

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFECTO DE LAS APLICACIONES DE BORO AL SUELO SOBRE
LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DEL ELEMENTO Y EL
CRECIMIENTO DE RAÍCES EN VID “FLAME SEEDLESS”**

DANIEL ALEJANDRO DESMARTIS SOZA

SANTIAGO, CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE LAS APLICACIONES DE BORO AL SUELO SOBRE
LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DEL ELEMENTO Y EL
CRECIMIENTO DE RAÍCES EN VID “FLAME SEEDLESS”**

**EFFECT OF SOIL BORON APPLICATION ON LEAF ELEMENT
CONCENTRATION AND ROOT'S GROWTH ON “FLAME
SEEDLESS” GRAPEVINE**

DANIEL ALEJANDRO DESMARTIS SOZA

SANTIAGO, CHILE
2012

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

**EFECTO DE LAS APLICACIONES DE BORO AL SUELO SOBRE
LA CONCENTRACIÓN FOLIAR DEL ELEMENTO Y EL
CRECIMIENTO DE RAÍCES EN VID “FLAME SEEDLESS”**

Memoria para optar al título profesional de: Ingeniero Agrónomo
Mención: Fruticultura

DANIEL ALEJANDRO DESMARTIS SOZA

| PROFESOR GUÍA | CALIFICACIONES |
|---|-----------------------|
| Rodrigo Callejas R. Ingeniero Agrónomo, Dr. Sc. Agr. | 6,4 |
| PROFESORES EVALUADORES | |
| Bruno Razeto M. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc. | 6,2 |
| Loreto Cánaves S. Ingeniero Agrónomo, M.S. | 4,0 |

SANTIAGO, CHILE
2012

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todos quienes me han apoyado en este proceso. En particular quiero agradecer a:

El Profesor Don Carlos Benavides, quien en los inicios de este proyecto destinó un valioso tiempo en la estructuración del ensayo, tanto en oficina como en terreno. Con una disposición única y desinteresada me hizo ver aspectos que fueron fundamentales para el desarrollo de las actividades de terreno.

Mi amiga Verónica Herrera Fischer, quien me instó enérgicamente a retomar y concluir este trabajo.

Mi Profesor guía, Don Rodrigo Callejas, muchas gracias por el apoyo y el tiempo destinado para ayudarme a concluir este documento, después de haberlo postergado por tanto tiempo.

En general además, quiero agradecer a todo el personal docente, administrativo y funcionario de La Facultad... realmente me siento muy afortunado de haber tenido la oportunidad de formarme como Agrónomo de la Universidad de Chile y esto es gracias a todos ellos.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 1 |
| ABSTRACT | 2 |
| INTRODUCCIÓN | 3 |
| Hipótesis | 5 |
| MATERIALES Y MÉTODO | |
| Lugar de estudio | 6 |
| Materiales | 6 |
| Método | 7 |
| Evaluaciones | 8 |
| Contenido de B foliar | 8 |
| Contenido de B en yemas | 8 |
| Contenido de B en brotes | 8 |
| Crecimiento de raíces | 8 |
| Histología de raíces | 10 |
| Diseño experimental y análisis estadístico | 10 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | |
| Contenido de B a nivel foliar | 11 |
| Contenido de B en yemas | 13 |
| Contenido de B en brotes | 14 |
| Crecimiento de raíces | 15 |
| Muestras de cilindro | 15 |
| Muestras de jaulas enraizantes | 17 |
| Histología de raíces | 19 |
| CONCLUSIONES | 20 |
| BIBLIOGRAFÍA | 21 |
| ANEXO I | 24 |
| ANEXO II | 25 |
| ANEXO III | 26 |
| APÉNDICE I | 28 |

RESUMEN

El Boro (B) es un microelemento fundamental para el desarrollo de cualquier tejido vegetal, pues es indispensable para el proceso de división y elongación celular. Normalmente las deficiencias de B son corregidas mediante aplicaciones al follaje, pero dado que también es fundamental para el desarrollo de raíces, la aplicación de B al suelo, en condiciones de déficit, se propone como una alternativa para mejorar el crecimiento de raíces, cuyos ápices son los primeros tejidos en detener su crecimiento en condiciones deficitarias. Adicionalmente, se debe considerar que con aplicaciones foliares no es posible que el nutriente llegue a las raíces, debido a la movilidad restringida del B en el floema de la vid. Debido a lo estrecho del rango entre adecuado y excesivo para el contenido de B en la planta, se hace indispensable definir un manejo cuidadoso de este nutriente para evitar toxicidad en tejidos.

El objetivo de este estudio fue determinar el efecto del B aplicado al suelo, en distintas dosis (0, 1, 2 y 4 kg·ha⁻¹ de B) en forma de ácido bórico sobre el incremento de la concentración del elemento a nivel de tejidos (hoja, yema y brote), efectos colaterales no deseados, el crecimiento de raíces y la anatomía de sus haces vasculares en plantas auto-enraizadas de vid “Flame Seedless”, establecidas en un huerto de la V Región de Chile, localidad de San Felipe. Se escogieron plantas homogéneas en dos condiciones de suelo (textura media y textura gruesa) donde las dosis anteriormente señaladas se aplicaron en tres parcialidades dentro de la temporada.

De acuerdo a los resultados, se observa un incremento paulatino de la concentración de B en lámina con las dosis aplicadas al suelo. No se apreciaron efectos fito-tóxicos con las dosis empleadas. A pesar de que se esperaba que la metodología utilizada para la evaluación de raíces reflejara incluso pequeños cambios en el crecimiento, no se observaron diferencias entre los tratamientos.

Palabras clave: Análisis foliar, histología, textura gruesa, textura media.

ABSTRACT

Boron (B) is a microelement, essential for development of any vegetal tissue, because it is vital for cell division and elongation. Normally, B deficiency is improved with foliar sprays, but since it is also essential for roots development, soil B supply is proposed as a choice to improve roots growth. In grapes, due to low phloem B mobility, it is not possible to reach roots with foliar sprays. Because of the narrow range between deficient and excessive B concentration in grapes, it is critical its careful management.

A preliminary study was conducted to determine the effect of B (0, 1, 2, 4 kg·ha⁻¹ of B; as boric acid) applied to the soil on: concentration of B in leaves, buds and shoots, roots growth and anatomy of vascular tissues. Own-rooted adult vines cv. "Flame Seedless" from San Felipe-Chile were used. Homogenous plants were chosen from two different soil conditions (medium and coarse texture) where B doses were fractionated on three instances during the season, simulating a ferti-irrigation.

Results show a gradual increase on foliar B concentration with the applied doses. Phytotoxic reactions were not observed. Although the used methodology for roots evaluation was expected to show even minor growth changes, treatments showed no differences.

Key words: foliar analysis, histology, coarse texture, medium texture.

INTRODUCCIÓN

El Boro (B) es uno de los elementos esenciales para el desarrollo de las plantas, lo cual fue probado inequívocamente por Warington en 1923 (Shorrocks, 1997). Las formas en que actúa no están todas claras, pero es indiscutible su importancia, ya sea por su participación en muchos y muy diversos procesos fisiológicos, así como por formar parte de la estructura de las paredes celulares y membranas (Marschner, 1986; Azcón Bieto y Talón, 2000; Gil, 2000).

