

Compatibilidad de injerto en frutales



AUTOR: Ana Pina. Unidad de Fruticultura. Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria de Aragón

Introducción

El injerto es la técnica de multiplicación más utilizada en fruticultura, tanto para la obtención de nuevas plantas como para propagar las variedades existentes. El árbol frutal comercial es en general la asociación de dos entes, el patrón que proporciona el sistema radicular y la variedad que aporta la parte área, a los que se hace vivir en estrecha dependencia mediante el injerto (Fig. 1a). Puede ocurrir que estos dos individuos que integran el árbol frutal vivan en armonía formando una unión satisfactoria o que de lo contrario, manifiesten de maneras diversas su falta de afinidad y den lugar a los casos de incompatibilidad (Felipe, 1989). En general, son compatibles los cultivares y especies muy relacionados y también algunos géneros próximos, pero plantas más alejadas taxonómicamente manifiestan incompatibilidad casi siempre.

El problema de incompatibilidad asumió especial importancia en la fruticultura comercial con el aumento de la demanda no solo de nuevas variedades sino también de nuevos patrones. El patrón determina el control del crecimiento, la tolerancia a diversos suelos, compatibilidad del injerto, el aporte y balance de nutrientes, calidad de los frutos y eficiencia de la cosecha. La búsqueda y utilización de portainjertos alternativos requiere la elección de aquellos que se adapten a las condiciones del suelo, y que posean una buena afinidad con la variedad que se vaya a injertar sin plantear problemas de compatibilidad.

Es por ello que en los programas de selección de nuevos patrones y variedades, el estudio de la compatibilidad de injerto con las variedades de mayor interés comercial es un criterio de selección indispensable. Sin embargo, los estudios tradicionales sobre la compatibilidad de injerto han abordado el problema una vez que éste se ha producido, y con frecuencia esta manifestación ocurre tras varios años de crecimiento normal en vivero, lo que hace que los estudios de determinación de la incompatibilidad, aunque son abundantes y fiables, puedan demorarse varios años hasta obtener la respuesta correspondiente. Esto da lugar a pérdidas por el tiempo transcurrido de: mano de obra, material vegetal y en definitiva medios que más tarde van a resultar infructuosos. Por tanto, se hace necesaria la búsqueda y aplicación de otros estudios que determinen este problema en una fase más temprana.



Aragón es una importante productora de frutas.

Métodos tradicionales en el estudio de la compatibilidad patrón-variedad

Los métodos tradicionales para determinar el grado de compatibilidad de distintos patrones con las variedades más interesantes desde el punto de vista comercial y agronómico se caracterizan por una serie de observaciones de los síntomas externos una vez que el problema ya se ha manifestado. Se evalúan las anomalías vegetativas en los árboles y en las hojas así como las roturas producidas en los árboles sometidos al forzado mecánico mediante inclinación de los árboles en sentido contrario a las soldaduras de los injertos (Fig. 1b). Las observaciones relativas a la estructura interna de las uniones se hace sobre la superficie interior (Fig. 1c y 1d) tras un corte longitudinal de las mismas. Posteriormente se clasifican según el grado de perfección de su estructura interna, siguiendo el criterio descrito por Herrero (1951) en cinco categorías denominadas A, B, C, D y E que abarcan desde uniones perfectas (A: la línea de unión entre patrón y variedad es imperceptible o ligeramente perceptible por distinta coloración de las maderas) hasta uniones que rompen al forzarlas o con un elevado grado de discontinuidad en la madera (E).

