecanismos que les permiten adaptarse a las condiciones del medio (Cambrón *et al.*, 2013).

La mayor longitud de raíz de Limón 'Volkameriano' coincide con lo indicado por Girardi *et al.* (2007), quienes reportaron que los portainjertos más vigorosos presentan mayor desarrollo radical, producto del equilibrio entre el

variables are related. Stem diameter is very important in nursery because grafting is performed when the stem is greater than 0.55 cm (Girardi *et al.*, 2007). 'Volkamerian' Lemon reaches faster this thickness, representing less time in nursery, lower production costs and an excellent alternative for nursery men.

Leaf area and total number of leaves of 'Volkamerian' Lemon are greater than Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo', which explains the remarkable vigor of this rootstock, due to greater photosynthetic apparatus.

It has been reported that water stress decreases leaf area in grapes, which is an adaptation to moderate but steady water stress (Klamkowski and Treder, 2008). The reduction in the transpiration surface is adapted to the lack of water (Gonçalves *et al.*, 2007), because the obstructions caused by the development of vascular abnormalities can reduce the water system conductivity. It was expected that leaf area in plants with malformation decreased, but the response observed is not consistent with that indicated in other species and the causes of this behavior are unknown.

It is recognized that plants possess phenotypic plasticity, as they respond morphologically to environmental conditions (Weiner, 2004). This is based on the theory of functional balance, which indicates that a plant optimizes the partition of biomass between roots and shoots in response to the varying access between roots and shoot resources (McCarthy and Enquist, 2007). In this case, the obstruction at the site of the malformation can reduce the transport, even when the soil water is not limiting. The increase in leaf area implies greater incidence area of radiation, and therefore greater transpiration and photosynthesis (Pire *et al.*, 2007). In this case, plants are not responding to an environmental condition, but to an own limitation. Plants have mechanisms that allow them to adapt to environmental conditions (Cambrón *et al.*, 2013).

The greater root length of 'Volkamerian' Lemon agrees with that indicated by Girardi *et al.* (2007), who reported that the most vigorous rootstocks have greater root development, result of the balance between root and shoot development (Hsiao, 2000). The vigor of the rootstock is important because in the case of 'Volkamerian' Lemon, it remains less time in the nursery to be grafted, while Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' require more time to reach the diameter to be grafted.

Root malformation did not affect length, but the volume was affected. The lack of statistical differences among the types of malformation (M1, M2 and M3) for root length may be because the variable evaluation time was short and did not allow the effect to manifest. M1 (sinuous) showed greater volume due to different proportions of primary root and secondary roots. It is known that root development is important because the absorption of water and nutrients

desarrollo de la raíz y la parte aérea (Hsiao, 2000). El vigor del portainjerto es importante porque en el caso de Limón 'Volkameriano' permanece menos tiempo en vivero para ser injertado, mientras que Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo' requieren de mayor tiempo para alcanzar el diámetro para ser injertados.

La malformación en raíz no afectó su longitud, pero sí su volumen. La falta de diferencias estadísticas entre los tipos de malformación (M1, M2 y M3) para longitud de raíz puede deberse a que el tiempo de evaluación de la variable fue corto y no permitió que se manifestara el efecto. La M1 (sinuosa) presentó mayor volumen, debido a diferentes proporciones de raíz principal y raíces secundarias. Se conoce que el desarrollo de la raíz es importante porque de esta estructura depende la absorción de agua y nutrientes para los procesos fisiológicos. Se ha observado que en algunas especies es común encontrar variación en la asignación de recursos en función de las necesidades de las plantas (Fassio *et al.*, 2009; Córdoba-Rodríguez *et al.*, 2011).

El contenido de materia seca es un indicador del carbono fijado por la planta, y Limón 'Volkameriano' fue el portainjerto más eficiente, puesto que superó a Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo' Carrizo en hojas, tallo y raíz. Esto se relacionó con la distribución de fotoasimilados, ya que 17.28 % de materia seca total se encontró en las hojas, órgano responsable de la fotosíntesis. En cambio, Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo' acumularon 9.2 % y 7.4 %, respectivamente (McCarthy y Enquist, 2007).

La relación parte aérea/raíz se utiliza para determinar la distribución de fotoasimilados entre brotes y raíces. Cada especie envía los recursos hacia determinados órganos, distribución que es afectada por las condiciones ambientales donde se desarrollen las plantas (McCarthy y Enquist, 2007). En el caso de Limón 'Volkameriano' la relación de 2.12 indica que hubo mayor flujo de fotoasimilados para el desarrollo de la parte aérea de la planta. La relación encontrada en Citrumelo 'Swingle' y Citrange 'Carrizo' (1.46 y 1.39, respectivamente) mantuvo la misma tendencia con menor distribución de fotoasimilados hacia el desarrollo de hojas y tallo, y más hacia raíz, comparado con Limón 'Volkameriano'. Se ha determinado que el vigor temprano de las plantas depende de su arquitectura y la partición de fotoasimilados (Luquet *et al.*, 2005). Las diferencias entre portainjertos pueden estar relacionadas con la respuesta de éstos a condiciones limitantes de agua, como en el caso de riego deficitario o estrés por sequía (Pérez-Pérez *et al.*, 2008). Mayor relación parte aérea/raíz implica más área foliar y, por lo tanto, mayor superficie transpiratoria, lo que resulta en mayor absorción y transporte de agua y nutrientes.