Diversos autores han reportado la intervención del B en la absorción y metabolismo de los cationes, en especial del calcio (Yamanouchi, 1973; Clarkson y Hanson, 1980; Yamauchi *et al.*, 1986; Teasdale y Richards, 1990, citados por Goldbach *et al.* 2001), participa en la formación de la pectina de las paredes celulares, en la síntesis de ácidos nucleicos y en el transporte de carbohidratos en el floema. Es también requerido en puntos de alta actividad metabólica, como ápices de brotes y de raíces, en los procesos de división y elongación celular (Razeto, 1993). Estudios indican que el B juega un papel esencial en la biosíntesis y transporte de hormonas vegetales, en especial del AIA (Goldbach *et al.*, 2001). Además, numerosos informes mencionan que este elemento desempeña un papel muy importante en la floración, ya que es necesario para la formación de la yema floral (Kamali y Childers, 1970), para la producción de los granos del polen (Argawala *et al.*, 1981) y para el crecimiento del tubo polínico (Dickinson, 1978). Asimismo, han sido indicadas funciones apoplásticas, al estabilizar ciertos constituyentes de paredes celulares actuando en un rol estructural en conjunto con el calcio (Ginzberg, 1961; Loomis y Durst, 1991, citados por Gupta, 1993). Gil (2000) afirma que el 50% del B se encuentra fijado en los hidratos de carbono de paredes, mientras que Azcón-Bieto y Talón (2000) señalan que puede llegar al 95%. Se ha reportado la participación del B en contrarrestar la toxicidad causada por el Aluminio (Blevins y Lukaszewski, 1998). Diversos procesos se alteran ante una deficiencia de B, no obstante una de las respuestas más rápidas es la inhibición o cesación de la elongación de raíces (Marschner, 1986).

Dentro de las especies más susceptibles a la deficiencia de B se encuentra la vid (Shorrocks, 1997; Razeto, 2009). Siendo un micronutriente, éste es necesario en bajas cantidades para el normal desarrollo de las plantas. Fregoni (1999) menciona que el consumo anual en variedades de uva de mesa (bayas, raquis y follaje) es de 40 a 230 g de B por ha, siendo el rango de concentración de este elemento muy estrecho entre valores deficiente y excesivo (Gupta, 1993). De acuerdo con Du Preez (2003), este rango es entre 35 a 65 mg·kg⁻¹, para lámina foliar muestreada en pinta, no obstante Razeto, 2004 menciona 15 a 200 mg·kg⁻¹ para peciolo en la misma época de muestreo.

Las plantas sólo responden a la actividad del B en solución y no al B adsorbido por el suelo (Gupta, 1993). Las raíces toman el B a través de la combinación de transporte pasivo por la bicapa lipídica, y canales transportadores conocidos como aquagliceroporinas (Dordas y Brown, 2000; Dordas *et al.*, 2002; Takano *et al.*, 2008; Reid, 2010). Una vez en el xilema,

la distribución del B está relacionada con la pérdida de agua desde los órganos que transpiran (Hu y Brown, 1997; Wimmer *et al.*, 2003), planteándose que los requerimientos de B de los distintos órganos de las plantas se satisfacen por vía xilemática, ya que este elemento es poco móvil y su translocación en el floema es escasa (Silva y Rodríguez, 1995). Sin embargo estudios han demostrado que la movilidad del B a través del floema ocurre, en mayor o menor grado dependiendo de la especie. En especies en que el azúcar es transportado principalmente en forma de sorbitol, como especies de los géneros *Pyrus*, *Malus* y *Prunus*, el B estaría móvil libremente, mientras que especies con bajos contenidos relativos de sorbitol entre sus azúcares, presentarían muy baja movilidad del elemento (Brown y Hu, 1996; Brown y Shelp, 1997). El principal azúcar en la vid es sacarosa (Zapata *et al.*, 2004), por lo que la movilidad del B en el floema se presenta de forma restringida (Gunes *et al.*, 2006).

Diversos factores influyen en la disponibilidad del B para las plantas. Entre éstos se incluye el tipo de suelo y sus variables físicas y químicas, la especie y variedad de planta, factores ambientales, y la interacción del B con otros nutrientes (Gupta, 1993). Tanto la textura del suelo como la composición mineralógica de sus arcillas influyen en la capacidad de entregar B a las plantas. Mientras suelos arenosos tendrán poco B disponible por la facilidad con que éste se lixivia, las arcillas, según su origen, fijarán en mayor o menor grado al elemento dependiendo del pH del suelo. Generalmente, el B se vuelve menos disponible para las plantas con pH creciente (Gupta, 1993). Por otra parte y de acuerdo con numerosos trabajos realizados en distintas especies vegetales, existiría una relación entre niveles crecientes de calcio disponible en el suelo y la deficiencia de B en las plantas (Godoy, 1970).

El agua de riego es otro factor importante a considerar en cuanto a aportes de B a las plantas. Suelos pobres en este elemento, regados con agua con bajo contenido de B, pueden generar deficiencias limitantes para la producción. Por el contrario, aguas con elevados niveles de este elemento, pueden provocar cuadros de toxicidad (Nable *et al.*, 1997). Sin embargo, en escasas ocasiones, el agua de riego tiene suficiente B para dañar a las plantas directamente.

Deficiencias de B han sido reportadas en 80 países y en 132 cultivos en los últimos 60 años (Shorrocks, 1997). Muchos suelos de Chile central presentan cultivos deficitarios en el elemento, incluyendo a la vid (Tollenaar, 1970, citado por Shorrocks, 1997). En esos suelos, la composición química del agua de riego y su interacción con el suelo, generan bajos niveles de B en la planta, lo cual se detecta con los análisis foliares. Normalmente, esta situación obliga a considerar aplicaciones de B al follaje dentro de un plan de manejo. Considerando que el rol que juega el B en el desarrollo de las raíces es fundamental (Marschner, 1986) y todos los efectos de un mal desarrollo del sistema radical (Mei *et al.*, 2011), como también el nulo aporte que representarían las aplicaciones foliares para las raíces, sería indispensable incorporar aportes de B en los programas de fertilización al suelo, en aquellos casos en que se presenten condiciones de déficit.

En consideración a todos estos antecedentes, se realizó la presente investigación, cuyo objetivo fue determinar el comportamiento de la fertilización con B al suelo sobre el incremento del elemento a nivel foliar y el crecimiento de raíces en plantas de vid "Flame Seedless".

MATERIALES Y MÉTODO

Lugar del estudio

El estudio se realizó durante la temporada 2004-2005, en la Comunidad Teodoro Fernández, predio ubicado en la localidad de San Felipe, V Región, Chile (32°45'51" S; 70°42'49" O). El lavado de las raíces para su evaluación se realizó en el Laboratorio de Hidráulica de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. Las evaluaciones de crecimiento de las mismas se llevaron a cabo en el Laboratorio de Anatomía Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales

El material experimental fue constituido por plantas de vid “Flame seedless” auto-enraizadas conducidas bajo parrón español, en dos condiciones de suelo.

- a) El primer sector correspondió a un suelo de textura media, profundo y bastante plano, con plantas de 9 años de edad, a una distancia 3 x 3 metros. El sistema de riego utilizado fue por goteo de una línea, con emisores de $4 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ de caudal, ubicados cada 80 cm. Se eligieron plantas que presentaron características de vigor, desarrollo y diámetro de tronco, similares entre sí.
- b) El segundo sector comprendió un suelo delgado, de textura gruesa, altamente pedregoso y de topografía ondulada, con parras de 10 años de edad plantadas a 3 x 3 metros. El riego se realizó por goteo de doble línea, emisores de $2 \text{ L}\cdot\text{h}^{-1}$ de caudal, ubicados cada 50 cm. En este caso, las plantas tenían condiciones homogéneas y de menor vigor que el primer sector descrito.

En ambos casos, a las hileras destinadas al ensayo se les practicaron las mismas técnicas de manejo que al resto de su correspondiente cuartel, exceptuando una aplicación foliar de ácido bórico al momento de la floración, que se realizó en los sectores del ensayo.

El agua de riego, que se obtiene desde un pozo profundo, presenta bajo contenido de B (Apéndice I).

Método

En el sector de textura media, se seleccionaron 40 plantas al azar, descartando las cercanas a las matrices de riego, como cualquier otra que presentara alguna anomalía. Se destinaron 10 plantas a cada uno de los 4 tratamientos (Cuadro 1).

Para el sector de textura gruesa, se escogieron 16 plantas siguiendo los mismos criterios que en el otro caso, destinándose 4 plantas a cada tratamiento (Cuadro 1).

