

# CARACTERÍSTICAS ANATÓMICAS DE RAÍCES ADVENTICIAS EN ESTACAS DE SEMERUCO (*Malpighia emarginata* DC) TRATADAS CON ÁCIDO INDOLBUTÍRICO<sup>1</sup>

Libia Laskowski<sup>2</sup> y Dámaso Bautista<sup>3</sup>

## RESUMEN

El presente estudio describe los cambios anatómicos durante el proceso de enraizamiento de estacas leñosas de semeruco tratadas o no con ácido indolbutírico (AIB), así como las características histológicas de las raíces adventicias originadas. Se obtuvieron raíces adventicias a intervalos semanales en diferentes estados de desarrollo, las cuales fueron estudiadas anatómicamente mediante técnicas usuales de microtecnia vegetal. Al inicio las estacas presentaron, a nivel de la corteza, un anillo discontinuo de fibras perifloemáticas, floema secundario con abundantes drusas y xilema secundario con tejido básico fibrilar, parénquima escaso y vasos solitarios o en grupos. En la tercera semana, las estacas tratadas con AIB iniciaron una actividad cambial muy intensa, con proliferación de tejido parenquimático y desplazamiento de los cordones de fibra y el floema hacia la corteza. Durante la cuarta semana, el tejido vascular inició su diferenciación y comenzó la emergencia de las primeras raíces adventicias. Estas raíces presentaron tejido vascular primario con cuatro polos de protoxilema desde el ápice hasta más o menos 1,5 cm de su longitud, punto a partir del cual se observó la diferenciación de tejido secundario, con características similares a las del tallo, caracterizado por poseer xilema con abundante tejido fibrilar, vasos solitarios o en grupos de 2 a 6, de longitud corta y diámetro pequeño. La emergencia de las raíces adventicias se hizo visible en la superficie de las estacas leñosas después de la cuarta semana. En las estacas no tratadas, los eventos secuenciales de la iniciación y formación así como la histología de las raíces adventicias fueron similares a las observadas en las estacas tratadas con AIB, aunque la iniciación presentó un retraso de 7 a 10 días.

**Palabras clave adicionales:** Enraizamiento, anatomía radical

## ABSTRACT

### Anatomical characteristics of adventitious roots in cuttings of acerola (*Malpighia emarginata* DC) treated with indol butiric acid

Anatomical changes occurring through the rooting process of acerola wooden cuttings treated with indol butiric acid (IBA) and the anatomical characteristics of adventitious roots were studied. The adventitious root at different stages of development, both in treated cutting and controls, were sectionated at weekly intervals by a microtome following standard procedures of vegetal microtechnics. The first observed characteristics on cuttings was a discontinuous band of periphloematic fibers, secondary phloem with copious druses and a secondary xylem of basic tissue with fibers and diffuse porous. During the third week, the IBA treated cuttings showed an intense cambial activity with proliferation of parenquimatic radial tissue, pushing aside fiber cords and phloem to the cortex. Through the fourth week, the differentiation of vascular tissues were started and the adventitious root showed primary vascular tissues with four protoxylem poles, from apex to about 1.5 cm in length. Secondary growth showed xylem with numerous fibers, solitary vessels or grouped (2 to 6), with short length and small diameter. The formation of adventitious roots was visible outside the wooden cuttings after the fourth week. All the sequential events of initiation and formation of adventitious root were very similar in treated and untreated cuttings, but the rooting process occurred 7 to 10 days later without IBA applications.

**Additional key words:** Rooting, root anatomy

## INTRODUCCIÓN

La fruta del semeruco (*Malpighia emarginata* DC) es reconocida en el mundo como la de más

alto contenido de ácido ascórbico (Asenjo, 1980; Avilán et al., 1989) y como tal se le cultiva en forma extensiva en Brasil, Puerto Rico y Estados Unidos (Alves et al., 1995; Asenjo, 1980; Ledin,

<sup>1</sup> Trabajo parcialmente financiado por el CDCHT-UCLA.

