



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

DESARROLLO DE METODOLOGÍAS PARA EL ESTUDIO DE RAÍCES

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO AGRÓNOMO
Y AL GRADO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS AGROPECUARIAS,
MENCIÓN PRODUCCIÓN FRUTÍCOLA

MARIANA DÍAZ OTAZO

DIRECTOR DE TESIS
RODRIGO CALLEJAS RODRÍGUEZ

PROFESORES CONSEJEROS
ÓSCAR SEGUEL SEGUEL
CRISTIAN KREMER FARIÑA

SANTIAGO - CHILE
2013

ÍNDICE

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
El sistema radical	1
Crecimiento de la raíz	3
Métodos de estudios de raíces.....	3
Desarrollo histórico	3
Rizotrón	4
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	6
CAPÍTULO II. APLICACIÓN DEL RIZOTRÓN TIPO ESTRELLA PARA EL ESTUDIO DE RAÍCES DE PLANTAS DE VID.....	10
RESUMEN.....	10
CHAPTER II. APPLICATION OF THE RHIZOTRON STAR TYPE FOR THE STUDY OF ROOTS GRAPEVINE	11
ABSTRACT	11
INTRODUCCIÓN	12
Hipótesis.....	13
Objetivo	13
MATERIALES Y MÉTODOS	14
Diseño del rizotrón estrella.....	14
Metodología.....	15
Ubicación del ensayo	15
Material vegetal y sustrato.....	16
Ensayo 1. Efecto de la compactación de suelos sobre el crecimiento de raíces de vid.....	16
Ensayo 2. Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid	17
Ensayo 2.1 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid I.....	17
Ensayo 2.2 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid II.....	17
Ensayo 3. Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid	18

Ensayo 3.1 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid I.....	18
Ensayo 3.2 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid II.....	18
Evaluaciones.....	19
Análisis estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Ensayo 1. Efecto de la compactación de suelos sobre el crecimiento de raíces de vid.....	21
Ensayo 2. Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid.....	25
Ensayo 2.1 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid I.....	25
Ensayo 2.2 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid II.....	26
Masa fresca de raíces.....	26
Masa seca de raíces.....	27
Ensayo 3. Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid.....	30
Ensayo 3.1 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid I.....	30
Ensayo 3.2 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid II.....	30
Masa fresca de raíces.....	30
Masa seca de raíces.....	31
Rizotrófón tipo estrella.....	32
CONCLUSIONES.....	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
CAPÍTULO III. ESTIMACIÓN DEL SISTEMA RADICAL BASADO EN EL ANÁLISIS DE IMÁGENES DIGITALES MEDIANTE EL PROGRAMA COMPUTACIONAL WINRHIZO™.....	42
RESUMEN.....	42
CHAPTER III: ESTIMATING THE ROOT SYSTEM BASED ON DIGITAL IMAGE ANALYSIS USING WINRHIZO™ SOFTWARE.....	43
ABSTRACT.....	43
INTRODUCCIÓN.....	44
Hipótesis.....	46
Objetivo.....	46

MATERIALES Y MÉTODOS	47
Construcción de rizotróon	47
Lugar de estudio.....	48
Material vegetal y sustrato.....	48
Tratamientos y diseño experimental.....	48
Evaluaciones	49
Parámetros radicales	49
Cosecha.....	50
Análisis estadístico.....	50
RESULTADOS	52
Seguimiento del crecimiento de raíces.....	52
Datos de seguimiento <i>versus</i> campo	56
Datos de campo	57
DISCUSIÓN	60
CONCLUSIONES	63
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	64
APÉNDICE	69

CAPÍTULO I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

El sistema radical

La raíz es la estructura subterránea de la planta que realiza varias funciones importantes: provee anclaje, suministra agua y minerales, y tiene un papel regulador, con hormonas como citoquininas, giberelinas y ácido abscísico (Davies *et al.*, 2005, Jiang y Hartung, 2008). Además, cumple la función de almacenamiento de reservas (Richards, 1983). Sin embargo, por el hecho de estar bajo tierra y no ser fácilmente accesibles, las raíces han sido menos estudiadas que los brotes de las plantas (Huck y Taylor, 1982).

La raíz genera efectos sobre el tamaño y estructura de las plantas, determinando también su capacidad productiva, y la calidad de la fruta (Gil, 2000). Por esta razón, Taylor *et al.* (1990) mencionan que entender el crecimiento y desarrollo de la raíz es importante para mejorar la calidad de la planta y determina el éxito de la producción.

Como es sabido, el desarrollo radical de frutales depende de características genéticas propias de la variedad o del portainjerto que se utilice (Winkler *et al.*, 1974; Waisel *et al.*, 1996), sin embargo, su expresión puede ser alterada por condiciones ambientales, en particular por las propiedades físicas del suelo (Richards, 1983).

Habitualmente, los suelos son descritos en base a un conjunto de propiedades físicas, tales como la estructura, la textura, la densidad aparente, la distribución y tamaño de poros y las características morfológicas de los perfiles. Sin embargo, el efecto de estos factores sobre el crecimiento del sistema radicular de las plantas es indirecto. Los factores que directamente afectan el desarrollo del sistema radical y el nivel productivo, son las condiciones hídricas, térmicas, mecánicas y de aireación, que se generan en los suelos como consecuencia de la interacción de los factores indirectos antes mencionados y de las prácticas de manejo utilizadas (Letey, 1985).

De las cuatro condiciones directamente relacionadas con el desarrollo de las raíces, la condición hídrica es la que controla el comportamiento de las restantes en la mayor parte de los casos (Bengough *et al.*, 2006). La interrelación agua-aireación es, en sus efectos sobre la planta, opuesta a la interrelación agua-resistencia mecánica, de este modo, al incrementarse el contenido de agua, disminuye la resistencia mecánica del suelo al crecimiento radical (efecto deseable), pero simultáneamente puede reducirse la aireación, llegando a un cuadro de asfixia radical, lo cual es un efecto indeseable. Una interpretación similar debe ser considerada para la interrelación agua-temperatura versus agua-resistencia mecánica. Así por ejemplo, la mantención de contenidos de agua

relativamente altos, a principios de primavera, sin que se afecte el transporte de gases, a fin de reducir la resistencia mecánica, conduce a una situación de suelo más fría o más difícil de calentar (Letey, 1985).

La compactación del suelo aumenta la densidad aparente y la resistencia mecánica. Al modificarse estos factores, también lo hace la geometría de los poros, influyendo sobre el número y distribución del tamaño de éstos, lo que hace disminuir los macroporos y aumentar los microporos. Efectos derivados de lo anterior son la disminución de la capacidad de aire del suelo, el aumento de la retención de agua, la disminución de la velocidad de infiltración y la difusión de los gases, entre otros (Gupta *et al.*, 1989).

En la vid, su potencial productivo normalmente se relaciona con el desarrollo de la parte aérea de la planta, realizándose numerosos estudios con énfasis en dicha parte, superficial, dejando de lado el estudio del comportamiento de las raíces (Rojo, 2008). No obstante, Richards (1983) menciona que existe una relación estrecha entre el crecimiento de la parte aérea y la actividad del sistema radical de la planta de vid demostrándose que existe una alta correlación entre el crecimiento de la copa y el crecimiento de la raíz (Gil, 2000; Rojo, 2008). La relación entre los logaritmos de los pesos secos de la copa y de la raíz es alométrica, esto indica que hay una constante entre ambas tasas de crecimiento relativo, por consiguiente, existe en la planta un mecanismo eficiente para controlar el crecimiento de brotes y raíces, de modo que el tratamiento de uno de ellos altera al otro para ajustarse (Gil, 2000). Los trabajos de Davidson (1969), Van Noordwijk *et al.* (1985) y De Willigen y Van Noordwijk (1989), han demostrado la existencia de un "equilibrio funcional" coordinado entre el sistema radical y la parte aérea, situación en la cual, tanto raíces como brotes responden a la efectividad con que el órgano complementario de la planta obtiene sus necesidades básicas del medio, así la respuesta a factores externos dependerá de la situación interna de la planta, donde intervienen reservas orgánicas, nutrientes y hormonas. Los trabajos realizados en vides por Honorato *et al.* (1988) avalan dicho concepto.

Aunque frecuentemente las raíces han sido excluidas de los análisis en la investigación frutícola, el crecimiento y la arquitectura del sistema radical son factores importantes que afectan el desempeño y la sobrevivencia de la plantas (Wright y Wright, 2004).

Dada la importancia del sistema radical en el establecimiento y posterior desarrollo de la vid, resulta fundamental implementar metodologías que permitan evaluarlo en diferentes condiciones, así como estudiar algunas propiedades del suelo que afectan directa o indirectamente el crecimiento y distribución del sistema radical (Honorato *et al.*, 1988). A su vez, es necesario conocer los efectos de los diferentes factores sobre el periodo de crecimiento de la raíz (Ibacache y Lobato, 1995), registrando información acerca de patrones espaciales y temporales de crecimiento (Metcalf, 2006). Entre las características de las raíces, la masa ha sido usada para evaluar la cantidad y el tamaño funcional del sistema radical (Costa *et al.*, 2000).

Crecimiento de la raíz

El crecimiento de la raíz y la profundidad de arraigamiento puede ser restringidos debido a impedimentos físicos y químicos (Passioura, 2002). La mayoría de las raíces que crecen en el suelo experimentan algún grado de impedancia mecánica, y si no existen poros continuos de tamaño apropiado entonces la región distal de la raíz debe ejercer la fuerza suficiente para deformar el suelo. Las raíces son a menudo más grandes que los poros llenados por agua a capacidad de campo, de modo que poros más disponibles y ocupables son los espacios principales en los cuales las raíces pueden crecer. Si el suelo no se deformara, las raíces tienen una capacidad limitada para modificar su anatomía y entrar en un poro que es normalmente más pequeño que su diámetro (Passioura, 2002).

En suelos densos, donde la densidad aparente aumenta con la profundidad, las raíces se limitan a crecer en los espacios generados por grietas (Passioura, 2002).

Al respecto, Martino y Shaykewich (1994) establecieron que una resistencia de 2000 kPa del suelo es crítica para la penetración radical y que es independiente de la textura; sin embargo, en la mayoría de los casos con resistencias mayores de 2000 kPa, las raíces son capaces de crecer utilizando los canales bióticos, los espacios y las heterogeneidades de la estructura del suelo.

Como comparación con las cargas ejercidas por las raíces (Misra *et al.*, 1986), la presión máxima que una raíz puede ejercer está restringida a alrededor de 700 a 1300 kPa en la dirección axial y de 400 a 600 kPa en la dirección radial.

Hossne y Salazar (2004) relacionaron la penetración radical (%) y la tensión axial (kPa) de las raíces con respecto a la resistencia del suelo y concluyeron que al aumentar la resistencia del suelo, la tensión axial compresiva o ejercida por la raíz, aumenta de tal forma que produce un crecimiento radical semi constante hasta tender a cero, cuando la resistencia del suelo está entre los 2 y 3 MPa.

Métodos de estudios de raíces

Desarrollo histórico

Los estudios sistemáticos sobre el sistema radical se iniciaron en el siglo XVIII. Con técnicas de simple excavación, es así como Hales (1727) determinó morfología peso y longitud de plantas cultivadas. Posteriormente, Duhamel Du Monceau (1764-1765) excavó raíces de árboles para su estudio. Luego de eso, por más de cien años no se documentó ninguna investigación importante en sistemas de raíces (Böhm, 1979)

Con el aumento del uso de fertilizantes minerales en la agricultura durante la segunda mitad del siglo XIX, científicos del área agronómica se interesaron en estudiar sistemas de raíces, hasta que la mayoría de las excavaciones fueron hechas en plantas de interés agrícola. Los pioneros de las investigaciones en campo fueron los alemanes, quienes entre 1855-1857 lavaron sistemas de raíces de plantas de cereales en un perfil de pared con agua presurizada (Böhm, 1979). La necesidad de más información sobre la dinámica de los sistemas radicales permitió el desarrollo de las actuales técnicas de estudio.

Rizotrón

Böhm (1979) realizó una revisión de los métodos para el estudio del crecimiento y distribución de raíces en los suelos. Uno de los métodos descritos fue la observación del crecimiento de raíces en suelos a través de paredes transparentes. Esta técnica tiene al menos 125 años de edad (Box, 1996). Sachs (1873, citado por Huck y Taylor, 1982; Box, 1996) fue uno de los pioneros en el estudio de las raíces de plantas al usar una simple caja de paredes de vidrio la cual relleno con suelo. Así nace el concepto de rizotrón, del vocablo griego “rhizo” (raíz) y “tron” (dispositivo para estudio). La palabra fue acuñada para facilitar su uso en ciencia moderna (Huck y Taylor, 1982).