figura 1

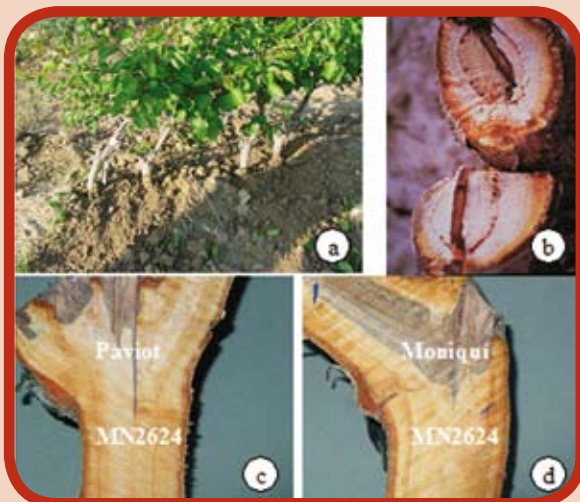
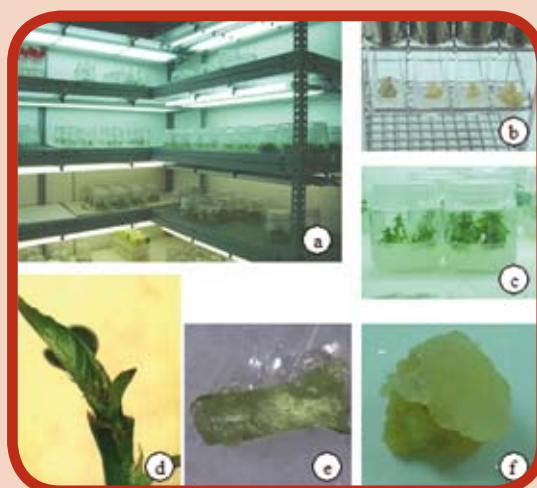


figura 2



Desarrollo y aplicación de técnicas de cultivo in vitro

El cultivo de tejidos vegetales o plantas in vitro ofrece una amplia gama de oportunidades para mejorar la eficiencia en los procesos de selección dentro de los procesos de mejora genética, especialmente en el caso de especies frutales (Fig. 2a-c). Se utiliza como técnica de micropropagación, saneamiento y conservación de nuevas variedades, así como saneamiento de variedades susceptibles a determinadas patologías.

La utilización de las técnicas de cultivo in vitro en los programas de mejora ha sido descrita para la evaluación patrón-variedad de las nuevas selecciones de frutales obtenidas. Entre las principales ventajas que presenta es que permite establecer un amplio número de microinjertos en condiciones controladas en un corto periodo de tiempo y espacio reducido, así como acelerar el crecimiento y desarrollo de las plantas. La aplicación de cultivos de callos y microinjertos (Fig. 2d-f) en el estudio de la compatibilidad es un sistema rápido y fidedigno en el estudio de los procesos celulares que tienen lugar en la superficie de unión. Estudios de este tipo se han realizado en combinaciones peral sobre membrillero, albaricoquero sobre distintos patrones de Prunus y en manzano, revelando que existe correlación entre las repuestas celulares que se producen in vivo e in vitro (Fig. 3a y b).

Aplicación de técnicas histológicas para el conocimiento del desarrollo del injerto

La gran variedad de genotipos que pueden ser combinados mediante el injerto produce un amplio número de diferentes interacciones anatómicas, fisiológicas o bioquímicas; reflejando la diversidad de factores relacionados con la incompatibilidad y la complejidad del problema. Como mencionamos anteriormente se hace necesario un estudio a corto plazo del problema retrocediendo en los acontecimientos que determinarán la formación del injerto. Mediante observaciones microscópicas es posible un mayor conocimiento de los procesos que están implicados en las distintas etapas de formación del injerto, y de este modo lograr detectar el problema en sus fases iniciales: adhesión patrón-variedad, formación del tejido de callo, diferenciación de las células del callo hacia nuevo cambium y la formación de nuevos tejidos vasculares (xilema y floema) por el nuevo cambium.