<sup>2</sup> Dpto. de Ciencias Biológicas, Decanato de Agronomía, Universidad Centoccidental Lisandro Alvarado

<sup>3</sup> Posgrado de Horticultura, Decanato de Agronomía, Universidad Centoccidental Lisandro Alvarado.

Apdo. 400, Barquisimeto. Venezuela. e-mail: damasoba@delfos.ucla.edu.ve

1958; Nakasone et al., 1968). En Venezuela, sin embargo, su cultivo está restringido, con pocas y pequeñas plantaciones comerciales establecidas sin criterios de selección, con material vegetal obtenido por semilla, exhibiendo una gran variabilidad (Avilán et al., 1989; Laskowski y Bautista, 1998). En este sentido, se requieren esfuerzos para la propagación clonal de plantas selectas de semeruco a nivel nacional.

El enraizamiento envuelve una secuencia de eventos fisiológicos e histológicos, los cuales pueden ser divididos en dos fases: a) formación del meristemo radical, lo que ocurre dentro de la estaca, y b) crecimiento y elongación, fase durante la cual el ápice radical avanza hacia fuera a través de la corteza y finalmente emerge de la epidermis (Garrido et al., 1978; Gaspar y Hofinger, 1988; Hartmann et al., 1990). La velocidad y proporción de ocurrencia de este proceso varía de acuerdo con la especie, perteneciendo el semeruco al grupo de plantas leñosas cuyas estacas son de difícil enraizamiento; sin embargo, la aplicación exógena de ácido indolbutírico bajo condiciones de nebulización incrementa notoriamente el proceso (Nascimento, 1991; Nelson y Goldweber, 1956; Laskowski, 1996).

De acuerdo con estas premisas, se ha logrado la propagación vegetativa por estacas de plantas de semeruco obtenidas de huertos establecidos en las zonas áridas del estado Lara (Laskowski, 1996). Sin embargo, los porcentajes de enraizamiento aún son muy bajos. Ante estas circunstancias se hace relevante conocer detalles anatómicos sobre el proceso. Así, el presente trabajo tiene como objetivo describir el origen de las raíces adventicias en estacas leñosas de semeruco, tratadas y no tratadas con ácido indolbutírico, y las características anatómicas que presentan estos órganos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Material vegetal y ubicación del ensayo.** Las plantas fueron seleccionadas del huerto de semeruco del Posgrado de Horticultura de la UCLA considerando vigor y estado sanitario apropiados. El huerto está ubicado en Tarabana, municipio Palavecino, estado Lara (10° 05' LN; 510 msnm;) con 900 mm de precipitación anual y temperatura promedio de 24,5 °C.

**Procedimiento.** Se colectaron 80 estacas de tallo semileñoso de 1 cm de diámetro, provenientes de 10 plantas de *M. emarginata*; de ellas, un grupo de 40 fue tratado con ácido indolbutírico (AIB) a 5000 mg/kg y el otro grupo, también de 40 estacas, se usó como testigo. Las estacas fueron colocadas para su enraizamiento en bolsas contentivas de una mezcla de arena y cáscara de arroz (1:1 en volumen) bajo condiciones de umbráculo a 60% de sombra y nebulización de 30 segundos cada 5 minutos, desde las 9:00 hasta las 15:00 horas, siguiendo recomendaciones previas para la propagación vegetativa del semeruco (Laskowski, 1996; Nascimento, 1991).

Después de la segunda semana hasta la sexta, seis tallos en proceso de enraizamiento de cada uno de los tratamientos fueron extraídos semanalmente y conservados en mezcla de formaldehído, ácido acético y alcohol etílico al 90 % (FAA) para su estudio histológico, a través de la preparación de láminas permanentes con cortes transversales y longitudinales. Para ello, los trozos de tallo fueron lavados en agua y sometidos a ablandamiento en una mezcla 1:1 de ácido acético glacial y peróxido de hidrógeno al 99% por una semana (Azzini et al., 1996); se lavaron en agua para eliminar el oxidante y se deshidrataron para su inclusión en parafina de acuerdo con las recomendaciones de Roth (1964). Los cortes se realizaron en micrótopo de rotación, coloreados con safranina y montados en láminas con Bálsamo de Canadá para su observación y descripción al microscopio óptico.