CONCLUSIONES

No se encontraron diferencias en el crecimiento y desarrollo de las plantas con malformación en raíz y sin ella.

for physiological processes depends on this structure. It has been observed that in some species is common to found variation in the allocation of resources according to the needs of plants (Fassio *et al.*, 2009; Córdoba-Rodríguez *et al.*, 2011).

Dry matter content is an indicator of fixed carbon per plant. 'Volkamerian' Lemon was the most efficient rootstock, since it surpassed Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' in leaves, stem and root. This was related to the distribution of photo assimilate, as 17.28 % of total dry matter was found in the leaves, organ responsible for photosynthesis. Instead Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' accumulated 9.2 % and 7.4 %, respectively (McCarthy and Enquist, 2007).

The shoot/root ratio is used to determine the distribution of photo assimilates between shoots and roots. Each species sends resources to target organs, distribution that is affected by environmental conditions where plants develop (McCarthy and Enquist, 2007). For 'Volkamerian' Lemon the ratio of 2.12 indicates that there was increased flow of photo assimilates for the development of the shoot of the plant. The relation found in Citrumelo 'Swingle' and Citrange 'Carrizo' (1.46 and 1.39, respectively) had the same trend with lower distribution of photo assimilates toward developing leaves and stem, and more toward root, compared with 'Volkamerian' Lemon. It has been determined that the early vigor of the plants depends on their structure and partitioning of photo assimilates (Luquet *et al.*, 2005). Rootstocks differences may be related to their response to water limiting conditions, as in the case of deficit irrigation or drought stress (Pérez-Pérez *et al.*, 2008). Greater shoot/root ratio involves greater leaf area and, therefore, greater transpiration surface, resulting in increased absorption and transport of water and nutrients.

CONCLUSIONS

No differences were found in growth and development of plants with or without root malformation.

Root malformation only affected the leaf area and root volume, ten months after transplanting.

'Volkamerian' Lemon is the most vigorous rootstock and reaches the right features for grafting compared to Citrange 'Carrizo' and Citrumelo 'Swingle'.

End of English Version

Diez meses después del trasplante, la malformación en raíz afectó únicamente el área foliar y el volumen de raíz.

Limón 'Volkameriano' es el portainjerto más vigoroso y alcanza las características adecuadas para injertarse antes que Citrange 'Carrizo' y Citrumelo 'Swingle'.