Los 4 tratamientos corresponden a distintas dosis (0, 1, 2 y 4 kg·ha⁻¹ de B) como ácido bórico (17% de B) en su formulación comercial (polvo fino) aplicadas al suelo. Cada aporte de ácido bórico se realizó dentro de un pequeño hoyo, bajo cada uno de los puntos de goteo pertenecientes a cada planta. Estos hoyos se taparon con el mismo suelo y se reubicó la manguera de riego de modo de asegurar la distribución del ácido bórico disuelto con el agua del riego siguiente. Para realizar la dosificación de ácido bórico, se utilizó una balanza electrónica de precisión capaz de registrar diferencias de hasta 1·10⁻⁴ g (marca BEL, modelo Mark 120A, Italia). Las dosis totales, para cada tratamiento (cuadros 1 y 2), fueron aplicadas en 3 parcialidades dentro de la temporada; al inicio de cuaja (20/11/04), con bayas de 8 mm (8/12/04) y 12 días luego del fin de cosecha (16/02/05).

Cuadro 1. Tratamientos y dosis de B y producto comercial por aplicación.

| Tratamientos | B (kg·ha ⁻¹) | Ácido bórico (kg·ha ⁻¹) | Ácido bórico/planta (g) <u>1/</u> | Nº aplicaciones | Ácido bórico/planta/ aplicación (g) <u>1/</u> |
|----------------|-----------------------------|--|--------------------------------------|--------------------|--|
| T ₀ | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| T ₁ | 1 | 5,9 | 5,29 | 3 | 1,76 |
| T ₂ | 2 | 11,8 | 10,59 | 3 | 3,53 |
| T ₃ | 4 | 23,5 | 21,18 | 3 | 7,06 |

1/ Nº de plantas / ha = 1.111

Cuadro 2. Dosificación por gotero para cada condición de suelo según tratamiento.

| Tratamientos | Ácido bórico/gotero/planta/ aplicación (g) | |
|----------------|--|--------------------------------|
| | Suelo textura media <u>1/</u> | Suelo textura gruesa <u>2/</u> |
| T ₀ | 0 | 0 |
| T ₁ | 0,59 | 0,29 |
| T ₂ | 1,18 | 0,59 |
| T ₃ | 2,35 | 1,18 |

1/ 3 goteros / planta

2/ 6 goteros / planta

Evaluaciones

Concentración de B foliar. Se realizaron análisis de contenido total de B foliar presente en una muestra compuesta de 30 hojas, en 4 momentos durante la temporada de crecimiento: antes de la 2ª aplicación (9 de diciembre), 30 días después de la 2ª aplicación (10 de enero), antes de la 3ª aplicación (16 de febrero) y 30 días después de 3ª aplicación (21 de marzo). Se hicieron 3 repeticiones de cada muestra.

Concentración de B en yemas. En la poda del año siguiente, a los tratamientos T₀ y T₄ se les evaluó la concentración de B en yemas. En este caso, cada muestra se compuso de 12 yemas tomadas desde la posición nº6 del sarmiento, contado desde la base. Se hicieron 3 repeticiones de cada muestra.

Concentración de B en brotes. Se hicieron análisis de la concentración de B en brotes, en la primavera anterior y siguiente (29-sep-04 y 3-oct-05) a las aplicaciones. En ambos momentos y a todos los tratamientos se tomaron muestras compuestas de 30 brotes de 30 cm de largo. Se hicieron 3 repeticiones de cada muestra.

Crecimiento de raíces. En el sector de textura media se escogieron cuatro plantas de cada tratamiento para instalar jaulas de alambre de 20 x 10 x 30 (cm³) enterradas en el suelo, con el propósito de evaluar el crecimiento de las raíces (largo total y peso seco) al final del ensayo. Para esto, bajo los puntos de goteo a ambos lados de la planta, se hicieron hoyos de 30 cm de profundidad y de las dimensiones que permitieran la instalación de las jaulas como se muestra en la Figura 1, de manera que queden cubiertas por un espesor de 15 cm de suelo. Luego se procedió a tapar con el mismo suelo, mullido a mano y separado de piedras y raíces. Esto se llevó a cabo el 20 de noviembre de 2004.



Figura 1. Tipo de jaula enraizante utilizada para evaluación de crecimiento de raíces en vid “Flame Seedless”.

En postcosecha (abril) se retiraron las jaulas instaladas al comienzo de la temporada, desenterrándolas cuidadosamente y procurando cortar las raíces con cuchillo en los bordes de las jaulas.

En ese mismo momento, se tomaron muestras de raíces con un barreno tipo tarro (75 mm de diámetro interno). Esta consistió en un cilindro de suelo de 15 cm de longitud y del diámetro interior del barreno, lo que genera un volumen de $662,7 \text{ cm}^3$ de suelo, con sus respectivas raíces en el interior. Para ello se procedió primero a retirar una sección de 10 cm de espesor de suelo superficial con el barreno, para luego extraer la muestra con el mismo. Esto se realizó a ambos lados de cada una de las plantas dentro del área de influencia del emisor, pero no directamente bajo este.

Ambos tipos de muestras, provenientes de las jaulas y cilindros, se guardaron individualmente en bolsas plásticas, para luego ser trasladadas al Laboratorio de Hidráulica de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, donde se procedió a separar las raíces del suelo mediante lavado con agua. De cada muestra se tomó algunos trozos de raíces activas de alrededor de 2 mm de diámetro para el estudio histológico. El resto de las raíces fueron guardadas en sobres de papel y se dejaron secar a temperatura ambiente durante 30 días para luego evaluarles el peso seco, en balanza digital (marca OHAUS, modelo Explorer E-400D, USA), y largo total, siguiendo metodología propuesta por Böhm (1979). Esta consiste en desparramar las raíces sobre un papel cuadriculado y contar el número de intersecciones entre líneas y raíces. Luego, el largo total expresado en cm se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Largo total de raíces (cm)} = 0,786 \times \text{N}^\circ \text{ de intersecciones} \times \text{unidad de cuadriculado (cm)}$$

En este caso la unidad de cuadriculado fue de 3 cm.

Histología de raíces. Raíces de 2 mm de diámetro fueron conservadas en medio FAA, el que se compone de formalina, ácido acético glacial 40% y alcohol etílico 70% en proporción 5:5:90 v/v. Luego estas muestras se deshidrataron sumergiéndolas en una serie de soluciones de 70, 80 y 95% de etanol y posteriormente fueron incluidas en plástico JB-4 (Polyscience, inc.), según protocolo del fabricante. Esto se hizo usando tubos Ependorf como molde, lo que dio origen a una forma cónica del polímero con la muestra de raicilla incluida en su interior. De esta manera, las muestras fueron cortadas transversalmente con micrótopo (marca LEITZ, modelo 1516, Alemania) en secciones de 6 μm de espesor. Cada corte se depositó sobre una gota de agua destilada en un portaobjeto de vidrio. Estas muestras, una vez secas, se tiñeron con azul de toluidina y reactivo de Schiff, siguiendo protocolo de tinción (Anexo I) para su posterior observación en microscopio de luz. Se observaron las muestras buscando patrones comunes dentro de cada tratamiento y se tomaron micro fotografías de muestras representativas. Estas fotografías fueron observadas con detención en busca de patrones distintivos.

Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental fue totalmente al azar, siendo la unidad experimental la planta. Se hicieron 10 repeticiones en el caso del sector de suelo de textura media (6 para muestras de cilindros y 4 para jaulas) y 4 repeticiones en el sector de suelo de textura gruesa (sólo evaluación del incremento de B a nivel foliar).

Los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza (ANDEVA) y en el caso de existir diferencias significativas se utilizó la prueba de LSD, con un nivel de significancia del 5%. Además, se realizó análisis de correlación entre las variables evaluadas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido de B a nivel foliar

Para todos los tratamientos se observa un aumento en la concentración de B en las hojas luego de las aplicaciones sucesivas, incluido el testigo sin aplicación (Figura 2). Existe tendencia al aumento en la concentración de B en los tejidos foliares en el tiempo con las dosis crecientes aplicadas.