Paralelamente, se extrajeron tanto raíces adventicias de los tallos en proceso de enraizamiento como de las plantas del huerto, las cuales fueron conservadas por separado en FAA al 90 % para su caracterización anatómica. De estas muestras se hicieron láminas permanentes con cortes transversales y longitudinales de acuerdo con las técnicas antes descritas. El estudio de estos tejidos se realizó en microscopio de luz con cámara fotográfica Olympus, utilizando 10 láminas con dos cortes cada una en secciones transversal y longitudinal (tangencial y radial) y se determinaron los siguientes parámetros en los elementos de los vasos en el xilema: longitud, diámetro y densidad, es decir, el número de vasos por sección transversal (vasos/mm<sup>2</sup>). La longitud de los vasos se midió utilizando secciones longitudinales; la densidad y el diámetro de los

vasos se midió en secciones transversales, realizando observaciones en la parte más amplia del xilema, coincidente con una línea tangencial y paralela al cambium. En la descripción de los elementos de los vasos se siguieron las recomendaciones de Pérez (1973).

## RESULTADOS

Los eventos secuenciales de la iniciación y formación de raíces adventicias siguieron un patrón similar, tanto en las estacas tratadas con AIB como en las no tratadas. Sin embargo, para estas últimas, el proceso mostró un retardo de 7 a 10 días. Se observó además, en las estacas no tratadas, un menor número de zonas de proliferación celular y una disminución en la formación de parénquima radial en los tallos, dando como consecuencia un número inferior de raíces emergidas con diámetro menor al mostrado por las raíces adventicias de los tallos tratados.

### A. Secuencia de aparición de las raíces adventicias

Las observaciones a lo largo del proceso y su comparación con la anatomía general del tallo (Laskowski, 1996), permitieron establecer las siguientes secuencias histológicas:

- A partir de la tercera semana las estacas de tallo tratadas con AIB mostraron un incremento en la actividad meristemática del cambium, formándose zonas de proliferación celular que se alternan entre sí, pero coincidiendo siempre con los radios del xilema. Estas zonas de proliferación se presentaron en número de 4 a 8, principalmente en el xilema secundario, dando lugar a un incremento de tejido parenquimático radial, de tal manera que este tejido alcanza a la médula del tallo y empuja al floema y a los nódulos de fibras perifloemáticas hacia la corteza (Figura 1A). El incremento celular del radio se muestra como una lente convexa en el corte tangencial del tallo (Figura 1B).

- Durante la cuarta semana, la formación del domo meristemático de la raíz adventicia fue observado nítidamente entre las capas de células parenquimáticas adyacentes al cambium; éste creció en proyección perpendicular empujando al floema y fibras hacia la corteza del tallo (Figura 1C). Durante este período se hicieron

visibles los primeros elementos del xilema de la raíz adventicia en las estacas tratadas, sin conexión con el tejido vascular del tallo (Figura 1C). Simultáneamente, tanto la actividad del felógeno como el número de lenticelas tendieron a incrementarse en las estacas.