LITERATURA CITADA

- ANÓNIMO. 2000. The SAS System Release 9.2 Cary, N.C. SAS Institute Inc.
- ANÓNIMO. 2013. FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations. http://faostat3.fao.org/home/index_es.html?locale=es#. Fecha de Consulta: Mayo de 2013.
- AMOROSO, G.; FRANGI, P.; PIATTI, R. 2010. Effect of container design on plant growth and root deformation of littleleaf Linden and field Elm. *HortScience* 45(12): 1824-1829. <http://hortsci.ashpublications.org/content/45/12/1824.full>
- CAMBRÓN S., V. H.; SUZÁN, A. H.; VARGAS, H. J. J.; SÁNCHEZ, V. N.M.; SÁENZ-ROMERO, C. 2013. Estrategias de crecimiento y distribución de biomasa en *Pinus pseudostrobus* bajo diferentes condiciones de competencia. *Revista Fitotecnia Mexicana* 36(1): 71-79. www.revistafitotecniamexicana.org/documents/36-1/8a.pdf
- CASTLE, W. S.; NUNNALLEE J. 2009. Screening Citrus rootstocks and related selections in soil and solution culture for tolerance to Low-iron Stress. *HortScience* 44(3): 638-645. <http://hortsci.ashpublications.org/content/44/3/638.short>
- CÓRDOBA-RODRÍGUEZ, D; VARGAS-HERNÁNEZ, J. J.; LÓPEZ- UPTÓN, J.; MUÑOZ-OROZO, A. 2011. Crecimiento de la raíz en plantas jóvenes de *Pinus pineana* Gordon en respuesta a la humedad del suelo. *Agrociencia* 45(4): 493-506. <http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2011/may-jun/art-8.pdf>
- CRUIZIAT, P.; COCHARD, H.; AMÉGLIO, T. 2002. Hydraulic architecture of trees: main concepts and results. *Annals for Forest Science* 59(7): 723-752. doi: 10.1051/forest:2002060
- CRUZ F. M. 2006. Nuevos Patrones para Mandarino Dancy en la Huasteca Potosina. SAGARPA-INIFAP. 26 p. www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2007/may-jun/art-7.pdf
- FASSIO, C.; HEATH, R.; ARPAIA, R. L.; CASTRO, M. 2009 Sap flow in 'Hass' avocado trees on two clonal rootstocks in relation to xylem anatomy. *Scientia Horticulturae* 120: 8-13. doi: 10.1016/j.scienta.2008.09.012
- GARCÍA-SÁNCHEZ F; SYVERTSEN, J. P.; GIMENO, V.; BOTÍA, P.; PÉREZ-PÉREZ, J. G. 2007. Responses to flooding and drought stress by two citrus rootstock seedlings with different water-use efficiency. *Physiologia Plantarum* 130(4): 532-542. doi: 10.1111/j.1399-3054.2007.00925.x
- GIMENO, V., SYVERTSEN, J. P.; NIEVES, C. B. M.; SIMÓN, C. I.; MARTÍNEZ, A. V.; GARCÍA-SÁNCHEZ, F. 2009. Additional nitrogen fertilization affects salt tolerance of lemon trees on different rootstocks. *Scientia Horticulturae* 121(3): 298-305. doi: 10.1016/j.scienta.2009.02.019
- GIRARDI, E. A.; MAOURAO, F. A. A.; KLUGE, R. A. 2007. Effect of seed coat removal and controlled-release fertilizer application on plant emergence and vegetative growth of two citrus rootstocks. *Fruits* 62(1): 13-19.
- GONÇALVES, B.; CORREIRA, C. M.; SILVA, A. P.; BACELAR, E. A.; SANTOS, A.; FERREIRA, H.; MOUTINHO-PEREIRA, J. M. 2007. Variation in xylem structure and function in roots and stems of scion-rootstock combinations of sweet cherry tree (*Prunus avium* L.). *Trees* 21(2): 121-130.
- HSIAO, T. C. 2000. Leaf and root growth in relation to water status. *HortScience* 35 (6):1051-1058. doi: 10.1051/fruits:2006044
- KLAMKOWSKI, K; TREDE, W. 2008. Response to drought stress of three strawberry cultivars grown under greenhouse conditions. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 16: 179-188. www.nawadnianie.inhort.pl/add/article/full17%202008.pdf
- LUQUET, D.; ZHANG, B. G.; DINGKUHN, M.; DEXET, A.; VIDAL, A. C. 2005. Phenotypic plasticity of rice seedlings: case of phosphorus deficiency. *Plant Production Science* 8 (2): 145-151. doi: 10.1626/pps.8.145
- McCARTHY, M. C.; ENQUIST, B. J. 2007. Consistency between an allometric approach and optimal partitioning theory in global patterns of plant biomass allocation. *Functional Ecology* 21(4): 713-720. doi: 10.1111/j.1365-2435.2007.01276.x
- McCOLLOH, A.; SPERRY, J. S. 2005. Patterns in hydraulic architecture and their implications for transport efficiency. *Tree Physiology* 25(3): 257-267. doi: 10.1093/treephys/25.3.257
- ORTEGA, U; MAJADA, J.; MENA-PETITE, A.; SÁNCHEZ-ZABALA, J.; RODRÍGUEZ-ITURRIZAR, N.; TXARTERINA, K.; AZPITARTE, J.; DUÑA-ABEITIA, M. 2006. Field performance of *Pinus radiata* D. Don produced in nursery with different types of containers. *New Forests* 31(1): 97-112. doi: 10.1007/s11056-004-7364-6
- PÉREZ-PÉREZ, J. G.; ROMERO, P.; NAVARRO, J.M.; BOTÍA, P. 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(2): 415-425. doi: 10.1007/s00271-008-0106-3
- PIRE, R; PEREIRA, A.; DÍEZ, J.; FERERES, C.E. 2007. Evaluación de la tolerancia a la sequía de un portainjerto venezolano de vid y posibles mecanismos condicionantes. *Agrociencia* 41(4): 435-446. <http://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2007/may-jun/art-7.pdf>
- SHÄFER, G.; DUTRA S., P.V.; SCHÜÜR, D.R.H.; CUNHA, D.A.L. 2005. Substratos na emergência de plântulas e expressão da poliembrionia em porta-enxertos de citros. *Ciência Rural*, Santa Maria 35(2): 471-474. doi: 10.1590/S0103-84782005000200039
- SHINDE, B. N.; PATIL, V.K. KALALBANDI, B.M. 2007. Studies on germination and polyembryony of different citrus rootstocks seedling at nursery stage. *Asian Journal of Horticulture* 2(1): 180-183. [http://www.researchjournal.co.in/online/TAJH/TAJH%202\(1\)/2_A-180-183.pdf](http://www.researchjournal.co.in/online/TAJH/TAJH%202(1)/2_A-180-183.pdf)
- SZEWCZYK, W.; LECHTAŃSKI, S. 2008. Deformation of scots pine root system in young plantation and the threat by root pathogens. *Acta Scientiarum Polonorum* 7(2): 39-43. www.forestry.actapol.net/pub/4_2_2008.pdf
- WEINER, J. 2004. Allocation, Plasticity and Allometry in plants. *Perspectives in Plant Ecology Evolution and Systematics* 6(4): 207-215. doi: 10.1078/1433-8319-00083