El rizotrón es un contenedor de pared transparente que le permite al investigador observar las raíces de la misma planta y su rizósfera durante su crecimiento. Las plantas son cultivadas en el espacio adyacente a la ventana del rizotrón, de manera tal que una cierta cantidad de las raíces interceptan la ventana y pueden ser observadas (Taylor *et al.*, 1990).

Tradicionalmente, los rizotrones eran cámaras subterráneas cubiertas (Taylor, 1969) o pasillos en zanjas con ventanas de observación en uno o ambos costados (Box, 1996). Los rizotrones tradicionales bajo tierra pueden permitir observación de algún crecimiento lateral, de cualquier forma son caros y pueden ser difíciles de construir (Huck y Taylor, 1982). Debido a esto que los diferentes tipos de rizotrones han variado desde estas cámaras subterráneas al desarrollo de pequeños tubos accesibles por modernos equipos de registro de video (Box, 1996). Ejemplos publicados son los rizotrones desarrollados por Taylor (1969), quien construyo un laboratorio subterráneo equipado con un pasillo central de 21,9 m de largo, 2,4 m de profundidad y 4 m de ancho, con ventanas a cada lado para permitir la visión de los perfiles de suelo. James *et al.* (1985), desarrollaron una cámara de observación con dos placas de acrílico transparente de 20×20×0,5 cm, separados un centímetro por tubos plásticos donde las placas son fijadas a los tubos mediante pernos pequeños. Otro tipo de rizotrón es el desarrollado por Wright y Wright (2004), denominado “*horhizotron*”, un instrumento de medición horizontal, que incluye cuatro cuadrantes en forma de cuña que se extienden desde un centro permitiendo evaluar el crecimiento de las raíces en su etapa de crecimiento horizontal. Brown y Upchurch (1987) utilizaron tubos plásticos transparentes denominados minirizotrones, donde la superficie del tubo se coloca

en contacto directo con el suelo, permitiendo que las raíces que crecen entren en contacto con el tubo. Una gran variedad de sistemas han sido empleados para observar las raíces y obtener imágenes usando minirizotrones; periscopios (Richards, 1984), videocámaras (Upchurch y Ritchie, 1983), hasta sistemas de digitalización automatizada de imágenes a través de escáneres (Dannoura *et al.*, 2008; Abrisqueta, 2011). Sin embargo, los tubos de observación o minirizotrones son caros y proveen información sólo en un número limitado de raíces (Böhm, 1979; McMichael *et al.*, 1992).

Las metodologías de observación utilizando rizotrones facilitan un método *in situ* (Hilton *et al.*, 1969; McLean *et al.*, 1992) y no destructivo (McLean *et al.*, 1992 y Böhm, 1979) para evaluar el crecimiento y mortalidad de raíces individuales (Van Noordwijk *et al.*, 1985, citado por Hemard, 2009). A través de los rizotrones se puede ver el perfil del suelo y el crecimiento de raíces (Richards, 1983, Wright y Wright, 2004); asimismo, se puede obtener información como la determinación indirecta de la cantidad de raíces y su crecimiento en profundidad (Huck y Taylor, 1982; McLean *et al.*, 1992), con la posibilidad de observar continuamente las raíces por un prolongado periodo de tiempo (Ibacache y Lobato, 1995; Hemard, 2009).

El rizotrón posee varias ventajas sobre la mayoría de los otros métodos de estudio de raíces (Taylor *et al.*, 1990). Es posible realizar fácilmente las mediciones sucesivas en la misma raíz o una parte visible del sistema radical al que se accede y es sencillo de encontrar una porción específica del sistema radical cuando uno de los objetivos es hacer series de observaciones (Box, 1996). Dentro de las limitaciones se menciona el costo inicial de la infraestructura (Huck y Taylor, 1982), así como también sólo permiten una limitada superficie de observación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrisqueta, I. 2011. Balance hídrico y respuesta del melocotonero extratemprano al riego deficitario. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia, Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS), Madrid. 234h.

Bengough, A. G.; M. F. Bransby; J. Hans; S. J. McKenna; T. J. Roberts and T. A. Valentine. 2006. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. *Journal of Experimental Botany*, 57(2): 437-447.

Böhm, W. 1979. *Methods of studying root system*. Springer-Verlag, Berlin. 187p.

Box J. E. 1996. Modern methods for root investigations. (pp. 193-237). In: Waisel, Y.; A. Eshel and U. Kafkafi, (eds.). *Plant Roots: The hidden half*. Marcel Decker, New York, 1002p.

Brown, D.A. and D. R. Upchurch. 1987. Minirhizotrons: a summary of methods and instruments in current use (pp. 15-30). In: Taylor, H.M. (ed.). *Minirhizotron observation tubes: Methods and Applications for measuring rhizosphere dynamics*. ASA Special Publication Number 50, American Society of Agronomy, Madison, WI. 143p.

Costa, A.; L. Dwyer; R. Hamilton; C. Hamel; L. Nantais, and D. L. Smith. 2000. A sampling method for measurement of large root systems with scanner-based image analysis. *Agronomy Journal*, 92: 621-627.

Dannoura, M.; Y. Kominami; H. Oguma and Y. Kanazawa. 2008. The development of an optical scanner method for observation of plant root dynamics. *Plant Root*, 2: 14-8.

Davidson, R. L. 1969. Effects of soil nutrients and moisture on root/shoot ratios in *Lolium perenne* L. and *Trifolium repens* L. *Annals of Botany*, 33(3): 571-577.

Davies, W. J.; G. Kudoyarova and W. Hartung. 2005. Long-distance ABA signalling and its relation to other signalling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the plant's response to drought. *Journal of Plant Growth Regulation*, 24: 285-295.

De Willigen P. and M. Van Noordwijk. 1989. Model calculations on the relative importance of internal longitudinal diffusion for aeration of roots of non-wetland plants. *Plant and Soil*, 113: 111-119.

- Duhamel du Monceau, H. L. 1764. De l'exploitation des bois, Paris. 351p.
- Gil, G. 2000. Fruticultura: El potencial productivo. 3ª ed. Ediciones Universidad Católica. Santiago, Chile. 342p.
- Gupta, S.; P. Sharma and S. Defranchi. 1989. Compaction effects on soil structure. *Advances In Agronomy*, 42: 311-338.
- Hales, S. 1727. *Vegetable staticks*, London. 216p.
- Hemard, C. 2009. Evaluación del crecimiento anual de raíces de vid y el efecto de los nematodos, en parrales de uva de mesa. Tesis Ingeniero Agrónomo y Magíster en Ciencias Agropecuarias, Mención Producción Frutícola. Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. 92h.
- Hilton, R. J; D. S. Bhar and G. F. Mason. 1969. A rhizotron for in situ root growth studies. *Canadian Journal of Plant Science*, 49: 101-104.
- Honorato, R.; H. Silva y C. Bonomelli. 1988. Efecto del suelo en el patrón de enraizamiento y productividad de la vid. *Ciencia e Investigación Agraria*, 15(3): 159-171.
- Hossne, A. y J. Salazar. 2004. Límites de consistencia y sus implicaciones agrícolas en un suelo ultisol de sabana del estado Monagas, Venezuela. *Agronomía Costarricense*, 28(1): 69-80.
- Huck, M. G. and H. M. Taylor. 1982. The rhizotron as a tool for root research. *Advances In Agronomy*, 35: 1-35.
- Ibacache, A. y A. Lobato. 1995. Períodos de crecimiento de raíces en vid. *Revista Frutícola*, 16(1): 23-26.
- James, B. R.; R. J. Bartlett and J. F. Amadon. 1985. A root observation and sampling chamber (rhizotron) for pot studies. *Plant and Soil*, 85(2): 291-293.
- Jiang, F. and W. Hartung. 2008. Long-distance signalling of abscisic acid (ABA): the factors regulating the intensity of the ABA signal. *Journal of Experimental Botany*, 59(1): 37-43.
- Letey, J. 1985. Relationship between soil physical properties and crop production (pp.277-294). In: Stewart B. A. *Advances in Soil Science*. Volume I. Springer New York. 300p.

Martino, D. L. and C. F. Shaykewich. 1994. Root penetration profiles of wheat and barley as affected by soil penetration resistance in field conditions. *Canadian Journal of Soil Science*, 74(2): 193-200.

McLean, M.; G. S. Howell and A. J. Smucker. 1992. A minirhizotron system for in situ root observation studies of Seyval grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43(1): 87-89.

McMichael, B. L.; D. R. Upchurch and H. M. Taylor. 1992. Transparent wall techniques for studying root growth and function in soil. *Journal of Plant Nutrition*, 15: 735-762.

Metcalf, D. 2006. Manual de cálculo de dinámicas de raíz para ecosistemas tropicales. Sixth Framework Programme 2002-2006. University of Edinburgh, School of Geosciences, Drummond Street. Edinburgh, Scotland, U.K. 20p.

Misra, R. K.; A. R. Dexter and A. M. Alston. 1986. Maximum axial and radial growth pressures of plant roots. *Plant and Soil*, 95(3): 315-326.

Passioura, J. B. 2002. Soil conditions and plant growth. *Plant, Cell & Environment*, 25(2): 311-318.

Richards, D. 1983. The grape root system. *Horticultural Reviews*, 5: 127-168.

Richards, J.H. 1984. Root growth response to defoliation in two *Agropyron bunchgrasses*: field observations with an improved root periscope. *Oecologia* 64: 21-25.

Rojo, E. 2008. Estimación del desarrollo del sistema radical y su relación con el potencial productivo en vid. Tesis Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. 43h.

Taylor, H. M. 1969. The rhizotron at Auburn Alabama- A plant root observation laboratory. Auburn University Agricultural Experimental Station. Circular 197, 9p.

Taylor, H. M.; D. R. Upchurch and B. L. McMichael. 1990. Applications and limitations of rhizotrons and minirhizotrons. *Plant and Soil*, 129: 29-35.

Upchurch, D. R. and J. T. Ritchie. 1983. Root observations using a video recording system in minirhizotrons. *Agronomy Journal*, 75: 1009-1015.

Van Noordwijk, M.; J. Floris and A. Dejager. 1985. Sampling schemes for estimating root density distribution in cropped fields. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 33: 241-262.

Waisel, Y.; A. Eshel and U. Kafkafi. 1996. *Plant Roots: The hidden half*. Marcel Decker, New York, 1002p.

Winkler A. J.; J. A. Cook; W. M. Kliwer and L. A. Lider. 1974. *General viticulture*. University of California Press, Berkeley, 710p.

Wright, A. N. and R. D. Wright. 2004. The Horhizotron™: a new instrument for measuring root growth. *HortTechnology*, 14: 560-563.

CAPÍTULO II. APLICACIÓN DEL RIZOTRÓN TIPO ESTRELLA PARA EL ESTUDIO DE RAÍCES DE PLANTAS DE VID

RESUMEN

Aunque el crecimiento de las raíces es fundamental para el rendimiento integral de la planta, su conocimiento ha permanecido como un desafío. El objetivo de este trabajo fue evaluar la eficacia del contenedor denominado rizotróon tipo estrella, el cual posee cuatro cuadrantes aislados para estudiar simultáneamente el comportamiento de las raíces de una misma planta, bajo cuatro tratamientos diferentes. Se desarrollaron cinco ensayos: uno evaluando cuatro rangos de compactación (0,9-1,1, 1,2-1,4, 1,5-1,7 y 1,8-2,0 MPa); dos ensayos de riego donde se manejó el contenido volumétrico de agua ($\% \theta$) entre suelo saturado y 10, 18, 24 y 30 $\% \theta$ respectivamente para el primero y $\% \theta$ entre suelo saturado y 10, 18, 28 y 35 $\% \theta$ para el segundo; y dos ensayos con el regulador de crecimiento, tidiázurón (0, 1, 5 y 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ y 0, 5, 25 y 50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$). Cada ensayo se estableció utilizando un diseño en bloques completamente aleatorizado, utilizando plantas de uva de mesa variedad 'Thompson Seedless' injertadas sobre Freedom. Luego de 15 semanas se evaluó el crecimiento de raíces a través de la masa fresca y seca. Los resultados mostraron diferencias significativas entre los tratamientos de los ensayos de compactación y riego, donde se comprobó que existe un efecto negativo de la compactación sobre el crecimiento de raíces, y que niveles inadecuados del contenido de agua en el suelo pueden desfavorecer el crecimiento de las raíces, tanto por exceso como por déficit, pues los rangos de θ_s -24 $\% \theta$ y θ_s -28 $\% \theta$ obtuvieron las mayores masas de raíces. No se obtuvieron diferencias entre los tratamientos de tidiázurón empleados. Los resultados indican que el rizotróon tipo estrella permite evaluar simultáneamente diversos tratamientos sobre las raíces de una misma planta, por lo tanto es una herramienta útil para el estudio del sistema radical.