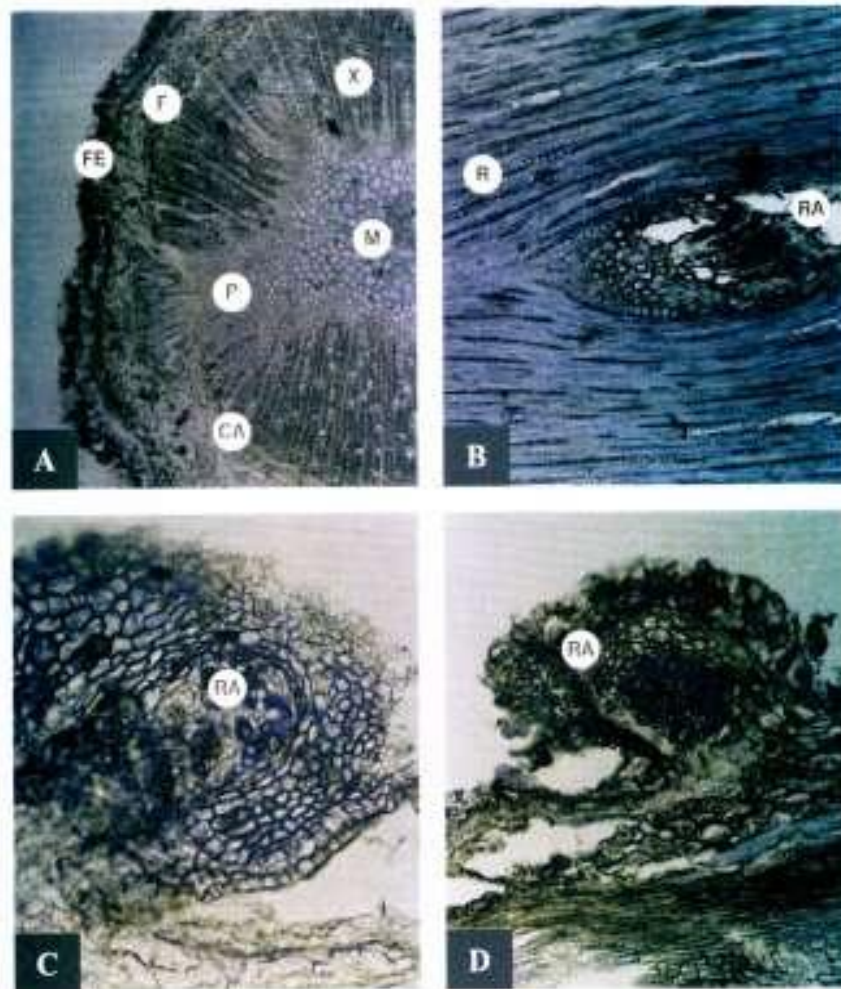
- A partir de la quinta semana, las raíces presentaron un mayor desarrollo del tejido vascular (Figura 1D) y se mostraron las primeras conexiones del xilema con el tejido vascular del tallo. Durante este período, las raíces adventicias en las estacas tratadas comenzaron a emerger del tallo, tanto por la parte interior del nudo, separando la corteza de la madera, como en la parte inferior de la estaca a través de la felodermis. En todos los casos, las nuevas raíces mostraron un geotropismo positivo (Figura 2A).