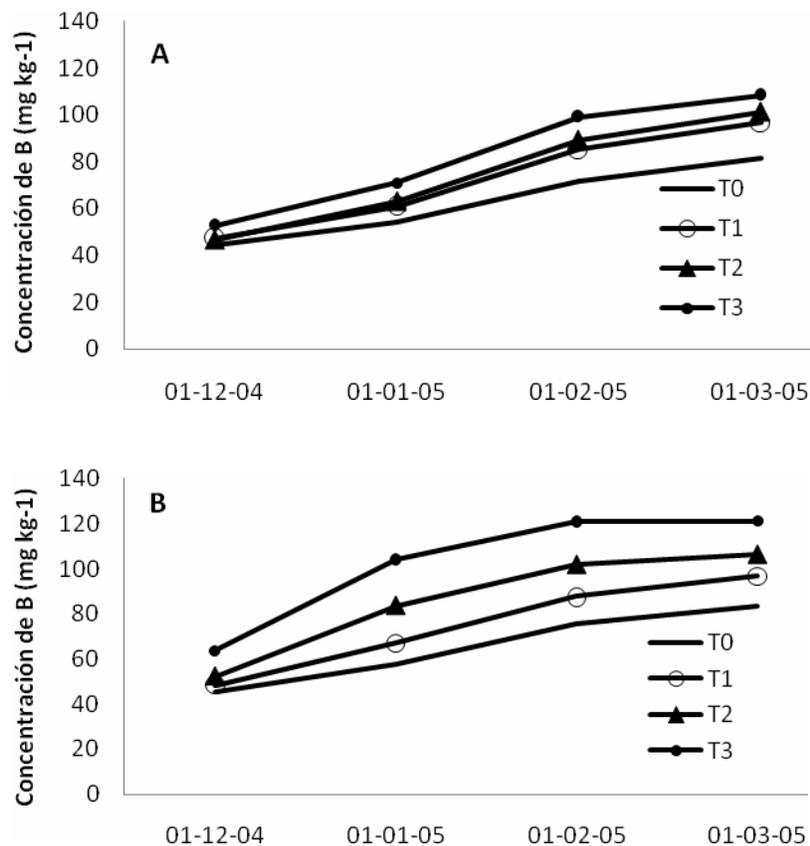


Figura 2. Evolución del contenido de B total en lámina de vid “Flame Seedless” a lo largo de la temporada para distintos tratamientos de aplicaciones de B al suelo en el sector de textura media (A) y textura gruesa (B).

El incremento del contenido de B en los tejidos de las plantas testigo estaría dado por los aportes de B que indudablemente hacen los elementos acompañantes a los fertilizantes principales aplicados, considerados como parte de las impurezas (Cadahía, 2005), el agua

de riego, cuya concentración de B era de $0,22 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Apéndice I) y el suelo a partir del reciclaje del elemento desde las hojas que caen (Mertens *et al.*, 2011).

Los resultados de análisis foliares muestran diferencias significativas en el contenido de B entre los tratamientos extremos en todas las fechas de evaluación, para ambas condiciones de suelo (cuadros 3 y 4).

Cuadro 3. Concentración de boro a nivel foliar para los tratamientos extremos de fertilización, en condición de suelo de textura media.

| Tratamientos | Concentración foliar de boro ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | | | |
|----------------|---|------------|------------|------------|
| | 09-12-2004 | 10-01-2005 | 16-02-2005 | 21-03-2005 |
| T ₀ | 44,33 a | 54,00 a | 71,50 a | 81,33 a |
| T ₃ | 52,67 b | 71,00 c | 99,00 c | 108,33 b |

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Cuadro 4. Concentración de boro a nivel foliar para los tratamientos extremos de fertilización, en condición de suelo de textura gruesa.

| Tratamientos | Concentración foliar de boro ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | | | |
|----------------|---|------------|------------|------------|
| | 09-12-2004 | 10-01-2005 | 16-02-2005 | 21-03-2005 |
| T ₀ | 45,33 a | 57,67 a | 75,60 a | 83,67 a |
| T ₃ | 63,67 c | 104,00 d | 120,74 d | 121,00 c |

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$).

Se observa una tendencia en el suelo de textura gruesa a una mayor respuesta a las fertilizaciones con ácido bórico respecto de las plantas en el suelo de texturas medias, en todas las fechas analizadas. El menor nivel de B foliar apreciado en el sector de textura media puede ser debido a la dilución del elemento en la mayor biomasa generada por las plantas, como es natural, ya que este suelo presenta una mejor condición para el desarrollo de la vid. Esta condición se apreció claramente durante la temporada de desarrollo del ensayo. Por otra parte, el mayor contenido de arcillas presente podría estar jugando un rol importante al adsorber una mayor proporción de la dosis aplicada (Goldberg, 1997).

Otras posibles diferencias entre los suelos que generarían cambios en la disponibilidad del microelemento, no evaluadas en este ensayo, están dadas por el nivel de calcio, la materia orgánica y el pH (Godoy, 1970; Goldberg, 1997; Hu y Brown, 1997; Bolaños *et al.*, 2004).

No se apreciaron efectos fito-tóxicos con las dosis aplicadas.

Concentración de B en yemas

Según las evaluaciones realizadas en el invierno posterior a las aplicaciones, para los tratamientos extremos, en ambas condiciones de suelo (Cuadro 4), se aprecia una mayor concentración de B en las yemas del tratamiento con mayor dosis respecto del testigo, siendo estadísticamente significativo solamente en las plantas del sector de textura gruesa.

Cuadro 4. Concentración de boro en yemas para los tratamientos extremos de fertilización en cada condición de suelo, evaluadas en invierno.

| Suelo | Tratamiento | Concentración de B ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | Desviación estándar |
|-------------------|----------------|---|---------------------|
| Textura media | T ₀ | 26,00 a | 1,73 |
| | T ₃ | 27,50 a | 3,54 |
| Textura gruesa | T ₀ | 27,33 a | 1,53 |
| | T ₃ | 31,67 b | 1,15 |

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$), por suelo.

Esto muestra que es factible incrementar los niveles de B en este tejido mediante las fertilizaciones al suelo durante la temporada de crecimiento, revelando aspectos que pudieran tener relación con las reservas nutricionales invernales y que juegan un importante rol para el crecimiento de la siguiente temporada (Ruiz, 2000).

Es probable que las dosis empleadas no sean suficientes para mostrar diferencias evidentes en la condición de textura media presentes en este ensayo.

Concentración de B en brotes

Al igual que en los valores de concentración de B en yemas, sólo se detectó un incremento en los niveles de este elemento en los brotes del sector de suelo de textura gruesa (Cuadro 5) respecto del testigo. Por otro lado, en el sector de suelo con texturas medias, la concentración del elemento no difiere entre tratamientos, al igual que lo observado en yemas.

Cuadro 5. Contenido de B total en brotes de vid “Flame Seedless” de la temporada posterior a aplicaciones de B al suelo para los tratamientos extremos en sector de textura media y textura gruesa.

| Tratamiento | Contenido total de B en brotes ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) | |
|----------------|---|----------------------|
| | Suelo textura media | Suelo textura gruesa |
| T ₀ | 49,67 a | 38,33 a |
| T ₃ | 49,00 a | 46,00 b |

Letras distintas en sentido vertical indican diferencias significativas ($p\leq 0,05$), por suelo.

La baja representatividad de los análisis de brotes y yemas con las aplicaciones de B al suelo, sugiere la inmovilidad del elemento en el floema, al no poder ser retranslocado desde la hoja a otras partes de la planta. Brown y Shelp (1997) señalan que en ciertas especies donde el B es inmóvil, la acumulación ocurre en la hoja. Las plantas toman y transportan B gracias al gradiente producido por la transpiración (Wimmer *et al.*, 2003), es por ello que los niveles en las hojas son más altos que en yemas y brotes. Este comportamiento ha sido descrito en especies tales como vid (Gunes *et al.*, 2006), mandarina (Papadakis *et al.*, 2004) y otros citrus (Papadakis *et al.*, 2003). Sin embargo los resultados del sector de suelo de texturas gruesas indican que la acumulación del elemento en yemas termina por manifestarse en el brote de la temporada siguiente.