Palabras clave: compactación, riego, sistema radical, tidiázurón.

CHAPTER II. APPLICATION OF THE RHIZOTRON STAR TYPE FOR THE STUDY OF ROOTS GRAPEVINE

ABSTRACT

Although root growth is essential for plant overall performance, knowledge has remained a challenge. The purpose of this study was to evaluate the effectiveness of a container named star type rhizotron, which presents four isolated quadrants allowing the simultaneous study of roots behavior of one plant, under four different treatments. Five trials were developed: one evaluating compactness (0.9-1.1, 1.2-1.4, 1.5-1.7 and 1.8-2.0 MPa); two irrigation trials where volumetric water content (θ) was managed between saturated soil and 10, 18, 24 and 30 % θ for the first trial and θ between saturated soil and 10, 18, 28 and 35 % θ for the second; and two experiments with the plant growth regulator thidiazuron (0, 1, 5 and 10 mg·L⁻¹ and 0, 5, 25 and 50 mg·L⁻¹). Each trial was established using a completely randomized block design using cv. Thompson Seedless table grapes grafted on Freedom. After 15 weeks, root growing was evaluated by fresh and dry mass. Results showed significant differences between treatments for compactness and irrigation trials, showing negative effects of compactness over root growth, as well as inadequate levels of water content in the soil, both excess and deficit, lessening root development, with θ s-24% θ and θ s-28 % θ displaying higher root mass. There were no differences between tested thidiazuron treatments. Results show that the star type rhizotron allows simultaneous evaluation of various treatments on roots of the same plant, therefore is a useful tool for the root system study.

Keywords: compactness, irrigation, radical system, thidiazuron.

INTRODUCCIÓN

Los ensayos en contenedores permiten realizar experimentos cuyos resultados se aproximan a los obtenidos en campo, por lo que se presentan como una alternativa para el estudio de raíces, pero sin los requisitos de superficie, ni requerimientos de suelo (Tinus y Owston, 1984), ni el trabajo laborioso de aplicación de tratamientos (Cousin y Lanier, 1976). Los cultivos en contenedores tienen en común producir plantas con un grado de artificialización, en un volumen limitado de suelo puesto a disposición del sistema radicular (Lemaire *et al.*, 2003), siendo el volumen del contenedor una de las principales variables a considerar (Domínguez, 1997). Por lo tanto, un determinado tipo de contenedor adaptado a los objetivos del investigador, permite realizar el estudio del crecimiento de raíces bajo las condiciones experimentales deseadas (Huck y Taylor, 1982).

El crecimiento de las raíces depende de factores ambientales del suelo en el que se desarrollan, de factores internos y de las relaciones mutuas con la parte aérea. Entre los factores del medio se destacan las propiedades físicas y químicas del suelo (Acevedo, 1979; Coletto, 1994). Según Gregory (1992), los principales factores que afectan el crecimiento de las raíces son: el contenido de agua del suelo; la temperatura del suelo; el sistema de poros en el que pueden crecer las raíces junto a la resistencia del efecto cortante y la compresibilidad del suelo; el suministro de oxígeno; el nivel de patógenos en el suelo y el aporte de nutrientes. Muchos de estos factores interactúan entre sí y se encuentran estrechamente relacionados. Por ejemplo, compactar el suelo puede no sólo reducir el tamaño medio de los poros sino también cambiar la aireación y el estado hídrico del suelo.

La compactación es el aumento de la densidad de un suelo como resultado de una presión aplicada. Puede ser evaluada a través de indicadores, ya que hay un aumento de la resistencia mecánica (dureza) a la penetración de raíces, lo que se refleja en la resistencia a la penetración medida con un penetrómetro (Forsythe *et al.*, 2005).

Por otro lado, el contenido hídrico, o más específicamente los potenciales hídricos del perfil del suelo, afectan directamente la distribución de raíces (Atkinson, 1980; Wiersum, 1980; Hamblin y Tennant, 1987; Drew, 1988; Fernández *et al.*, 1992; Baker *et al.*, 1992; Klepper, 1992; Smucker y Aiken, 1992; Zhang *et al.*, 1996; Burgess *et al.*, 1998), como también su morfología y su comportamiento funcional (Bengough *et al.*, 2006).

Se ha afirmado que la estrecha coordinación entre la raíz y el crecimiento de brotes está controlada en gran medida por un mecanismo hormonal con un importante sitio de control que reside en el sistema de raíces (Richards, 1986). Se sugiere que el crecimiento de raíces puede conducir a un aumento en la síntesis de citoquininas (Gladstones, 1992; Werner *et al.*, 2001). Entre las alternativas para incrementar el sistema radical está la aplicación de reguladores de crecimiento.

Dentro de los estimuladores de raíces que son capaces de alterar el crecimiento de las plantas, están las citoquininas, que son esenciales en la regulación muchos procesos fisiológicos en las plantas. Influyen en procesos de desarrollo como la dominancia apical, ramificación y crecimiento de las raíces entre otros (Mok y Mok, 2001; Schmölling, 2002) siendo las raíces sitios potenciales de la biosíntesis (Emery y Atkins, 2002). Entre las citoquininas sintéticas está la fenilurea, tiazurón (TDZ) (Murthy *et al.*, 1998). El efecto de la aplicación exógena de TDZ está documentado con aplicaciones prácticas en el cultivo de tejidos y la agricultura (Lu, 1993).

Hipótesis

Mediante el empleo del rizotrófon estrella, que provee cuatro cuadrantes, es posible encontrar diferencias en la respuesta de crecimiento de las raíces de una misma planta bajo cuatro tratamientos diferentes en forma simultánea.

Objetivo

Desarrollar y evaluar la eficacia de un contenedor, rizotrófon estrella, con cuatro cuadrantes para el estudio de variables en forma simultánea sobre el crecimiento de raíces de una misma planta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño del rizotrón estrella

Este rizotrón se denominó así por su forma de estrella de cuatro brazos o cuadrantes que irradian desde un centro. Se construyó con un volumen total de $0,075 \text{ m}^3$, con cada cuadrante de $0,016 \text{ m}^3$. Se elaboraron ocho caras de $0,25 \times 0,40 \text{ m}$ en un marco soldado de tiras de fierro (perfil laminado de $20 \times 20 \times 2 \text{ mm}$). Cada cuadrante se conformó de 2 caras unidas en los extremos exteriores por láminas de $0,10 \times 0,25 \text{ m}$. El rizotrón se formó de la unión de los cuatro cuadrantes por sus extremos interiores. Se alternaron en cada cuadrante una cara de vidrio de 8 mm , para permitir observación en este perfil, y una cara de fibrocemento de 8 mm . La cara de vidrio se cubrió, para evitar que la luz y las fluctuaciones de temperatura afectaran el crecimiento de las raíces. En la Figura 1 se presenta una visión esquemática del rizotrón estrella, con una vista superior, de la esquina de un cuadrante, ángulos interiores y exteriores, y una vista lateral de la estructura.

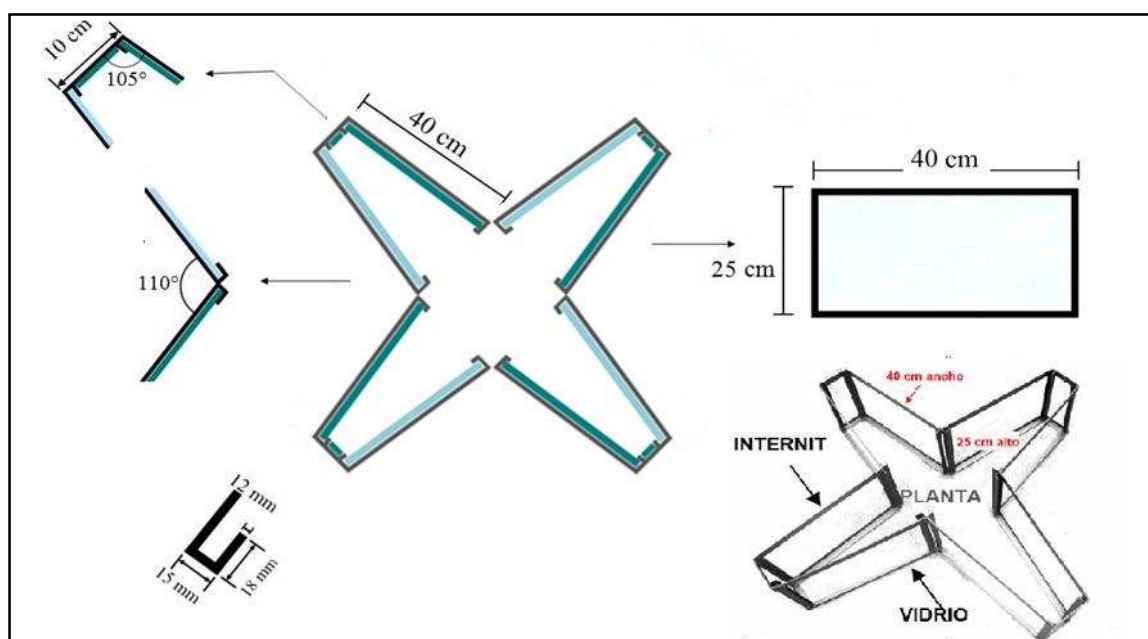


Figura 1. Diagrama esquemático del rizotrón estrella.

La condición en cada cuadrante se modificó, física, hídrica y químicamente, constituyendo así un tratamiento diferente en cada esquina, permitiendo aplicar cuatro tratamientos en una misma planta (Figura 2).

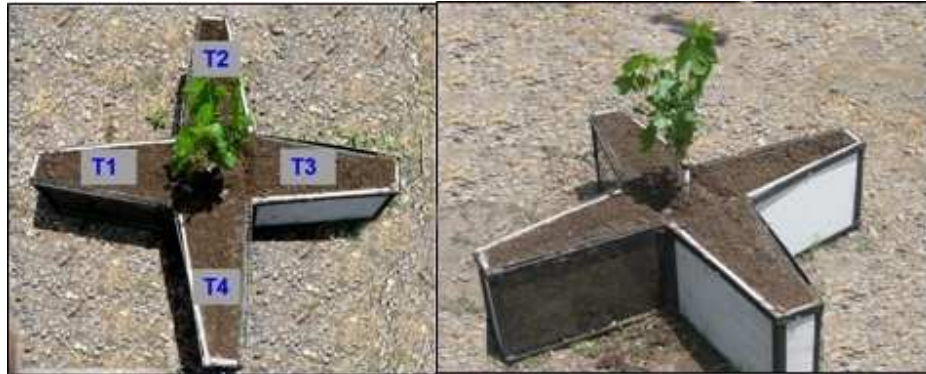


Figura 2. Disposición de los tratamientos en el rizotrón estrella.

Metodología

Los ensayos destinados a probar la eficacia del rizotrón estrella abarcaron experimentos de compactación, riego y aplicación de Tiazurón (TDZ, Splendor®).

Ubicación del ensayo

Los ensayos se realizaron en el Campus Antumapu, Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, La Pintana, Santiago, Región Metropolitana, Chile (33°34' S, 70°38' O, 620 m.s.n.m.) el cual presenta un clima semiárido (CIREN, 1990).

Material vegetal y sustrato

Se utilizaron plantas de vid, *Vitis vinifera* L., 'Thompson Seedless' sobre portainjerto Freedom, de un año de edad, plantadas en un suelo franco arcillo arenoso tamizado a 4 mm.