Actualmente, las líneas de investigación propuestas por distintos grupos abordan el estudio de estos procesos intentando llegar a las causas del problema, antes incluso de que tenga lugar otro síntoma de incompatibilidad. Los estudios sobre compatibilidad en sus fases iniciales se han centrado en los últimos años en plantas herbáceas y se han planteado algunas teorías que podrían explicar el proceso de la incompatibilidad. Ensayos de translocación en microinjertos han revelado cambios estructurales

figura 3

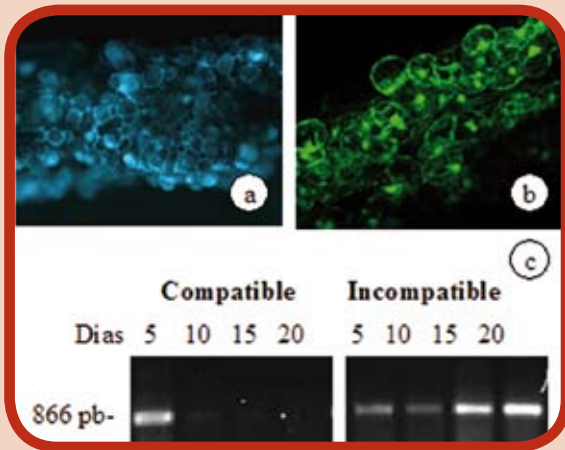
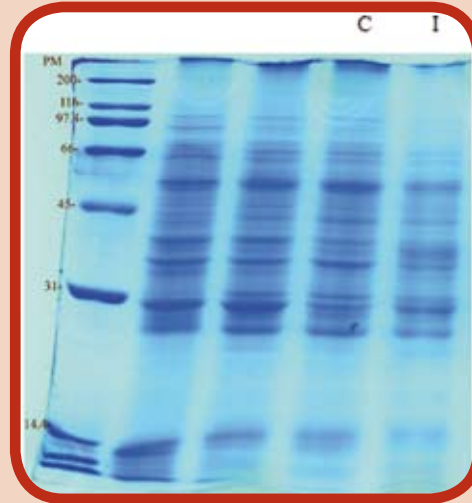


figura 4



LEYENDAS DE FIGURAS

Figura 1. a) Desarrollo de la variedad de albaricoquero 'Paviot' injertada sobre el patrón ciruelo de crecimiento rápido 'Mariana 2624' a los tres años de injerto en vivero. b) Rotura por la unión de la combinación incompatible formada por la variedad de albaricoquero 'Moniquí' sobre 'Mirobolán 605'. c) Superficie interna de una combinación compatible de tres años formada por la variedad de albaricoquero 'Paviot' sobre el patrón 'Mariana 2624'. Se observa una buena continuidad vascular entre el patrón y la variedad. d) Discontinuidad en las conexiones vasculares en la combinación incompatible de tres años de la variedad 'Moniquí' injertada sobre el patrón 'Mariana 2624'.

Figura 2. Evaluación de la reacción de compatibilidad in vitro. a) Cámara de cultivo in vitro en la unidad de fruticultura del CITA. b y c) Cultivo de callo y obtención de planta in vitro de especies frutales. d) desarrollo de un microinjerto de 1 mes. e y f) combinaciones de tallo y callo establecidas in vitro para el estudio de las respuestas celulares durante la formación de la unión.

Figura 3. Observaciones microscópicas mostrando la formación de células de callo en combinaciones establecidas in vivo (a) e in vitro (b). Diferencias detectadas en el nivel de expresión de la enzima PAL entre uniones compatibles e incompatibles mediante RT-PCR (c).

Figura 4. Electroforesis de proteínas mediante SDS-PAGE. Se observa distinto perfil proteico entre combinaciones de callo compatibles (C) e incompatibles (I) después de dos semanas del establecimiento de la unión.

que tienen lugar ya en las fases iniciales, y se ha visto que aparecen problemas de incompatibilidad ya a nivel celular, haciendo posible el estudio de su mecanismo en tejidos que aun no se han diferenciado. A pesar de estos avances, son muy escasos los trabajos que se realizan en plantas leñosas. Una de las líneas de investigación que se desarrolla en la unidad de fruticultura del CITA de Zaragoza es la detección de todos estos procesos en árboles frutales. Estos estudios han puesto de manifiesto que, mientras que no se observan diferencias en el desarrollo externo de la unión, sí se observan diferencias en las primeras semanas de desarrollo, cuando el callo inicial diferencia hacia conexiones vasculares. El comportamiento de estas células determina la futura respuesta de injerto, puesto que una falta de diferenciación afecta al desarrollo de nuevo xilema y floema, causando discontinuidades en la unión. El contenido y naturaleza de las células implicadas en las primeras etapas de formación pueden jugar un papel muy importante en el desarrollo de las respuestas que llevan a la formación de uniones fuertes y satisfactorias (Errea et al, 2001).