### B. Características anatómicas de la raíz

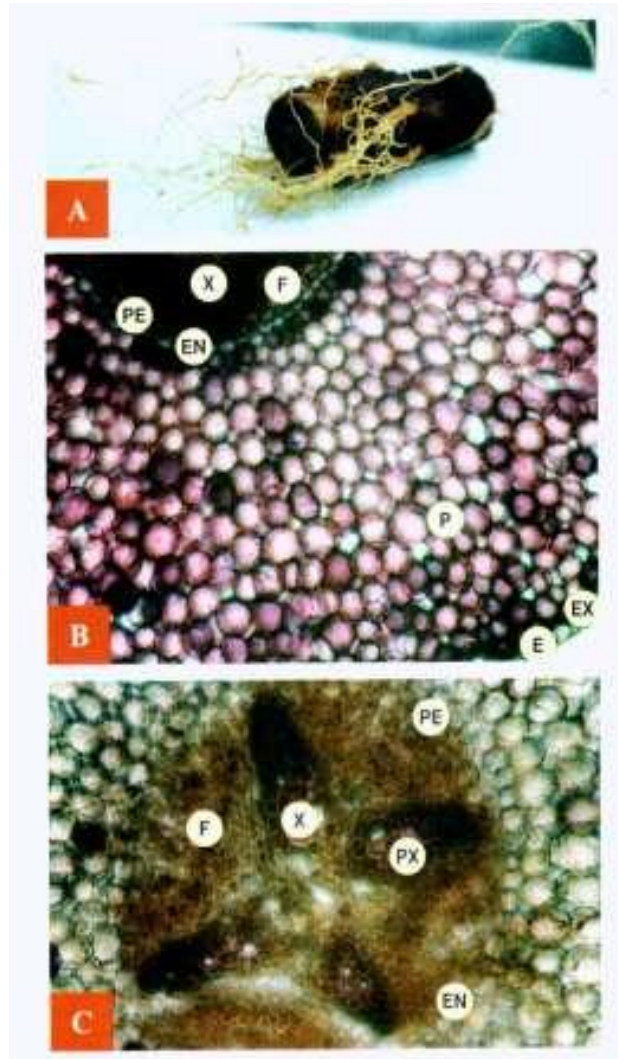
Todas las raíces adventicias estudiadas presentaron una estructura y arreglo histológico semejante, lo cual será caracterizado a continuación.

**Crecimiento primario.** A 5 mm del ápice, la raíz adventicia fue de aproximadamente 0,2 mm de diámetro y presentó, de afuera hacia adentro, la siguiente organización (Figuras 2B y 2C): Epidermis uniestrata de células pequeñas y desiguales en tamaño con presencia de pelos radicales y tricoblastos; exodermis de dos a tres capas de células parenquimáticas pequeñas; zona parenquimática de 8 a 14 hileras de células redondeadas, grandes, con abundante espacio intercelular; endodermis y periciclo de una hilera de células pequeñas, sin espacios intercelulares y tejido vascular con 4 polos de xilema y floema.

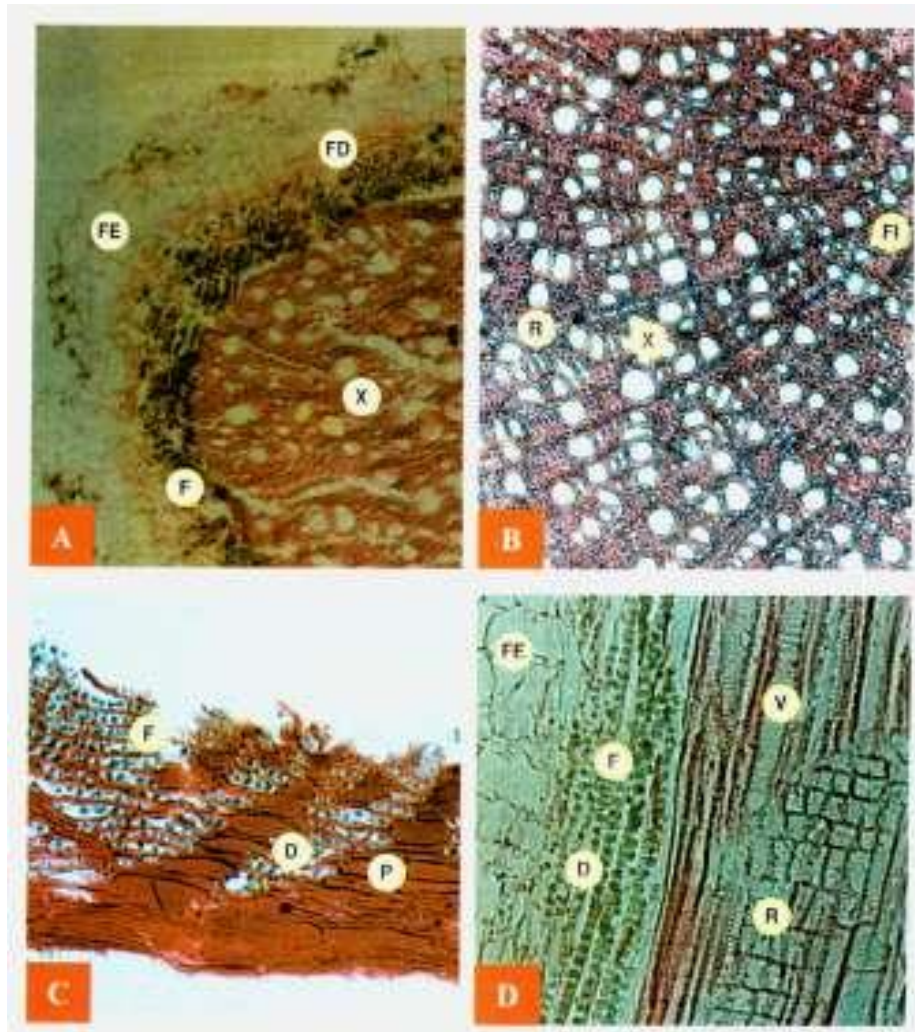
**Crecimiento secundario.** En zonas más distales del ápice (aproximadamente a 10 mm de distancia del domo meristemático), la raíz adventicia mostró un rápido desarrollo del crecimiento secundario, caracterizado por la aparición y formación de la felodermis y la disposición radial del tejido vascular (Figura 3A). Las raíces con 3 a 5 mm de diámetro presentaron la siguiente organización: felema de 6 a 8 capas de células poco suberizadas; felodermis de 2 a 4 capas de células más largas que anchas, con inclusión celular fuertemente coloreada posiblemente debido a la presencia de taninos.