Ensayo 1. Efecto de la compactación de suelos sobre el crecimiento de raíces de vid

En cada rizotrón se establecieron cuatro tratamientos, uno en cada cuadrante, con niveles crecientes de compactación (Cuadro 1), cuyos rangos se determinaron en relación a lo descrito por Bengough *et al.* (2006). Se utilizó un diseño en bloques completos al azar de 4 tratamientos, con 4 repeticiones por tratamiento. La unidad experimental fue un cuadrante del rizotrón, y el bloque lo constituyó la planta.

La compactación se obtuvo por impacto del suelo. Se utilizó un pisón de madera de 5 cm de espesor en forma de trapecio isósceles (bases menor y mayor de 8 y 16 cm respectivamente y lados de 35 cm) provisto de un mango metálico de 30 cm. Cada cuadrante fue llenado por capas de 2 cm de suelo distribuido de manera uniforme, dejando caer el instrumento apisonador de una altura constante de 0,5 m y midiendo con un penetrómetro de impacto para confirmar el rango de compactación designado (Extech Instruments Corp., modelo 475044, EE.UU.). Luego, se estableció la planta al centro de cada rizotrón, considerando una compactación de 1 MPa aproximadamente.

Cuadro 1. Tratamientos de compactación.

Tratamientos	Compactación (MPa)
T1	0,9-1,1
T2	1,2-1,4
T3	1,5-1,7
T4	1,8-2,0

Ensayo 2. Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid

Ensayo 2.1 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid I

En cada cuadrante del rizotróon se aplicaron riegos considerando diferentes umbrales en función del contenido volumétrico de agua ($\theta\%$) (Cuadro 2), donde $\theta_s - \theta_i$ corresponde al rango establecido entre saturación (θ_s) y el contenido de agua al momento de riego (θ_i). Es decir, se regó cuando el contenido de agua disminuyó, de un suelo a saturación (θ_s) hasta el θ_i asignado en cada tratamiento (10, 18, 24 y 30 θ). El contenido de agua se evaluó con un sensor de humedad, utilizando un equipo de reflectometría de dominio temporal, TDR (Fieldscout TDR 100, Spectrum Technologies Inc., EE.UU.). Las plantas se dispusieron en el centro de cada rizotróon, dejándose establecer por un periodo de 4 semanas, donde se regaron considerando un 20 $\theta\%$ para suministro de riego, luego de ese periodo se comenzó con el riego diferenciado según cada tratamiento en cada cuadrante. El centro del rizotróon se regó siempre con la misma condición. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar de 4 tratamientos, con 4 repeticiones. La unidad experimental fue un cuadrante del rizotróon, y el bloque lo constituyó la planta.

Cuadro 2. Tratamientos de riego según contenido volumétrico de agua ($\theta_s - \theta_i$ %).

Tratamientos	Contenido volumétrico ($\theta_s - \theta_i$ %)
T1	$\theta_s^* - 10$
T2	$\theta_s - 18$
T3	$\theta_s - 24$
T4	$\theta_s - 30$

* θ_s Corresponde al contenido de agua a saturación.

Ensayo 2.2 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid II

Con el fin de determinar el efecto de un mayor contenido de agua del suelo se ampliaron los rangos del ensayo "2.1 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid I". Así, en cada cuadrante del rizotróon se aplicaron los tratamientos, considerando umbrales de riego en función del contenido volumétrico de agua ($\theta\%$) señalados en el Cuadro 3.

En el manejo de este ensayo se utilizó la misma metodología que el ensayo 2.1. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar de 4 tratamientos, con 7 repeticiones. La unidad experimental fue un cuadrante del rizotróon, y el bloque lo constituyó la planta.

Cuadro 3. Tratamientos de riego según contenido volumétrico de agua ($\theta\%$).

Tratamientos	Contenido volumétrico ($\theta_s - \theta_i$ %)
T1	$\theta_s^* - 10$
T2	$\theta_s - 18$
T3	$\theta_s - 28$
T4	$\theta_s - 35$

* θ_s Corresponde al contenido de agua a saturación.

Ensayo 3. Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid

Ensayo 3.1 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid I

En cada cuadrante del rizotrócn se aplicaron los tratamientos, considerando diferentes concentraciones de tidiázurón (1-Fenil-3-(1,2,3-tiadiazol-5-il)urea, TDZ, Splendor®, Bayer CropScience AG, Alemania) (Cuadro 4). Las plantas se dispusieron en el centro de cada rizotrócn donde se dejaron establecer por un periodo de 6 semanas, luego se aplicaron los tratamientos mediante riego utilizando las disoluciones de TDZ con las correspondientes concentraciones.

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar de 4 tratamientos, con 4 repeticiones. La unidad experimental fue un cuadrante del rizotrócn, y el bloque lo constituyó la planta.

Cuadro 4. Tratamientos de TDZ.

Tratamientos	Concentración (mg·L ⁻¹)
T1	0
T2	1
T3	5
T4	10

Ensayo 3.2 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid II

Con el fin de determinar el efecto de una mayor concentración de tidiázurón se ampliaron los rangos del ensayo “3.1 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid I”. Así, en cada cuadrante del rizotrócn se aplicaron los tratamientos, considerando diferentes concentraciones de tidiázurón (Splendor®) (Cuadro 5). Las plantas se dispusieron en el centro de cada rizotrócn donde se dejaron establecer por un periodo de 6 semanas, luego de ese periodo se aplicaron los tratamientos de tidiázurón, mediante riego con las disoluciones a las respectivas concentraciones.

Se utilizó un diseño en bloques completos al azar de 4 tratamientos, con 4 repeticiones. La unidad experimental fue un cuadrante del rizotrócn, y el bloque lo constituyó la planta.

Cuadro 5. Tratamientos de TDZ.

Tratamientos	Concentración (mg·L ⁻¹)
T1	0
T2	5
T3	25
T4	50

Con el objetivo de favorecer el drenaje no se dispuso estructura de fondo en el rizotrón, estableciéndolo en terreno sobre una capa de gravilla.

En cada ensayo, los rizotrones fueron dispuestos a pleno sol, se realizó un control manual de malezas. Las plantas no se fertilizaron.

Para los ensayos 2.1, 2.2, 3.1 y 3.2, considerando el flujo preferencial, y para minimizar errores en la aplicación de los tratamientos, se implementó un sistema que permitió aislar los costados de cada cuadrante, incorporando placas de PVC en el centro del rizotrón (Figura 3).

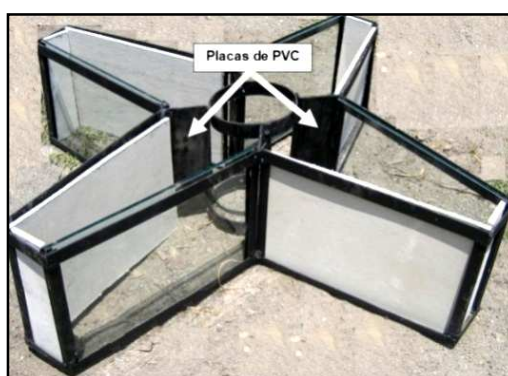


Figura 3. Placas de PVC, proveen aislación de cada cuadrante.

Evaluaciones

Para cada ensayo, el periodo de duración de la fase experimental fue de 15 semanas. Al término del periodo se separaron las raíces, rescatando el contenido total de suelo de cada cuadrante por separado, y de la zona central del rizotrón, colocándolo sobre un marco de 0,5×0,5 m, con un tamiz de 1 mm para lavar el suelo. A continuación, se registró la masa fresca de las raíces de cada cuadrante, marco central, y parte aérea, mediante balanza digital de sobremesa (Mettler-Toledo, modelo PBA330A6, España), expresando la medición en gramos (g). Posteriormente, las muestras fueron secadas en estufa a 65°C hasta masa constante, para obtener su masa seca (g) y por diferencia su contenido de agua.

Adicionalmente, en los ensayos 2.2 y 3.2, las raíces de cada cuadrante fueron clasificadas por diámetros en tres categorías (<1, 1-2 y >2mm), según la clasificación de Williams y Smith (1991).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANDEVA), con un 5% de significancia, con la verificación previa de los supuestos sobre los términos del error. En el caso de existir diferencias significativas en los análisis, las medias se separaron con la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fischer (5%).

Además, se realizaron análisis de regresión para determinar el efecto de los distintos tratamientos sobre el crecimiento de raíces expresado como masa fresca y seca.

Se utilizó el programa estadístico Infostat 2013 (Córdoba, Argentina).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Ensayo 1. Efecto de la compactación de suelos sobre el crecimiento de raíces de vid

Se obtuvieron similares diferencias entre los tratamientos en masa fresca y masa seca de raíces (Cuadro 6). La mayor masa de raíces se obtuvo con el tratamiento de menor compactación, diferenciándose significativamente de los otros rangos de compactación estudiados (Figura 4). Existieron diferencias entre los rangos de 1,2-1,4 MPa y 1,8-2,0 MPa obteniendo mayor masa el primero. El tratamiento 3, con un rango intermedio de compactación, 1,5-1,7 MPa, no se diferenció de los tratamientos 2 y 4.

Como se aprecia en la Figura 4, se obtuvo un mayor volumen de raíces en el tratamiento que corresponde al menor rango de compactación. En este sentido, la cantidad de raíces disminuye a medida que aumenta el rango de compactación.

Cuadro 6. Masa fresca y masa seca de raíces según tratamiento de compactación. Promedio \pm desviación estándar.

Tratamientos	Masa fresca	Masa seca
-- (MPa) --	----- (g) -----	
T1 0,9-1,1	29,18 \pm 9,80 a [†]	9,60 \pm 3,49 a
T2 1,2-1,4	14,50 \pm 6,61 b	4,63 \pm 2,02 b
T3 1,5-1,7	7,68 \pm 2,83 bc	2,55 \pm 0,96 bc
T4 1,8-2,0	4,23 \pm 2,92 c	1,33 \pm 0,91 c

[†] Letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)

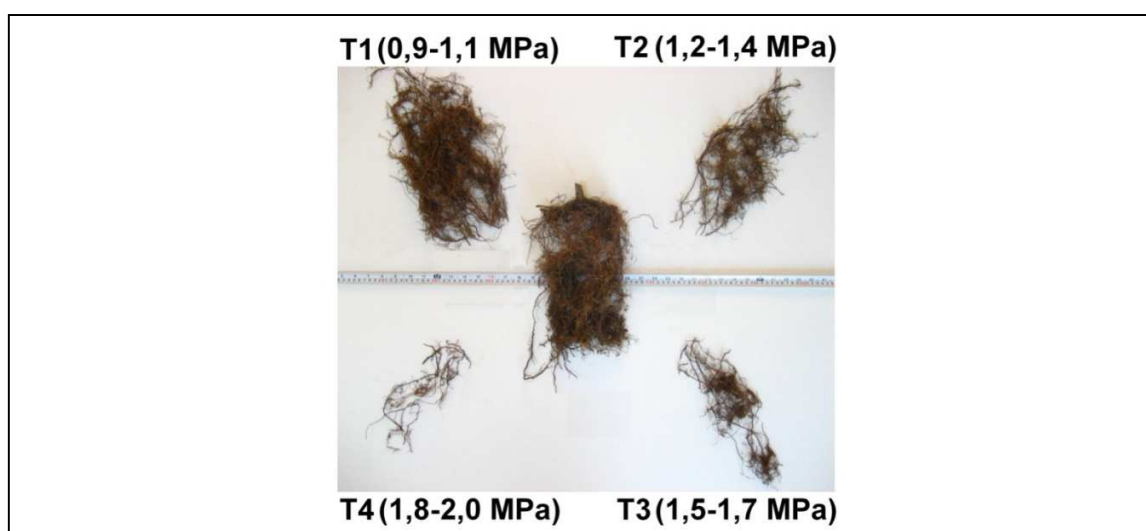


Figura 4. Raíces de vid según tratamiento de compactación

Los resultados coinciden con lo mencionado por Richards (1983), Van Huyssteen (1988) y Van Zyl (1988) quienes indican el efecto negativo de la compactación de suelo sobre el crecimiento de las raíces en parrales de uva de mesa producto del constante paso de maquinaria, lo cual confina su crecimiento en la zona de la sobrehilera. Se confirma una menor masa de raíces obtenida con los tratamientos de mayor compactación. Resultados similares a los de Rojo (2008), donde se observó baja densidad de raíces en la parte superior de un perfil compactado por el paso de maquinaria, lo cual está asociado a su vez con la disminución en la productividad.