Crecimiento de raíces

Estas evaluaciones sólo fueron realizadas en el suelo de textura media.

Muestras de cilindro

En las evaluaciones de peso seco y largo total de raíces no se apreciaron diferencias significativas entre los tratamientos (figuras 3 y 4). En ambos análisis, la dispersión de los datos fue tan alta que si bien los promedios sugieren diferencias, estadísticamente todos los tratamientos fueron iguales. Sin embargo, cabe destacar que es posible observar una tendencia que a mayor dosis de B aplicada, mayor es el largo de la raíz (Figura 4).

No se apreciaron diferencias a simple vista entre las raicillas de distintos tratamientos.

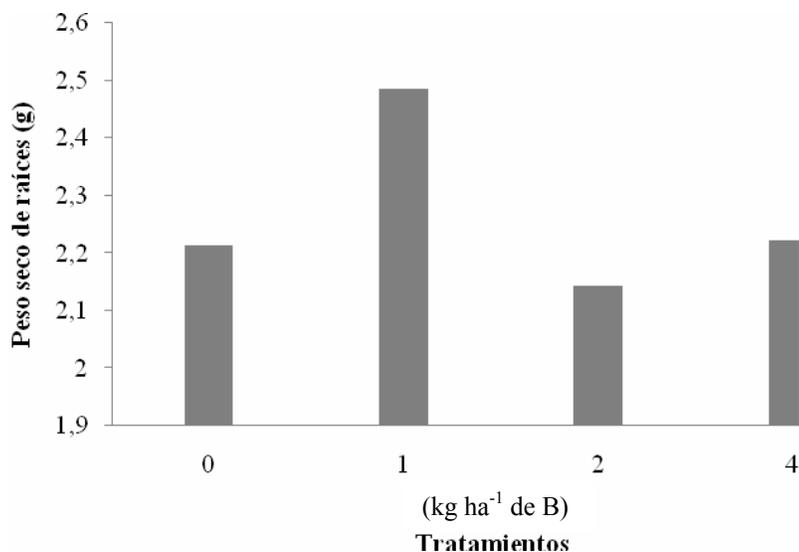


Figura 3. Peso total promedio de raíces provenientes de muestras de cilindros de acuerdo a los distintos tratamientos de fertilización con B al suelo en vid “Flame”.

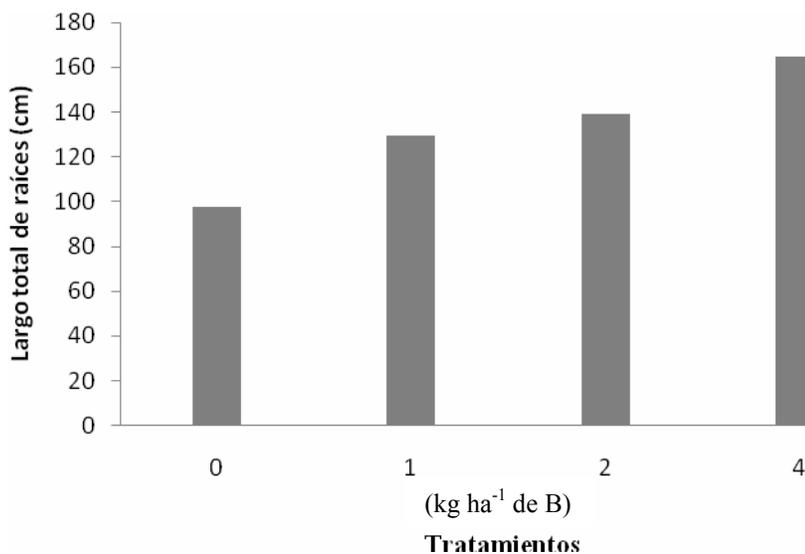
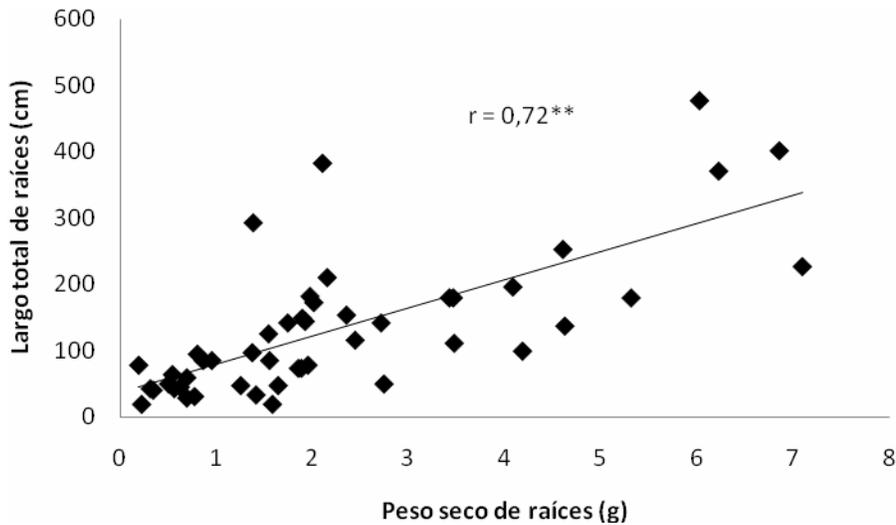


Figura 4. Largo total promedio de raíces provenientes de muestras de cilindros de acuerdo a los distintos tratamientos de fertilización con B al suelo en vid “Flame”.

Existe una correlación lineal positiva, la cual es estadísticamente significativa, para los datos de peso seco y largo total de raíces (Figura 5).



** Coeficiente de correlación lineal de Pearson estadísticamente significativos al 1% (evaluados con el estadístico T de Student)

Figura 5. Asociación entre el largo total y el peso seco de raíces provenientes de muestras de cilindros en vid “Flame”.

Estos resultados se contraponen con los obtenidos en ensayos realizados en manzanos por Wojcik *et al.* (2008), quienes señalan que la aplicación de B al suelo a una concentración de $27 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, aumentó el peso seco de las raíces finas ($< 2 \text{ mm}$ de diámetro) respecto al testigo. La fertilización de B al suelo incrementó el vigor de los árboles, siendo este efecto atribuido al mejoramiento del desarrollo del sistema radical.

Es importante tener presente que gran parte de la variabilidad de los datos está dada por la diversidad de factores no controlables, distintos de los tratamientos aplicados. Si bien es cierto que las raíces suelen concentrarse en una banda de suelo bajo la línea de riego, como pudo observarse en diversas calicatas (Caquisani, 2010), al momento de tomar la muestra con el cilindro, varió considerablemente la cantidad y el grosor de las raíces recogidas en cada muestra, independiente del tratamiento.

Muestras de jaulas enraizantes

Al igual que en los resultados del método del cilindro, se puede apreciar que no existió un efecto significativo sobre el crecimiento de las raíces, para ambas variables (figuras 6 y 7).

Existe una correlación lineal positiva, la cual es estadísticamente significativa, para los datos de peso seco y largo total de raíces (Figura 8).

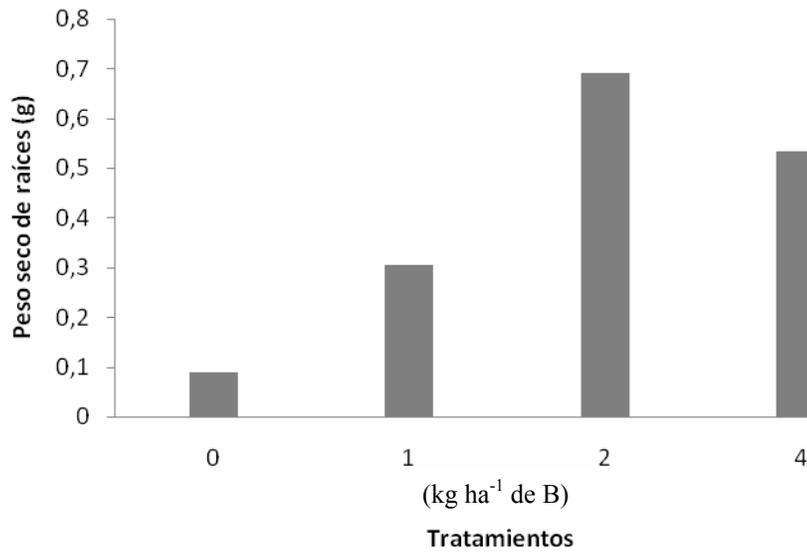


Figura 6. Peso seco promedio de raíces provenientes de muestras de jaulas de acuerdo a los distintos tratamientos de fertilización con B al suelo en vid “Flame”.