**Figura 1.** Origen histológico de las raíces adventicias del semeruco en tallos tratados con AIB. A. Corte transversal de la estaca. 25x. B. Corte tangencial de la estaca. 200x. C. Corte transversal de la estaca y longitudinal de la raíz adventicia. 200x. D. Corte tangencial de la estaca y transversal de la raíz adventicia. 200x. F= floema; FE= felema; CA= cambium; M= médula; P= parénquima; RA= raíz adventicia; R= radio parenquimático; X= xilema.



**Figura 2.** Estructura anatómica primaria de las raíces adventicias del semeruco. A. Estacas enraizadas con AIB. B y C. Corte transversal. 200x. E= epidermis; EN= endodermis; EX= exodermis; F= floema; P= parénquima; PE= periciclo; X= xilema.



**Figura 3.** Estructura anatómica secundaria de las raíces adventicias del semeruco. 200x. A. Inicio del crecimiento secundario (corte transversal). B. Detalle del xilema secundario (corte transversal). C. Detalle del floema secundario (corte transversal). D. Corte tangencial de la raíz adventicia. D= drusas; F= floema; FE= felema; FD= felodermis; FI= fibras; P= parénquima; R= radio parenquimático; V= vasos; X= xilema.

Floema formado por 6 a 8 hileras de células, con parénquima radial escaso y abundancia de inclusiones citoplasmáticas de oxalato de calcio, tipo drusas (Figuras 3A y 3C). Xilema secundario caracterizado por poseer vasos solitarios o en grupos de 2 a 6, de diámetro pequeño (14 a 26  $\mu$ ), abundancia promedio de 18 vasos/mm<sup>2</sup>, longitud corta (promedio de 250  $\mu$ ) y paredes terminales inclinadas (Figuras 3B y 3D); matriz fibrilar; parénquima axial escaso, del tipo paratraqueal y parénquima radial de 8 a 10 células de alto y de 1 a 2 células de espesor (Figuras 3B y 3D). Considerando un plano transversal, los elementos del xilema se presentaron ordenados alternadamente, de tal manera que a una hilera de vasos siguen tres a cuatro hileras de fibras, y a éstas una hilera de parénquima radial, y así sucesivamente (Figura 3C).