Es un concepto generalizado que la densidad aparente del suelo es un índice del crecimiento radical al considerar que las raíces crecen a través de los espacios interpartículas y que los suelos compactados, sin referencia comparativa con la humedad, ofrecen resistencia. Similar es lo concluido por autores como Taylor y Brar (1991) y Hossne y Salazar (2004), donde la resistencia del suelo, no la densidad aparente, es el factor principal de impedimento de la penetración de la raíz en los suelos. Se determinó que con una resistencia de suelo cercana a 2 MPa se dificulta la penetración de raíces, siendo esta resistencia válida sin importar si la fuerza fue causada por el aumento de la densidad o por la disminución de la humedad del suelo (Taylor y Brar, 1991).

Jorajuria y Draghi (2000), determinaron que las intensidades de tráfico utilizadas en el manejo tradicional del huerto frutal inducen valores de resistencia a la penetración superiores a 2,2 MPa; grado de compactación referido como limitante del crecimiento radical, lo cual se comprueba con los resultados obtenidos.

La raíz crece a través del suelo por donde haya menor resistencia, o cizallando el suelo en donde la tensión axial radical sea al menos mayor a la resistencia del suelo. En este caso las masas de suelos colapsan una frente a la otra o bien el crecimiento radial produce una apertura favoreciendo el crecimiento (Hossne y Salazar, 2004).

La evidencia reciente muestra que las resistencias cercanas a 2 MPa, medidas con un penetrómetro, se producen incluso en muchos suelos relativamente húmedos, y que esto es suficiente para reducir la velocidad de elongación de la raíz a menos de la mitad de su tasa (Bengough *et al.*, 2011).

En este sentido, el tráfico de la maquinaria agrícola es la principal causa de compactación del suelo, la cual tiene carácter acumulativo (Keller *et al.*, 2004). Durante la aplicación de cargas las partículas del suelo son reorganizadas, decrece el espacio poroso y las partículas son llevadas a un contacto más cercano, incrementando la densidad del volumen; también cambia la forma, tamaño y distribución de los poros, lo cual limita la capacidad de retención del suelo, el intercambio hídrico y gaseoso y aumenta la impedancia mecánica (Berli *et al.*, 2004; Gysi, 2001). En la planta disminuye el crecimiento de la raíz y las posibilidades de obtención de nutrientes, agua y aire. El suelo exhibe escorrentía superficial, endurecimiento y mala aireación; lo cual condiciona el

empobrecimiento de sus cualidades físicas, reduce el tiempo disponible para la realización de operaciones agrícolas y disminuyen los rendimientos agrícolas (Gysi, 2001).

El alto índice de mecanización de las tareas agrícolas ha provocado compactaciones importantes en los suelos con deterioro de la estabilidad estructural y reducción de la productividad, como ha sido señalado por Cueto *et al.* (2009). Según Aruani y Behmer (2004), en un huerto de manzano adulto, el tráfico de la maquinaria por el mismo sector del espacio entre las hileras se repite entre 15 y 20 veces durante la temporada, provocando compactaciones de suelo que pueden causar efectos negativos para el normal desarrollo radical. Sin embargo, Botta *et al.* (2002) concluyeron que, en forma independiente del peso y de la superficie de contacto rueda-suelo, el número de pasadas reiteradas en una misma senda inducen compactación subsuperficial del suelo.

Por otro lado, el efecto del tráfico no es independiente de la clase textural del suelo, así los suelos de texturas finas son más propensos a sufrir compactaciones frente a aquellos de texturas más gruesas (Horn *et al.*, 1995).

Para el caso de este estudio, en que se usó un suelo de clase textural franco arcillo arenoso, el aumento del nivel de compactación generó una menor masa de raíces, con una compactación lineal (Figura 5).

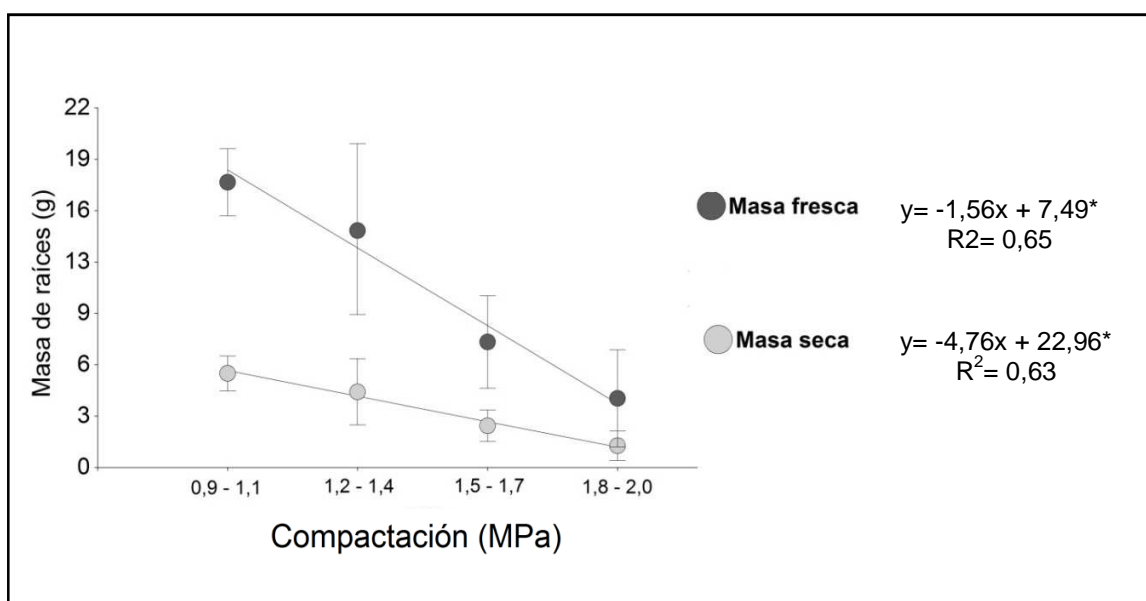


Figura 5. Masa fresca y seca de raíces en función de niveles crecientes de compactación (MPa).

*Estadísticamente significativo.

Las líneas verticales representan la desviación estándar.

En el rango estudiado, se muestra una relación lineal inversamente proporcional entre compactación y masa de raíces, es decir, a medida que la compactación aumenta, disminuye visiblemente el crecimiento de raíces en el suelo, expresado como masa de raíces (véase también Figura 4). Para la masa fresca de raíces se obtuvo una relación estadísticamente significativa, con un coeficiente de determinación $R^2= 0,65$. Además, el modelo propuesto no presenta falta de ajuste ($p=0,85$). Para la masa seca, se mantiene la misma relación inversa, estadísticamente significativa, con un coeficiente de determinación $R^2= 0,63$ y con un ajuste del modelo de $p=0,77$. Esto concuerda con otros autores, quienes señalan que la compactación afecta notoriamente el crecimiento de las raíces, reduciéndose notablemente una vez que esta resistencia es superior a 1 MPa y cae en forma lineal, reduciéndose a valores cercanos a cero con niveles de resistencia de aproximadamente 5 MPa (Bengough y Mullins, 1990). La compactación está fuertemente afectada por el contenido de agua del suelo, y puede variar muchas veces en el intervalo característico de contenido de agua disponible (Bengough, 1997). Además, puede afectar el crecimiento de brotes (Boone *et al.*, 1986; Wolfe *et al.*, 1995), explicable en términos de la incapacidad de las raíces obstaculizadas para suministrar agua o nutrientes.

En el campo, las plantas no se encuentran en un suelo uniformemente compactado. La compactación del suelo es espacial y temporalmente muy variable debido al cambio de contenido de agua del suelo (Tardieu, 1988). Las raíces pueden crecer dentro y fuera de una capa de suelo duro, creciendo preferentemente en las grietas o bioporos, grandes, poros continuos, realizados por las raíces anteriores o lombrices de tierra y otra fauna del suelo (Volkmar, 1996). Además, la absorción de agua por las raíces reduce el contenido de agua del suelo, provocando que éste se endurezca, haciendo así más difícil que las raíces crezcan (Bengough, 1997). Por otro lado, la exudación de agua desde las puntas de las raíces (McCully, 1995) puede ablandar el suelo delante de la raíz en crecimiento, facilitando así el paso de ésta a través del suelo.

Ensayo 2. Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid

Ensayo 2.1 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid I

Según los resultados de masa fresca de raíces, el tratamiento de umbral de riego de 24 % θ obtuvo la mayor masa, y se diferenció de los otros tratamientos (Cuadro 7). El tratamiento con umbral de 30 % θ se diferenció de los tratamientos de 10 18 y 24 % θ , en una situación intermedia, obteniendo una media de 42,25 g de materia fresca. Los tratamientos de umbral de riego 10 y 18 % θ no se diferenciaron entre sí, obteniendo las masas de raíces más bajas (Cuadro 7), resultados que se relacionan con el volumen de raíces observado (Figura 6).

Por otro lado, en los resultados de masa seca de raíces, el tratamiento con umbral de riego de 24 % θ obtuvo la mayor masa. A su vez, las raíces del tratamiento 30 % θ se diferenciaron del tratamiento de 10 % θ . Los tratamientos de umbral de riego 10 y 18 % θ y de 18 y 30 % θ no se diferenciaron entre sí (Cuadro 7).

Cuadro 7. Masa fresca y seca de raíces según tratamiento de umbral de riego. Promedio \pm desviación estándar.

Tratamientos	Masa fresca			Masa seca		
-- (% θ) --	----- (g) -----					
T1 $\theta_s - 10$	10,03 \pm	4,72	c [†]	3,10 \pm	1,66	c
T2 $\theta_s - 18$	17,58 \pm	7,92	c	5,28 \pm	2,95	bc
T3 $\theta_s - 24$	73,53 \pm	20,06	a	22,90 \pm	7,15	a
T4 $\theta_s - 30$	42,25 \pm	14,32	b	13,10 \pm	4,10	b

[†] Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)



Figura 6. Raíces de vid según tratamiento de umbral de riego.

Ensayo 2.2 Efecto del riego sobre el crecimiento de raíces de vid II

Se determinó la masa fresca y seca según las categorías de categorías (<1, 1-2 y >2mm), según la clasificación de Williams y Smith (1991).

Masa fresca de raíces

Los resultados de rango de tamaño se presentan en la Figura 7.

Raíces <1 mm de diámetro: El tratamiento con umbral de riego de 28 % θ presentó mayor masa de raíces. Los tratamientos 10, 18 y 35 % θ no se diferenciaron entre sí.

Raíces 1-2 mm de diámetro: El tratamiento con umbral de riego de 28 % θ presentó mayor masa de raíces. El tratamiento de umbral de riego de 18 % θ , no se diferenció del tratamiento de 10 % θ ni del tratamiento de 35 % θ , obteniendo menor masa de raíces que el de 28 % θ .

Raíces >2 mm de diámetro: No se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos de umbrales de riego estudiados para las raíces mayores a 2 mm de diámetro.

Total de raíces: El tratamiento de umbral de riego de 28 % θ presentó mayor masa de raíces totales. Los tratamientos 10, 18 y 35 % θ no se diferenciaron entre sí.

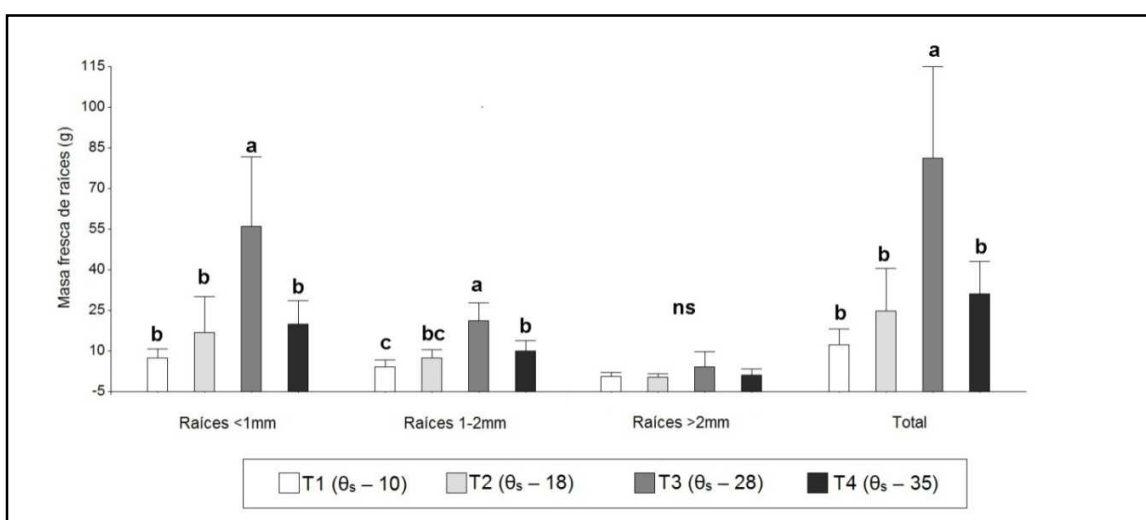


Figura 7. Masa fresca de raíces según cada categoría y el total de raíces por tratamiento de riego.