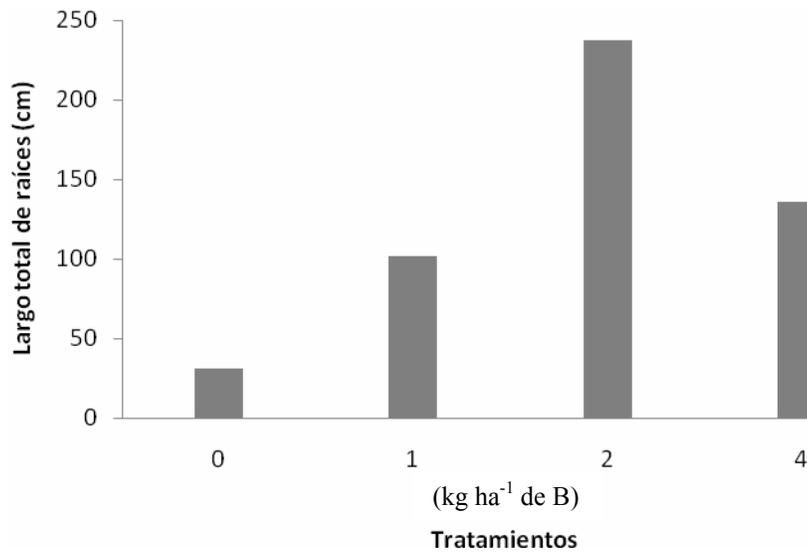
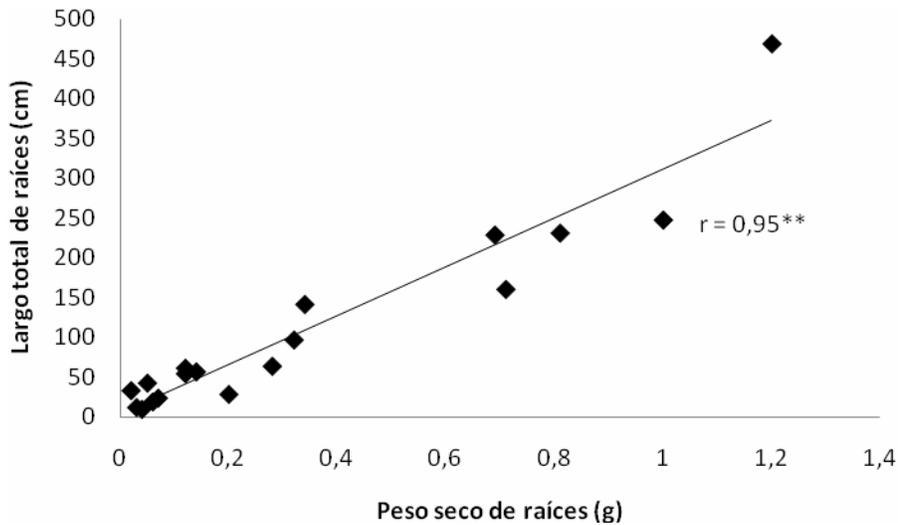


Figura 7. Largo total promedio de raíces provenientes de muestras de jaulas de acuerdo a los distintos tratamientos de fertilización con B al suelo en vid “Flame”.



** Coeficiente de correlación lineal de Pearson estadísticamente significativos al 1% (evaluados con el estadístico T de Student)

Figura 8. Asociación entre el Largo total y el Peso seco de raíces provenientes de muestras de jaulas en vid “Flame”.

En este caso, el hecho de provenir la muestra de un volumen de suelo disturbado, donde para ningún tratamiento existieron raíces antiguas, explica la alta correlación entre largo y peso de raíces. Sin embargo, la variabilidad de los resultados entre las repeticiones de cada tratamiento también es alta.

Además, cabe mencionar que en el efecto de crecimiento de raíces en este caso, está involucrada la poda realizada al momento de instalación de las jaulas.

Es posible que la aplicación de los tratamientos en una sola temporada de crecimiento, no sea suficiente para inducir diferencias en raíces.

Histología de raíces

No fue posible distinguir patrones distintivos en la histología entre los distintos tratamientos, lo que podría explicarse tal vez porque el aporte natural del B del suelo es suficiente y no constituya una limitante para el normal desarrollo de estos tejidos, o bien las dosis aplicadas no fueron suficientes como para influir en ello.

En el Anexo III se muestran imágenes del tipo de corte observado.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones en que se realizaron los ensayos:

- 1) Hay una respuesta de la planta frente a la aplicación creciente de B al suelo, incrementándose la concentración de B a nivel foliar.
- 2) Solamente en el suelo de texturas gruesas y en la dosis máxima, se determinó en invierno un incremento de la concentración de B en las yemas respecto del testigo y en primavera, un incremento a nivel de brotes del nuevo crecimiento.
- 3) No se detectaron problemas de fito-toxicidad.
- 4) No es posible determinar el efecto del B sobre el desarrollo de raíces mediante la metodología empleada en este ensayo.

BIBLIOGRAFÍA

- Argawala, S., P. Sharma, C. Chatterjee and C. Sharma. 1981. Development and enzymatic changes during pollen development in boron deficient maize plants. *J. Plant Nutr.* 3: 329-336.
- Azcón-Bieto, J. y M. Talón. 2000. *Fundamentos de fisiología vegetal*. McGraw-Hill Interamericana, Madrid, España. 522p.
- Blevins, D. and K. Lukaszewski. 1998. Boron in plant structure and function. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 49: 481-500.
- Böhm, W. 1979. *Methods of studying root systems*. Springer Verlag, New York, USA. 187p.
- Bolaños, L., K. Lukaszewski, I. Bonilla and D. Blevins. 2004. Why boron? *Plant Physiology and Biochemistry* 42: 907-912.
- Brown, P. and H. Hu. 1996. Phloem mobility of boron is species dependent: evidence for phloem mobility in sorbitol-rich species. *Annals of Botany* 77(5): 497-506.
- Brown, P. and B. Shelp. 1997. Boron mobility in plants. *Plant and Soil* 193: 85-101.
- Cadahía, C. 2005. *Fertirrigación, cultivos hortícolas, frutales y ornamentales*. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, España. 682p.
- Caquisani, R. 2010. Efecto de la poda de raíces y tratamientos complementarios en vid de mesa cv. Thompson Seedless, segundo año. Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Santiago, Chile. 31p.
- Dickinson, D. 1978. Influence of borate and pentaerythritol concentrations on germination and tube growth of *lilium longiflorum* pollen. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103(3): 413-416.
- Dordas, C. and P. Brown. 2000. Permeability of boric acid across lipid bilayers and factors affecting it. *The Journal of Membrane Biology* 175: 95-105.
- Dordas, C., M. Chrispeels and P. Brown. 2002. Permeability and channel-mediated transport of boric acid across membrane vesicles isolated from squash roots. *Plant Physiology* 124: 1349-1361.
- Du Preez, T. 2003. *Fertigation of table and wine grapes*. Seminario Internacional de Fertirriego. Santiago de Chile. SQM.