Procesos bioquímicos asociados a la compatibilidad de injerto

Los compuestos fenólicos han sido analizados por muchos investigadores debido a la amplia variedad de funciones que poseen. Entre ellas cabe citar su implicación en los procesos de incompatibilidad de injerto; fundamentalmente por su participación en la ruta de síntesis de la lignina, cuya alteración podría provocar acumulaciones que afectarían negativamente al desarrollo de conexiones normalmente lignificadas. La relación existente entre las acumulaciones de algunos de estos compuestos con los problemas de incompatibilidad que presentan distintas combinaciones ha sido también estudiada en árboles frutales, determinándose que estas diferencias en el contenido fenólico de combinaciones de injerto puede resultar en disfunciones metabólicas entre las células pertenecientes tanto al patrón como a la variedad.

Recientes estudios realizados en el CITA sobre las respuestas iniciales de incompatibilidad han abierto una nueva vía de investigación al determinar, mediante la aplicación de técnicas de biología celular y molecular, un aumento en la expresión de una enzima, la fenilalanina amonio liasa (PAL) implicada en la ruta fenilpropanoide en uniones incompatibles (Fig. 3c), que refleja una falta de adaptación entre las dos partes que forman la unión (Pina y Errea 2007). Asimismo, se han observado también diferencias en el perfil proteico (Fig. 4) entre uniones compatibles e incompatibles (Pina 2006), lo cual abre una vía de estudio que permitirá determinar a muy corto plazo el futuro desarrollo de una combinación de injerto.

Perspectivas

El creciente interés que existe desde hace unos años en la obtención y selección de patrones de posible uso para varias especies frutales así como la continua renovación varietal obliga a plantear un enfoque de los estudios de compatibilidad a corto plazo antes de que aparezcan en campo los síntomas externos. Como hemos mencionado anteriormente, en el CITA se están llevando a cabo trabajos que pretenden desarrollar y optimizar métodos para la detección precoz de la incompatibilidad de injerto. En este sentido, la combinación de técnicas histoquímicas con herramientas de biología molecular permitirá disponer de una información de gran valor en relación al comportamiento del injerto en sus fases iniciales, que en frutales supone un importante avance para determinar la futura respuesta de compatibilidad de las combinaciones de injerto con el fin de poder informar a los fruticultores para una elección adecuada del material vegetal que deben plantar.

Agradecimientos

Este trabajo es posible gracias a la financiación y ayuda obtenida del Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria (INIA), proyecto RTA06-00087.

Bibliografía

- Errea P, Garay L, Marin JA. 2001. "Early detection of graft incompatibility in apricot (*Prunus armeniaca*) using in vitro techniques". *Physiol Plantarum* 112: 135-141.
- Felipe A. 1989. "Patrones para frutales de pepita y hueso". Ediciones Técnicas Europeas S.A. Barcelona, España.
- Herrero J. 1951. "Studies of compatible and incompatible graft combinations with special reference to hardy fruit trees". *J. Hort. Sci.* 26 (3): 186-237.
- Pina A. 2006. "Caracterización Fisiológica y Bioquímica de las Respuestas que Intervienen en la Incompatibilidad de Injerto en Albaricoquero (*Prunus armeniaca* L.)". Tesis doctoral.
- Pina A, Errea P. 2007. "Differential induction of phenylalanine ammonia-lyase gene expression in response to in vitro callus unions of *Prunus* spp." *J Plant Physiology* doi: 10.1016/j.jplph.2007.05.015.