† Letras distintas en cada categoría indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)

^{ns} No significativo

Las líneas verticales dentro de cada barra representan las desviaciones estándar.

Masa seca de raíces

La Figura 8 presenta la masa seca de raíces según categorías.

Raíces <1 mm de diámetro: El tratamiento con umbral de riego de 28 % θ presentó mayor masa seca de raíces menores a 1 mm de diámetro. Los tratamientos de umbral de riego 10 y 18 % θ y de 18 y 35 % θ no se diferenciaron entre sí.

Raíces 1-2 mm de diámetro: El tratamiento con umbral de riego de 28 % θ presentó mayor masa seca de raíces. Los tratamientos de umbral de riego 10 y 18 % θ , no se diferenciaron entre sí, obteniendo menor masa de raíces. A su vez 18 y 35 % θ no se diferenciaron entre sí.

Raíces >2 mm de diámetro: No se presentaron diferencias entre los tratamientos de umbrales de riego estudiados para las raíces mayores a 2 mm de diámetro.

Total de raíces: El tratamiento con umbral de riego de 28 % θ presentó mayor masa total de raíces. Por otro lado, los tratamientos de umbral de riego 10 y 18 % θ , no se diferenciaron entre sí, obteniendo menor masa de raíces. A su vez 18 y 35 % θ no se diferenciaron entre sí.

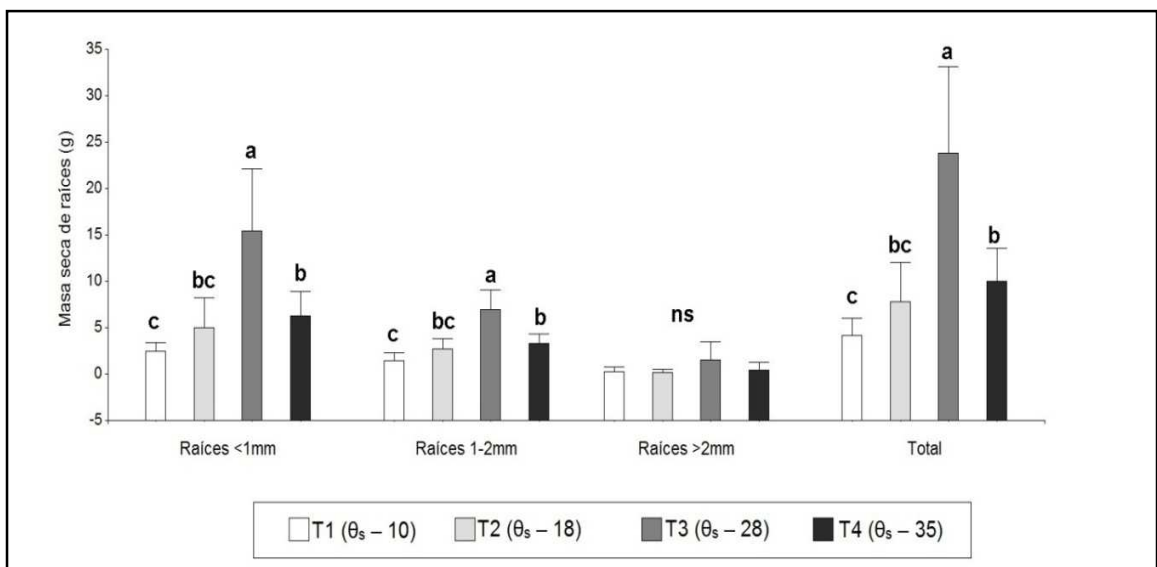


Figura 8. Masa seca de raíces según cada categoría y el total de raíces por tratamiento de riego.

[†] Letras distintas en cada categoría indican diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$)

^{ns} No significativo

Las líneas verticales dentro de cada barra representan las desviaciones estándar.

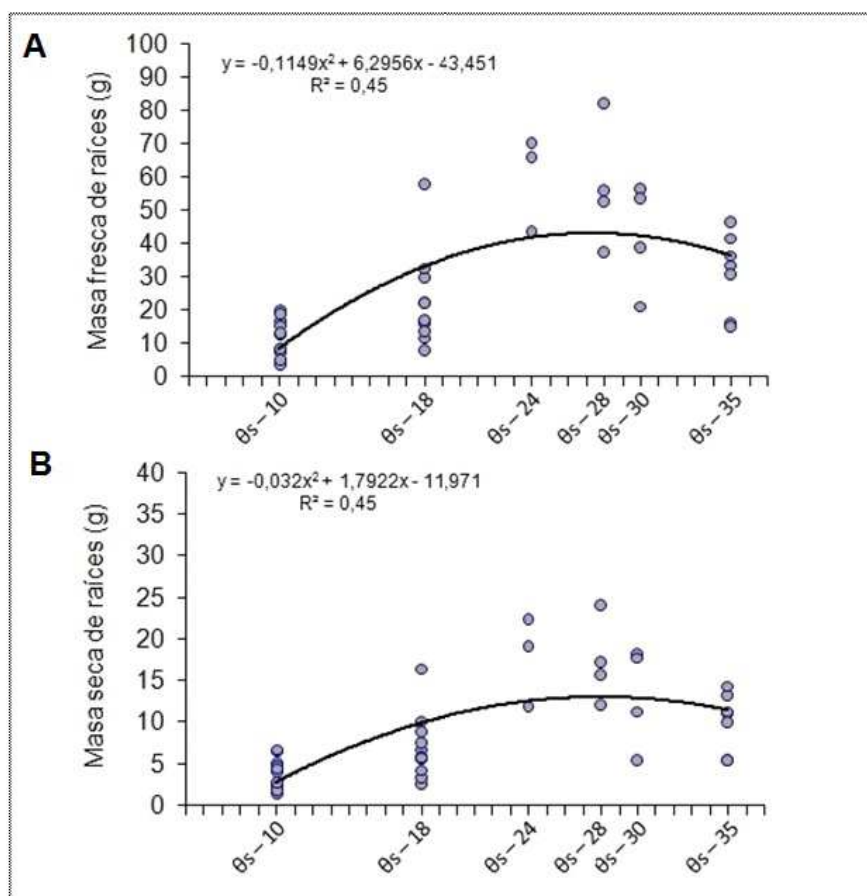


Figura 9. Masa de raíces en función de contenidos de agua crecientes en el suelo.
A. Masa fresca de raíces. B. Masa seca de raíces.

La Figura 9 muestra la relación existente entre el contenido de agua y la masa de raíces. En el rango estudiado, se obtuvo una función cuadrática negativa con un coeficiente $R^2=0,45$ tanto para masa fresca como seca.

En el segundo ensayo de riego, las menores masas de raíces se obtuvieron con los tratamientos de umbrales de 10 y 18 % θ , además, se evidencia que la masa de raíces obtenida con una condición de 35 % θ es menor en contraste con la obtenida con un umbral de 28 % θ .

Según la función asociada a la masa fresca de raíces (Figura 9A), se obtuvo el punto de inflexión que determina el óptimo; y bajo las condiciones de este estudio, el umbral de riego para el máximo crecimiento de raíces se obtendría con un contenido de agua en el rango θ s-27,4 % θ . Luego, con respecto a la masa seca de raíces (Figura 9B), el máximo crecimiento de raíces, expresado como masa seca, ocurriría con un contenido de agua en el rango de θ s-28 % θ .

De las cuatro condiciones directamente relacionadas con el desarrollo radicular, la condición hídrica es la que controla el comportamiento de las restantes en la

mayor parte de los casos (Silva *et al.*, 1994). La interrelación agua-aireación es opuesta a la interrelación agua-resistencia mecánica, en sus efectos sobre la planta. De este modo, al incrementarse el contenido de agua, disminuye la resistencia mecánica del suelo al crecimiento radical (efecto deseable), pero simultáneamente puede reducirse la aireación y llegarse a un cuadro de asfixia radical, lo cual es un efecto indeseable. Las diferencias de crecimiento de raíces del presente trabajo, comprobadas a través de los parámetros de masa fresca y seca, están determinadas por uno de los principales factores que afectan la producción y calidad de la fruta, sobre todo en condiciones de suelo desfavorables para el desarrollo de la vid, una inadecuada relación entre el agua y el aire en el suelo, producto del manejo del riego, que puede inducir déficit hídrico o hipoxia (Ferreyra *et al.*, 2003; Atkinson, 1980; Wiersum, 1980; Hamblin y Tennant, 1987; Drew, 1988; Fernández *et al.*, 1991, 1992; Baker *et al.*, 1992; Klepper, 1992; Smucker y Aiken, 1992; Zhang *et al.*, 1996; Burgess *et al.*, 1998).

El estrés hídrico tiene un efecto directo e indirecto sobre el desarrollo radical. El efecto directo tiene que ver con la baja disponibilidad de agua que determina un menor crecimiento de raíces. El efecto indirecto se produce porque en la parte aérea disminuye la tasa fotosintética y de esta forma las raíces no obtienen suficientes carbohidratos y consecuentemente disminuyen su crecimiento (Silva y Rodríguez, 1995). El exceso de agua en el suelo disminuye la disponibilidad de oxígeno para las raíces, inhibiendo la fotosíntesis, el transporte de hidratos de carbono, causa cierre de estomas y un menor crecimiento de las raíces (Kozlowski, 1997).

La calidad del sistema radical define en gran medida el desarrollo y vigor de las vides. Según Rojo (2008) las plantas más productivas están asociadas a una mayor cantidad de raíces, lo que coincide con lo señalado por Sellés *et al.* (2003) y Ruiz *et al.* (2007). Según Gil (2007) a menudo las plantas pueden desarrollar crecimiento compensatorio de raíces en zonas del suelo favorables cuando el crecimiento normal de estas se ve restringido en otra parte. De la misma manera, puede haber crecimiento de raíces en zonas cercanas al punto de marchitamiento permanente si otras partes del sistema radical se encuentran en suelo húmedo (cercano a saturación). Los excesos de agua en el suelo causan efectos perjudiciales para un normal desarrollo del sistema radicular, ya que provocan problemas de aireación, lo que afecta su metabolismo y el normal desarrollo del cultivo. Por lo tanto, es necesario mantener niveles de agua adecuados en el suelo para satisfacer las necesidades transpiratorias de las plantas, y no provocar estrés que afecte su crecimiento y desarrollo (Sellés *et al.*, 2003).

El punto de inflexión determina el comienzo de la segunda etapa y es aquel donde la tasa de cambio de la pendiente (segunda derivada) es igual a cero e indica un cambio en la concavidad de la curva. Entre este punto y el punto de ruptura ocurre la deformación plástica, con fallas visibles o invisibles.

Ensayo 3. Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid

Ensayo 3.1 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid I

No se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos en los parámetros de masa fresca y masa seca (Cuadro 8).

Cuadro 8. Masa fresca y seca de raíces según dosis de TDZ. Promedio \pm desviación estándar.

Tratamientos		Masa fresca		Masa seca	
--- (mg·L ⁻¹) --		----- (g) -----			
T1	0	15,70 \pm 2,62	ns	4,80 \pm 0,97	ns
T2	1	16,78 \pm 5,34		5,33 \pm 1,58	
T3	5	14,33 \pm 2,86		4,33 \pm 0,87	
T4	10	18,90 \pm 4,79		5,70 \pm 1,21	

^{ns} Sin diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$)

Ensayo 3.2 Efecto del TDZ sobre el crecimiento de raíces de vid II

Se determinó la masa fresca y seca según las categorías de categorías (<1, 1-2 y >2mm), según la clasificación de Williams y Smith (1991).

Masa fresca de raíces

No se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos para la clasificación de raíces de <1, 1-2 y >2 mm, ni en el total de raíces (Cuadro 9).