## DISCUSIÓN

La característica más relevante durante la ontogenia de las raíces adventicias en tallos de semeruco fue la homogeneidad de los eventos en los dos tratamientos. Al parecer, la mayor habilidad del enraizamiento en los tallos tratados con AIB está relacionado con el incremento de la actividad cambial y subsecuente aumento del tejido parenquimático de mayor actividad metabólica en el tallo, circunstancia que puede incidir favorablemente en la disponibilidad de carbohidratos solubles durante el proceso de enraizamiento, efecto conocido para las auxinas (Vieitez et al., 1980). En este sentido, el bajo porcentaje de enraizamiento observado en las estacas leñosas del semeruco (Laskowski, 1996), parece no estar relacionado con la presencia de tejido esclerenquimático perifloemático, ya que éste no impidió la emergencia de las raíces adventicias.

La histología observada en las raíces adventicias mostró un rápido desarrollo de los tejidos secundarios, particularmente del xilema, situación que se presenta también en el tallo (Laskowski, 1996). Características tales como xilema secundario de matriz fibrilar, vasos cortos de pequeño diámetro, escaso parénquima axial y floema con abundancia de drusas, son adaptaciones propias de las plantas que crecen en ambientes de escasa precipitación (Cutler, 1978). En relación al xilema, tanto el diámetro de los

vasos como el número por mm<sup>2</sup> son mayores que los reportados para el tallo (Laskowski, 1996; Lindorf, 1994). De acuerdo con Esau (1976), los tejidos secundarios en las raíces de las dicotiledóneas son básicamente similares a los del tallo de la misma planta; sin embargo, Cutler (1978) señala que pueden haber diferentes grados de variabilidad entre estos órganos, principalmente en el xilema, como respuesta a las condiciones del medio donde crece la planta.

Para Carlquist (1977), el tejido fibrilar ejerce un efecto amortiguador bajo condiciones de altas tensiones en el xilema, contribuyendo al mantenimiento de la columna de agua en los vasos; de igual manera, los vasos cortos y de pequeño diámetro evitan la formación de embolias en el tejido conductor (Metcalfe y Chalk, 1950). La tolerancia del semeruco a condiciones severas de sequía (Schnee, 1984) muy probablemente está asociada a todas estas características de su anatomía radical.

Observaciones similares han sido registradas por Schiefelbein et al. (1997) para otras especies de zonas áridas, deduciendo que los tejidos de la raíz poseen una importante plasticidad, probablemente debido a la adaptación de su patrón morfológico en respuesta al ambiente donde se desarrolla la planta.

## CONCLUSIONES

Las raíces adventicias en el tallo del semeruco se originaron por diferenciación de células en el parénquima radial como producto de la proliferación del cambium vascular adyacente a los radios medulares.

La presencia de un anillo de esclerenquima perifloemático en el tallo no impide la emergencia de las raíces formadas.

La secuencia de eventos histológicos que caracterizan el desarrollo de la raíz adventicia a partir de tejidos del tallo fueron acelerados por la aplicación de ácido indolbutírico.

Las características histológicas de las raíces adventicias del semeruco corresponden a las de las plantas tolerantes a la sequía.

## AGRADECIMIENTO

Al Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CDCHT) de la

Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), ente financiero de este proyecto. A la profesora María E. Sanabria, Jefe del Laboratorio de Microtecnia del Posgrado de Fitopatología del Decanato de Agronomía, UCLA, por facilitar equipos utilizados en este estudio.