- Fregoni, M. 1999. Viticoltura di qualità. Edizioni l' Informatore Agrario S.r.l. Italia. 705p.
- Gil, G. 2000. Fruticultura: la producción de fruta: fruta de climas templado y subtropical y uva de vino. Universidad Católica de Chile. 585p.
- Godoy, H. J. 1970. Efecto de niveles crecientes de calcio en el contenido foliar de boro en vid de la variedad Sultanina. Tesis Ingeniería Agronómica. Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Agronomía. 52p.
- Goldbach, H., Q. Yu, R. Wingender, M. Shultz, M. Wimmer, P. Findelee, F. Baluska. 2001. Rapid response reactions of roots to boron deprivation. J. Plant Nutr. Soil Sci. 164: 173-181.
- Goldberg, S. 1997. Reactions of boron with soils. Plant Soil 193: 35-48.
- Gunes, A., G. Soylemezoglu, A. Inal, E. Bagci, S. Coban and O. Sahin. 2006. Antioxidant and stomatal responses of grapevine (*Vitis vinifera* L.) to boron toxicity. Scientia Horticulturae 110: 279-284.
- Gupta, C. U. 1993. Boron and its role in crop production. CRC Press Inc, Boca Raton, FL. 237p.
- Hu, H. and P. Brown. 1997. Absorption of boron by plants roots. Plant and Soil 193: 49-58.
- Kamali, A. and N. Childers. 1970. Growth and fruiting of peach in sand culture as affected by boron and a fritted form of trace elements. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 95: 562-656.
- Marschner, H. 1986. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press, Toronto, Canada. 889p.
- Mei, L., O. Sheng, S. Peng, G. Zhou, Q. Wei and Q. Li. 2011. Growth, root morphology and boron uptake by citrus rootstock seedlings differing in boron-deficiency responses. Scientia Horticulturae 129: 426-432.
- Mertens, J., L. Van Laer, P. Salaets and E. Smolders. 2011. Phytotoxic doses of boron in contrasting soils depend on soil water content. Plant Soil 342: 73-82.
- Nable, R., G. Bañuelos and J. Paull. 1997. Boron toxicity. Plant and Soil 193: 181-198.
- Papadakis, I., K. Dimassi and I. Therios. 2003. Response of two citrus genotypes to six boron concentrations: concentration and distribution of nutrients, total absorption, and nutrient use efficiency. Aust. J. Agric. Res. 54: 571-580.

- Papadakis, I., K. Dimassi, A. Bosabadilis, I. Therios, A. Patakas and A. Giannakoula. 2004. Boron toxicity in 'Clementine' mandarin plants grafted on two rootstocks. *Plant Science* 166: 539–547.
- Razeto, B. 1993. La nutrición mineral de los frutales: deficiencias y excesos. SQM, Santiago, Chile. 105p.
- Razeto, B. 2004. Fertilizers for wine grapes B.H. Goldspink; J. Campbell; N. Lantzke; C. Gordon; N. Cross Editor: B.H. Goldspink, (1998). *Agriculture Western Australia; YARA, 2004*).
- Razeto, B. 2009. Symptoms of nutrient imbalances in fruit trees. SQM, Santiago, Chile. 185p.
- Reid, R. 2010. Can we really increase yields by making crop plants tolerant to boron toxicity? *Plant Science* 178: 9-11.
- Ruiz, R. 2000. Dinámica nutricional en cinco parrones de diferente productividad del valle central regado de Chile. *Agricultura Técnica* 60(4): 379-398
- Shorrocks, V.M. 1997. The occurrence and correction of boron deficiency. *Plant and Soil* 193: 121-148.
- Silva, H. y J. Rodríguez. 1995. Fertilización de plantaciones frutales. Ed. U. Católica, Santiago, Chile. 520p.
- Takano, J., K. Miwa and T. Fujiwara. 2008. Boron transport mechanisms: collaboration of channels and transporters. *Trends in Plant Science* 13(8): 451-457.
- Van Zyl, J. 1988. The grapevine root and its environment, Republic of South Africa. Department of agriculture and water supply. Technical Communication N°215. 146 p.
- Wimmer, M., K. Muhling, A. Lauchli, P. Brown, H. Goldbach. 2003. The interaction between salinity and boron toxicity affects the subcellular distribution of ions and proteins in wheat leaves. *Plant Cell Environ.* 26: 1267–1274.
- Winkler, A. 1965. *Viticultura*. Compañía Editorial Continental, México. 792p.
- Wojcik, P., M. Wojcik and K. Klamkowski. 2008. Response of apple trees to boron fertilization under conditions of low soil boron availability. *Scientia Horticulturae* 116: 58-64.
- Zapata, C., E. Deléens, S. Chaillou and C. Magné. 2004. Partitioning and mobilization of starch and N reserves in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Journal of Plant Physiology* 161: 1031-1040.

ANEXO I**PROTOCOLO DE INCLUSIÓN DE MUESTRAS EN PLÁSTICO JB-4**

FIJACIÓN : F.A.A.

DESHIDRATACIÓN : Alcohol etílico 70° - 80° - 90°, por 30 min cada uno.

a) **INFILTRACIÓN** : 25 cc de sol. A + 0,225 g de Catalizador (agitar 15 seg).
Tiempo: de 3 a 16 horas.

b) **INCLUSIÓN** : 25 cc de sol. A + 0,225 g de Catalizador + 1 cc de sol. B. Se incluye en tubo Ependorf.