Cuadro 9. Masa fresca de raíces según dosis de TDZ. Se presentan los promedios \pm desviación estándar.

Tratamientos		Masa fresca de raíces			
-- (mg·L ⁻¹) --		<1 mm diámetro	1-2 mm diámetro	>2 mm diámetro	Total Raíces
		----- (g) -----			
T1	0	7,33 \pm 2,58 ns	6,10 \pm 2,58 ns	0,00 \pm 0,00 ns	13,43 \pm 4,46 ns
T2	5	7,75 \pm 2,39	5,90 \pm 2,39	1,45 \pm 2,90	15,10 \pm 6,80
T3	25	7,40 \pm 2,11	5,68 \pm 2,11	0,73 \pm 1,45	13,80 \pm 3,22
T4	50	9,60 \pm 2,22	7,53 \pm 2,22	0,70 \pm 1,40	17,83 \pm 4,14

^{ns} Sin diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$)

Masa seca de raíces

Según los resultados obtenidos no se detectaron diferencias significativas en la masa seca en la clasificación de raíces en tres categorías (<1, 1-2 y >2 mm).

Cuadro 10. Masa seca de raíces según dosis de TDZ. Se presentan los promedios \pm desviación estándar.

Tratamientos	Masa seca de raíces			
	<1 mm diámetro	1-2 mm diámetro	>2 mm diámetro	Total Raíces
-- (mg·L ⁻¹) -	----- (g) -----			
T1 0	2,48 \pm 1,08 ns	1,85 \pm 0,69 ns	0,00 \pm 0,00 ns	4,33 \pm 1,71 ns
T2 5	2,73 \pm 1,04	1,80 \pm 0,58	0,43 \pm 0,85	4,95 \pm 2,37
T3 25	2,60 \pm 0,80	1,75 \pm 0,13	0,25 \pm 0,50	4,60 \pm 1,33
T4 50	3,33 \pm 1,01	2,45 \pm 0,80	0,23 \pm 0,45	6,00 \pm 1,41

^{ns} Sin diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$)

Con las dosis estudiadas no hubo diferencias significativas lo cual coincide con lo expuesto por Taiz y Zeiger (2006) quienes mencionan que la aplicación de citoquininas inhibe la elongación celular en tallos y raíces.

Las citoquininas interactúan de una manera compleja para controlar una gran variedad de aspectos relacionados con el crecimiento, el desarrollo y la diferenciación de las plantas, su deficiencia también provoca cambios pleiotrópicos en el desarrollo tales como la reducción del crecimiento de brotes y el aumento de crecimiento de las raíces (Mazid *et al.*, 2011). Otros autores sugieren que las citoquininas endógenas inhiben el crecimiento radicular, por ejemplo, un alelo débil de un mutante del receptor de las citoquininas y un alelo de pérdida de función de un elemento de señalización de las citoquininas forman raíces más largas que las de tipo silvestre (Inoue *et al.*, 2001; Sakai *et al.*, 2001). Werner *et al.* (2001), indican que las citoquininas tienen una función reguladora negativa en el crecimiento de la raíz. Se necesita un fino ajuste de los niveles de citoquinina para lograr el crecimiento óptimo de los brotes (Rupp *et al.*, 1999; Gan y Amasino, 1995). Reportes clásicos son los de Skoog y Miller (1957) quienes revelaron que los cultivos de callos no diferenciados formarían raíces o brotes en función de la cantidad relativa de las citoquininas y auxinas en un medio de cultivo, considerando la relación en lugar de la cantidad absoluta de estas dos hormonas como crítica. La relación entre la auxina y citoquininas se ha reconocido por mucho tiempo como esencial para el crecimiento y desarrollo normal de la planta (Rashotte *et al.*, 2005), por lo tanto se sugiere la aplicación de bioestimulantes con una formulación equilibrada de estos reguladores de crecimiento.

Rizotrón tipo estrella

Con los antecedentes previamente expuestos, en relación al crecimiento de las raíces; aunque las diferentes especies vegetales tienen determinadas genéticamente las características del crecimiento radical, éstas son muy susceptibles de ser modificadas por el medio ambiente en el que se desarrollan, variando en función de las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo, del clima y de las condiciones de cultivo. De estas últimas, la disponibilidad de agua es un factor determinante (Fernández *et al.*, 1992). Muchos de los problemas de la planta se pueden explicar por problemas o daños en la raíz (Honorato *et al.*, 1988; Callejas *et al.*, 2012). Así es por ejemplo, como los parronales de uva de mesa con síntomas de decaimiento, presentan un sistema radicular más débil y con menor desarrollo.

Considerando que la mayoría de los dispositivos de observación de raíces encontrados en la literatura limitan la observación a una o dos caras, independiente si los crecimientos de las raíces se evalúan en entornos naturales o a través de paredes estrechas (Silva y Beeson, 2011), el diseño del rizotrón estrella, con sus cuatro cuadrantes, y con cuatro perfiles de observación presenta una ventaja comparativa. Además, considerando que el desarrollo de las raíces se inicia horizontalmente (Perry, 1982) este diseño minimiza la restricción física al crecimiento, desarrollo y distribución normal de la raíz, lo que permite el estudio integral de un sistema radicular. Por otro lado, las caras de observación hacen posible realizar un seguimiento de las raíces, de esta forma se puede determinar tasas de crecimiento y tiempo en el que las raíces tardan en suberizar, además de identificar la competencia con el desarrollo vegetativo y de frutos durante la temporada. Este seguimiento se puede favorecer desarrollando un sistema de posicionamiento para instrumentación óptica, cómo una cámara fotográfica.

El uso de sistemas basados en instrumentación óptica y posterior análisis de imágenes mediante programas especializados puede facilitar enormemente el estudio de los sistemas radicales. Además, utilizando fotografías digitales, se agiliza la recopilación de información, junto con dejar un registro visual del comportamiento de las raíces (Fita *et al.*, 2006).

Los rizotrones estrella pueden ser utilizados para investigar el efecto de diversas variables sobre el crecimiento de la raíz; como por ejemplo podrían incluir, contenido de humedad, la textura del suelo (Bengough *et al.*, 2006) fertilizantes (Boukcim *et al.*, 2006; Drew, 1975) y productos químicos agrícolas, entre otros (Tsakalimi y Ganatsas, 2006). Pero, considerando que el diseño está conectado en el centro del rizotrón, se deben tomar los resguardos necesarios para evitar que diferentes tratamientos pierdan su independencia en la cada unidad experimental o cuadrante.

Aunque es similar en forma al rizotrón descrito por Wright y Wright (2004), el Rizotrón estrella tiene ventajas adicionales; como el que las raíces se pueden

observar en cada ventana a la vez, minimizando así la exposición de las raíces a la luz durante el seguimiento, y el drenaje es eficiente, asegurando la eliminación del exceso de agua. Por otro lado, en estructura y diseño, es lo suficientemente resistente como para soportar un volumen de sustrato grande y se puede aumentar de tamaño para abarcar cepellones de raíces más grandes o para experimentos de mayor duración.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones en que se realizó este estudio:

Los ensayos permiten concluir que el rizotróon estrella es una herramienta útil para el estudio del sistema radical. El diseño del rizotróon, con cuatro cuadrantes, permite evaluar simultáneamente diversos tratamientos sobre las raíces de una misma planta, permitiendo aislar los efectos de un tratamiento sobre el crecimiento de raíces.

A medida que aumenta la compactación del suelo se afecta directa y negativamente el crecimiento de las raíces, siendo un límite crítico 2 MPa.

El contenido de agua del suelo afecta directamente el crecimiento de raíces existiendo rangos óptimos de humedad cercanos a 27 % θ .

Las dosis de TDZ empleadas no afectaron el crecimiento de las raíces.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Acevedo, E. 1979. Interacciones suelo-agua-raíz en el proceso de absorción de agua por las plantas. Boletín Técnico Facultad Agronomía Universidad de Chile, 44: 17-25.

Aruani, M. C. y S. Behmer. 2004. Efecto de la granulometría y la compactación del suelo sobre la distribución de raíces en manzano. Revista de Investigaciones Agropecuarias, 33(2): 55-65.

Atkinson, D. 1980. The distribution and effectiveness of root of tree cops. Horticultural Reviews, 2: 424-490.

Baker, J. M.; J. M. Wraith and F. N. Dalton. 1992. Root function in water transport. (19: 53-72 pp) In: Hatfield, J.L. and B.A. Steward (Eds.). Limitation to Plant Root Growth Springer-Verlag, New York. Advance in Soil Science, 226p.

Bengough, A. G. 1997. Modelling rooting depth and soil strength in a drying soil profile. Journal of Theoretical Biology, 186(3): 327-338.

Bengough, A. G. and C. E. Mullins. 1990. Mechanical impedance to root growth: a review of experimental techniques and root growth responses. Journal of Soil Science, 41(3): 341-358.

Bengough, A. G.; B. M. McKenzie; P. D. Hallett and T. A. Valentine. 2011. Root elongation, water stress, and mechanical impedance: a review of limiting stresses and beneficial root tip traits. Journal of Experimental Botany, 62(1): 59-68.

Bengough, A. G.; M. F. Bransby; J. Hans; S. J. McKenna; T. J. Roberts and T. A. Valentine. 2006. Root responses to soil physical conditions; growth dynamics from field to cell. Journal of Experimental Botany, 57(2): 437-447.

Berli, M.; B. Kulli; W. Attinger; M. Keller; J. Leuenberger; H. Flüher and R. Schulin. 2004. Compaction of agricultural and forest subsoils by tracked heavy construction machinery. Soil and Tillage Research, 75(1): 37-52.

Boone, F. R.; H. M. G. Van der Werf; B. Kroesbergen; B. A. Ten Hag and A. Boers. 1986. The effect of compaction of the arable layer in sandy soils on the growth of maize for silage. Critical matric water potentials in relation to soil aeration and mechanical impedance. Netherlands Journal of Agricultural Science, 34: 155-171.

Botta, G. F.; D. Jorajuria and L. M. Draghi. 2002. Influence of the axle load, tyre size and configuration on the compaction of a freshly tilled clayey soil. *Journal of Terramechanics*, 39(1): 47-54.

Boukcim, H.; L. Pages and D. Mousain. 2006. Local NO_3^- or NH_4^- supply modifies the root system architecture of *cedrus atlantica* seedlings Brown in a split-root device. *Journal of Plant Physiology*, 163: 1293-1304.

Burgess, S. S. O.; M. A. Adams; N. C. Turner and C. K. Ong. 1998. The redistribution of soil water by tree system. *Oecologia*, 115: 306-311.

Callejas, R.; E. Rojo; C. Benavidez y E. Kania. 2012. Crecimiento y distribución de raíces y su relación con el potencial productivo de parrales de vides de mesa. *Agrociencia*, 46: 23-35.

CIREN (Centro de Información de Recursos Naturales). 1990. Atlas agroclimático de Chile, Regiones IV a IX. Ciren, Chile. Publicación N°87. 67p.

Coletto, J. M. 1994. Crecimiento y desarrollo de las especies frutales. 2a Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 168p.

Cousin, J. Y. and L., Lanier. 1976. Techniques modernes de production de plants forestiers. *Revue Forestière Française*, 28(2): 115-131.

Cueto, O. G.; C. E. I. Coronel y M. H. Suárez. 2009. Análisis de los factores que provocan compactación del suelo agrícola. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*, 18(2): 57-63.

Domínguez, S. 1997. La importancia del envase en la producción de plantas forestales. *Quercus*, 134: 34-37.

Drew, M. C. 1975. Comparison of the effects of a localized supply of phosphate, nitrate, amonium and potasium on the growth of the seminal root system, and the shoot, in barley. *New Phytologist*, 75: 479-490.

Drew, M. C. 1988. Effects of flooding and oxygen deficiency on plant mineral nutrition. *Advances in Plant Nutrition*, 3: 115-159.

Emery, R. J. N. and C. A. Atkins. 2002. Roots and cytokinins (417-434). In: Waisel Y.; A. Eshel and U. Kafkafi (eds.) *Plant roots: the hidden half*. Marcel Dekker, New York. 1136p.

Fernández, J. E.; F. Moreno; F. Cabrera; J. L. Arrue and J. Martín-Aranda. 1991. Drip irrigation, soil characteristic and the root distribution and root activity of olive trees. *Plant and Soil*, 133: 239-251.