### LITERATURA CITADA

1. Alves, R., H. Menezes y S. Melo. 1995. Colheita e pós colheita da acerola. *In: Sao José Abel y Alves Ricardo (eds.). Acerola no Brasil. Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Bahia, Brasil. pp.147-160.*
2. Asenjo, C. 1980. Acerola. *In: E. Shaw (ed.). Tropical and Subtropical Fruits. AVI Publishing. Westport, Connecticut. pp. 341-374.*
3. Avilán, L., F. Leal y D. Bautista. 1989. Manual de Fruticultura. Editorial América. Caracas.
4. Azzini, A., R. Araujo M., A. Costa y T. Valle 1996. Caracterizacáo tecnologica de caules de quatro variedades de mandioca como fonte de fibras celulósicas para papel. *Bragantia* 55(2): 293-297.
5. Carlquist, S. 1977. Wood Anatomy of the Themendraceae: Phylogenetic and Ecological Implications. *Amer. J. Bot.* 64(6): 704-713.
6. Cutler, D. 1978. Anatomía Vegetal Aplicada. Longman. Londres.
7. Esau, K. 1976. Anatomía Vegetal. Editorial Omega. Barcelona.
8. Garrido, G., E. A. Cano, M. Acosta y J. Sánchez-Bravo. 1978. Formation and growth of roots in carnation cuttings: influence of cold storage period and auxin treatment. *Scientia Horticulturae* 74(3): 219-231.
9. Gaspar, T. y M. Hofinger. 1988. Auxin metabolism during adventitious root formation. *In: T. D. Davies, B. E. Haissing y N. Sankhla (eds.). Adventitious Root Formation in Cuttings. Advances in Plant Series. Dioscarides Press. Portland, Oregon. pp. 117-131.*
10. Hartmann, H., D. Kester y F. Davies. 1990. Plant Propagation. Principles and Practices. Printice Hall, Englewood Clifts.
11. Laskowski, L. 1996. Selección, propagación y anatomía del semeruco. Tesis de grado. Posgrado de Horticultura. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Barquisimeto. 179 p.
12. Laskowski, L. y D. Bautista. 1998. Evaluación de características vegetativas, productivas y de calidad de las frutas de plantas de semeruco cultivadas en zonas áridas. *Agronomía Tropical* 48(3): 239-250.
13. Ledin, B. 1958. The Barbados or West Indian Cherry. *Agric. Exp. Sta. University of Florida. Gainesville, FL. Bull. 594. 18 p.*
14. Lindorf, H. 1994. Eco-anatomical wood features of species from a very dry tropical forest. *IAWA Journal* 15(4): 361-376.
15. Metcalfe, C. y L. Chalk. 1950. Anatomy of the Dicotyledons. Vol. 1. Claredon Press, Londres.
16. Nascimento, C. 1991. Efeito do ácido indolbutírico sobre o enraizamiento de estacas semilenhosas de acerola. XI Congresso Brasileiro de Fruticultura. Resúmenes. Petrolina, Brasil. p. 94.
17. Nakasone, H., G. Yamane y P. Miyashita. 1968. Selection, evaluation and naming of acerola (*Malphigia glabra* L.) cultivars. Hawaii Agric. Exp. Sta. University of Hawaii. Circular N° 65. 12 p.
18. Nelson, R. y S. Goldweber. 1956. Further rooting trials of Barbados cherry. *Proc. Fla. Sta. Hort. Soc.* 69: 285-287.
19. Pérez M., A. 1973. Estructura anatómica de 37 maderas de la Guayana Venezolana y clave para su identificación. *Acta Botánica Venezuelica* 8 (1-4): 9-109.



20. Roth, I. 1964. Microtecnia Vegetal. Edic. Biblioteca, Imprenta Universitaria, Universidad Central de Venezuela. Caracas 88 p.
21. Schiefelbein, J., J. Masucci y H. Wang. 1997. Building a root: The control of patterning and morphogenesis during root development. *The Plant Cell* 9: 1089-1098.
22. Schnee, L. 1984. Plantas comunes de Venezuela. Rev. Fac. Agronomía. Alcance N° 3. Maracay. pp. 1-663.
23. Vieitez, A. M., A. Ballester, M. T. García y E. Vieitez. 1980. Starch depletion and anatomical changes during the rooting of *Castanea sativa* Mill. cuttings. *Scientia Horticulturae* 13(2): 261-266.