c) **CORTE** : Ultramicrótomo

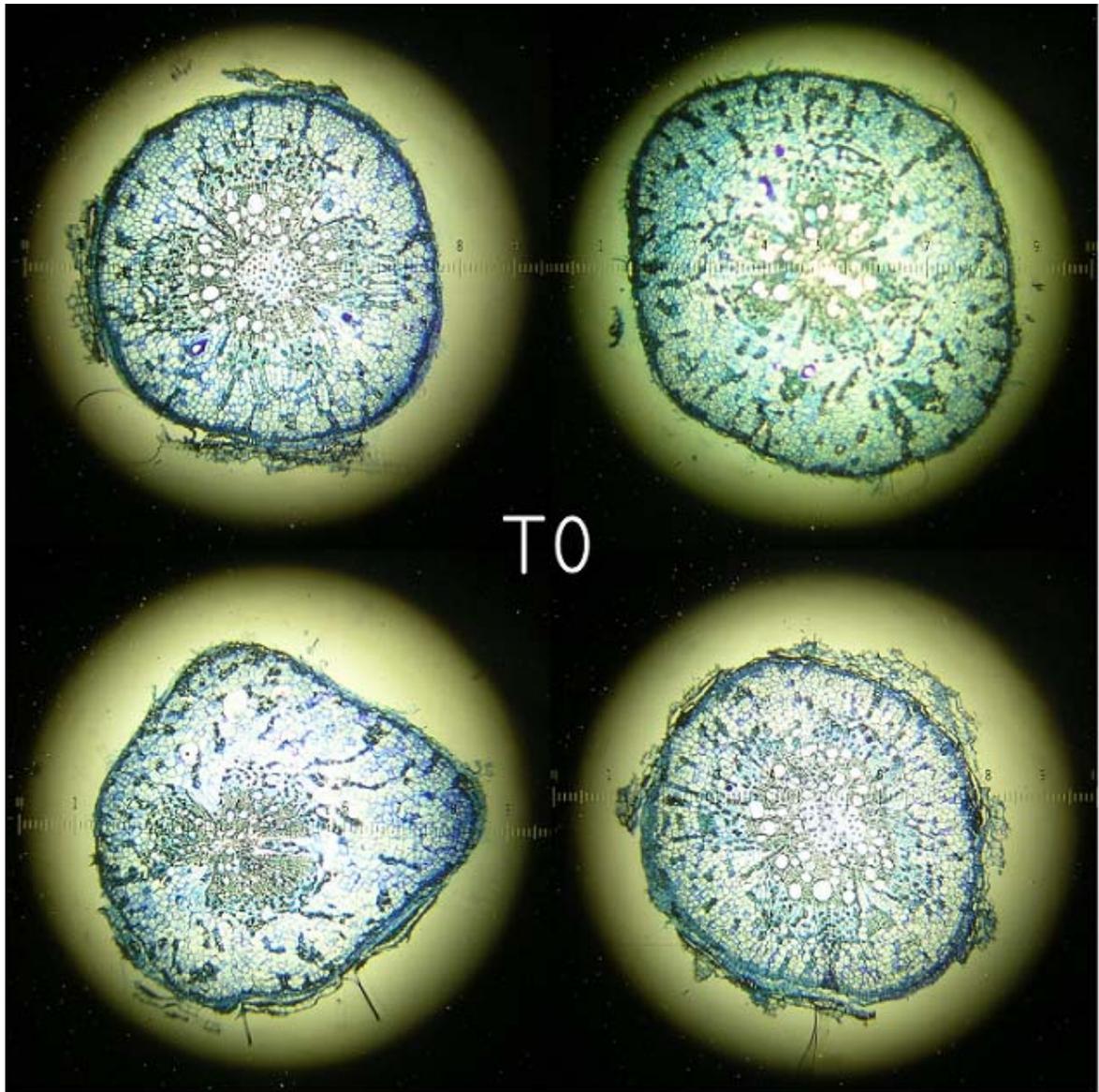
ANEXO II**PROTOCOLO DE TINCIÓN JB-4**

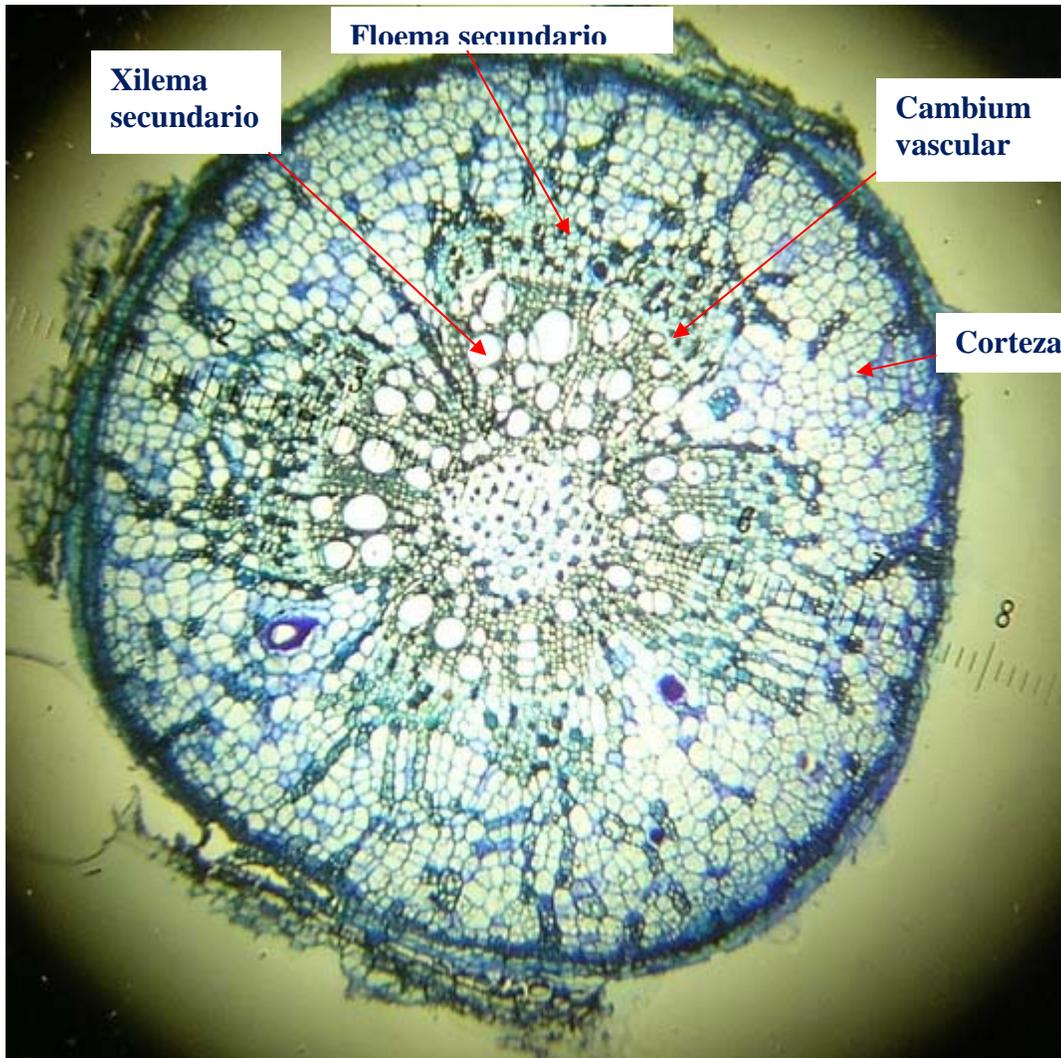
La siguiente secuencia de procedimientos se aplican sobre las muestras ya depositadas sobre un porta-objeto de vidrio.

1. Ácido Periódico 0,5% 10 min.
2. Lavado con agua corriente 10 min.
3. Reactivo de Schiff 10 min.
4. Lavado con agua corriente 10 min.
5. Bisulfito de Na 2 min.
6. Lavado con agua corriente 10 min.
7. Azul de Toluidina 0,5% (sal acuosa) 3 min.
8. Lavado con agua corriente hasta que no salga más colorante.
9. Secado a temperatura ambiente
10. Sellado con Bálsamo de Canadá

ANEXO III

FOTOGRAFÍAS DE CORTES HISTOLÓGICOS DE RAÍCES





APÉNDICE I

ANÁLISIS DE AGUA DE POZO

Resultados de Análisis de Agua efectuado por laboratorio Analab. Informe de Laboratorio N° 122954, de fecha 6-02-2004.

| Análisis Solicitado | Resultados |
|---|-------------------------|
| ARSÉNICO TOTAL (mg L ⁻¹ As) | menor a 0,005 |
| BARIO TOTAL (mg L ⁻¹ Ba) | menor a 1,0 |
| BERILIO TOTAL (mg L ⁻¹ Be) | menor a 0,1 |
| BORO TOTAL (mg L ⁻¹ B) | 0,22 |
| CADMIO TOTAL (mg L ⁻¹ Cd) | menor a 0,005 |
| CIANURO (mg L ⁻¹ CN ⁻) | menor a 0,20 |
| CLORUROS (mg L ⁻¹ Cl) | 14,35 |
| COBALTO TOTAL (mg L ⁻¹ Co) | menor a 0,01 |
| COBRE TOTAL (mg L ⁻¹ Cu) | menor a 0,20 |
| CONDUCTIVIDAD A 25°C | 458 uS cm ⁻¹ |
| CROMO TOTAL (mg L ⁻¹ Cr) | menor a 0,05 |
| FLUORURO (mg L ⁻¹ F) | 0,05 |
| HIERRO TOTAL (mg L ⁻¹ Fe) | menor a 0,5 |
| MANGANESO TOTAL (mg L ⁻¹ Mn) | menor a 1 |
| MERCURIO TOTAL (mg L ⁻¹ Hg) | menor a 0,001 |
| MOLIBDENO TOTAL (mg L ⁻¹ Mo) | menor a 0,010 |
| NIQUEL TOTAL (mg L ⁻¹ Ni) | menor a 0,05 |
| PLATA TOTAL (mg L ⁻¹ Ag) | menor a 0,05 |
| PLOMO TOTAL (mg L ⁻¹ Pb) | menor a 0,05 |
| SELENIO TOTAL (mg L ⁻¹ Se) | menor a 0,01 |
| SODIO TOTAL (mg L ⁻¹ Na) | 9,5 |
| SOL. DISUELTOS TOTALES (mg L ⁻¹) | 396,0 |
| SULFATO TOTAL (mg L ⁻¹ SO ₄ ⁻²) | 122,2 |
| VANADIO TOTAL (mg L ⁻¹ V) | menor a 0,10 |
| ZINC TOTAL (mg L ⁻¹ Pb) | 0,026 |