Fernández, J. E.; F. Moreno; J. Martín-Aranda and E. Fereres. 1992. Olive-tree root dynamics under different soil water regimes. *Agricultura Mediterranea*, 122: 225-235.

Ferreira R.; G. Selles; R. Ruíz and I. Selles. 2003. Efecto del estrés hídrico aplicado en distintos periodos de desarrollo de la vid cv. Chardonnay en la producción y calidad del vino. *Agricultura Técnica*, 63(3): 277-286.

Fita, A.; B. Picó y F. Nuez. 2006. Análisis de imagen como herramienta en la mejora del sistema radicular en melón. *Actas de Horticultura*, 45: 119-120.

Forsythe, W.; F. Sancho y M. Villatoro. 2005. Efecto de la compactación de suelos sobre el rendimiento de maíz en tres localidades de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 29(3): 175-185.

Gan, S. and R. M. Amasino. 1995. Inhibition of leaf senescence by autoregulated production of cytokinin. *Science*, 270(5244): 1986-1988.

Gil, G. y P. Pszczółkowski. 2007. *Viticultura. Fundamentos para optimizar producción y calidad*. Colección en Agricultura. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Universidad Católica de Chile. 535p.

Gladstones, J. 1992. *Viticulture and environment*. Winetitles, Adelaide. 310p.

Gregory, P. 1992. Crecimiento y funcionamiento de las raíces. (121-175pp). In: Wild, A., E.J. Russell (eds.). *Condiciones del Suelo y desarrollo de las plantas según Russell*. Mundi Prensa. Madrid. 1045p.

Gysi, M. 2001. Compaction of a Eutric Cambisol under heavy wheel traffic in Switzerland: Field data and a critical state soil mechanics model approach. *Soil and Tillage Research*, 61(3): 133-142.

Hamblin, A. and D. Tennant. 1987. Root length density and water uptake in cereals and grain legumes: How well are they correlated?. *Australian Journal of Agricultural Research*, 38: 513-527.

Honorato, R.; H. Silva y C. Bonomelli. 1988. Efecto del suelo en el patrón de enraizamiento y productividad de la vid. *Ciencia e Investigación Agraria*, 15(3): 159-171.

Horn, R.; H. Domżzał; A. Slowińska-Jurkiewicz and C. Van Ouwerkerk. 1995. Soil compaction processes and their effects on the structure of arable soils and the environment. *Soil and Tillage Research*, 35(1): 23-36.

Hossne, A. and J. Salazar. 2004. Límites de consistencia y sus implicaciones agrícolas en un suelo ultisol de sabana del estado Monagas, Venezuela. *Agronomía Costarricense*, 28(1): 69-80.

Huck, M. G. and H. M. Taylor. 1982. The rhizotron as a tool for root research. *Advances in Agronomy*. New York, 305p.

Inoue, T.; M. Higuchi; Y. Hashimoto; M. Seki; M. Kobayashi; T. Kato; S. Tabata; K. Shinozaki and T. Kakimoto. 2001. Identification of CRE1 as a cytokinin receptor from *Arabidopsis*. *Nature*, 409: 1060-1063.

Jorajuria, D. y L. Draghi. 2000. Sobrecompactación del suelo agrícola parte I: influencia diferencial del peso y del número de pasadas. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 4(3): 445-452.

Keller, T.; J. Arvidsson; J. B. Dawidowski and A. J. Koolen. 2004. Soil precompression stress: II. A comparison of different compaction tests and stress-displacement behaviour of the soil during wheeling. *Soil and Tillage Research*, 77(1): 97-108.

Klepper, B. 1992. Development and growth of crops root system. In: Hatfield, J.L. and B.A. (Eds.). *Limitation to Plant Root Growth*. Springer-Verlag, New York. *Advances in Soil Science*, 19: 1-25.

Kozłowski, T. 1997. Responses of woody plants to flooding and salinity. *Tree Physiology Monograph*, 1: 1-29.

Lemaire, F.; A. Dartigues; L. M. Riviere; S. Charpentier and P. Morel. 2003. *Cultures en pots et conteneurs. Principes agronomiques et applications*. (In French.) 2nd ed. INRA, Paris. 210p.

Lu, C. Y. 1993. The use of thidiazuron in tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant*, 29(2): 92-96.

Mazid, M.; T. A. Khan and F. Mohammad. 2011. Cytokinins, A classical multifaceted hormone in plant system. *Journal of Stress Physiology and Biochemistry*, 7(4): 347-368.

- McCully, M. E. 1995. Water efflux from the surface of field-grown grass roots. observations by cryo-scanning electron microscopy. *Physiologia Plantarum*, 95: 217-224.
- Mok, D. W. S. and M.C. Mok. 2001. Cytokinin metabolism and actions. *Annual Review of Plant Biology*, 52(1): 89-118.
- Murthy, B. N. S.; S. J. Murch and P. K. Saxena. 1998. Thidiazuron: A potent regulator of in vitro plant morphogenesis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 34(4): 267-275.
- Perry, T. O. 1982. The ecology of tree roots and the practical significance thereof. *Journal of Arboriculture*, 8: 197-211.
- Rashotte, A. M.; H. S. Chae; B. B. Maxwell and J. J. Kieber. 2005. The interaction of cytokinin with other signals. *Physiologia Plantarum*, 123(2): 184-194.
- Richards, D. 1983. The grape root system. *Horticultural Reviews*, 5: 127-168.
- Richards, D. 1986. Tree growth and productivity-the role of roots. *Acta Horticulturae*, 175: 27-36.
- Rojo, E. 2008. Estimación del desarrollo del sistema radical y su relación con el potencial productivo en vid. Tesis Ingeniero Agrónomo. Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. 43h.
- Ruiz, R.; G. Sellés y R. Ahumada. 2007. Aspectos físicos del suelo y calidad de fruta en parronales de uva de mesa (101-114). In: Muñoz, I., M. González, y G. Sellés. (Eds). *Manejo de Suelo y Riego en Vides para Vino y Mesa. Serie Actas 39*. Instituto de Investigaciones Agropecuarias INIA, Santiago, Chile.
- Rupp, H. M.; M. Frank; T. Werner; M. Strnad and T. Schmülling. 1999. Increased steady state mRNA levels of the STM and KNAT1 homeobox genes in cytokinin overproducing *Arabidopsis thaliana* indicate a role for cytokinins in the shoot apical meristem. *The Plant Journal*, 18(5): 557-563.
- Sachs, J. 1873. Über das Wachstum der Haupt und Neben wurzeln. *Arb. Bot. Inst. Würzburg*, 3: 201-214.
- Sakai, H.; T. Honma; T. Aoyama; S. Sato; T. Kato; S. Tabata and A. Oka. 2001. ARR1, a transcription factor for genes immediately responsive to cytokinins. *Science*, 294(5546): 1519-1521.

Schmülling T. 2002. New insights into the functions of cytokinins in plant development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 21: 40-49.

Sellés, G.; R. Ferreyra; G. Contreras; B. Ahumada; B. Valenzuela, y R. Bravo. 2003. Manejo del riego por goteo en uva de mesa cv. Thompson Seedless, cultivada en suelos de textura fina. *Agricultura Técnica*, 63(2): 180-192.

Silva, A. P.; Kay, B. D. and E. Perfect. 1994, Characterization of the least limiting water range. *Soil Science Society of America*, 58: 1775-1781.

Silva, D. and R. Beeson. 2011. A large-volume Rhizotron for evaluating root growth under natural-like soil moisture conditions. *HortScience*, 46(12): 1677-1682.

Silva, H. E. y J. S. Rodríguez. 1995. Fertilización de plantaciones frutales. Santiago, Chile. Colección en Agricultura, Pontificia Universidad Católica, Facultad de Agronomía. 519p.

Skoog, F., and C. O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured. *In vitro. Symp. Soc. Exp. Biol.*, v. 11, p. 118-131.

Smucker, A. J. M. and R. M. Aiken. 1992. Dynamic root responce to water deficit. *Soil Science*, 154: 281-289.

Taiz, L., y E. Zeiger. 2006. Fisiología vegetal. Universitat Jaume I. España 1338p.

Tardieu, F. 1988. Analysis of the spatial variability of maize root density. I Effect of wheel compaction on the spatial arrangement of roots. *Plant and Soil*, 107: 259-266.

Taylor, H. and G. S. Brar. 1991. Effect of soil compaction on root development. *Soil and Tillage Research*, 19(2): 111-119.

Tinus, R. W. and P. W. Owston. 1984. Physiology research made reforestation with container grown seedlings successful. (143-155pp). In: Duryea, M.L., and G.N. Brown. (eds.). *Seedling physiology and reforestation success*. London. 326p.

Tsakalimi, M. N. and P. P. Ganatsas. 2006. Effect of Chemicals root stem growth, root morphology and field performance of the mediterranean pine *Pinus halepensis* Mill. *Scientia Horticulturae*, 109:183-189.

- Van Huyssteen, L. 1988. Grapevine root growth in response to soil tillage and root pruning practices. (44-56pp). In: Van Zyl, J. L. (ed.). The grapevine root and its environment. Department of Agriculture and Water Supply, Pretoria, South Africa. 146p.
- Van Zyl, J. L. 1988. Response of grapevine to soil water regimes and irrigation systems. (30-43pp). In: Van Zyl, J. L. (Ed.). The grapevine root and its environment. Department of Agriculture and Water supply, Pretoria, South Africa. 146p.
- Volkmar, K. M. 1996. Effects of biopores on the growth and Nutake of wheat at three levels of soil moisture. *Canadian Journal of Soil Science*, 76: 453-458.
- Werner, T.; V. Motyka; M. Strnad and T. Schmülling. 2001. Regulation of plant growth by cytokinin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(18): 10487-10492.
- Wiersun, L. K. 1980. The effect of soil physical conditions on roots and uptake. (111-122pp.) In: Atkinson D.; J. E. Jackson; R. O. Sharples and W. M. Waller (eds.) *Mineral Nutrition of Fruit Trees*. Butterworths, London. 435p.
- Williams, L. E. and R. J. Smith. 1991. The effect of rootstock on the partitioning of dry weight, nitrogen and potassium, and root distribution of Cabernet Sauvignon grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2): 118-122.
- Wolfe, D. W.; D. T. Topoleski; N. A. Gundersheim and B. A. Ingall. 1995. Growth and yield sensitivity of four vegetable crops to soil compaction. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 120(6): 956-963.
- Wright, A. N. and R. D. Wright. 2004. The Horhizotron™: a new instrument for measuring root growth. *HortTechnology*, 14: 560-563.
- Zhang, M.; A. K., Alva; Y. C. Li and D. V. Cavert. 1996. Root distribution of grapefruit trees under dry granular broadcast vs. Fertigation method. *Plant and Soil*, 183: 79-84.

CAPÍTULO III. ESTIMACIÓN DEL SISTEMA RADICAL BASADO EN EL ANÁLISIS DE IMÁGENES DIGITALES MEDIANTE EL PROGRAMA COMPUTACIONAL *WINRHIZO*TM

RESUMEN

Dada la dificultad de obtención de la información acerca de la dinámica de raíces, se hace necesario un sistema experimental que permita un seguimiento continuo y con observaciones precisas, fáciles y rápidas del crecimiento de la raíz. Un rizotrón es un dispositivo para la observación, de forma no destructiva, del sistema radical en el tiempo. El objetivo de este estudio fue evaluar la estimación de las raíces de plantas de haba, mediante el análisis de imágenes fotográficas digitales utilizando el programa computacional WinRhizoTM. Se establecieron tres tratamientos de riego manejando el contenido volumétrico de agua en rangos, donde el T1 se mantuvo entre un suelo a saturación (θ_s) y 16 % θ , T2 entre θ_s -20 % θ y T3 entre θ_s -28 % θ . Se establecieron cinco repeticiones, utilizando un diseño completamente aleatorizado, realizando un seguimiento de 10 semanas donde se evaluó el crecimiento de raíces, fotografiando semanalmente el rizotrón y analizando las imágenes mediante el programa computacional WinRhizoTM. Posteriormente, se determinaron la masa fresca y seca de raíces. Hubo diferencias significativas entre los tratamientos de riego, donde se comprobó que la distribución de raíces, el número de puntas totales, la longitud total, la masa fresca y seca de raíces se vieron influenciadas por el umbral de riego, en donde el tratamiento de mayor contenido hídrico del suelo (θ_s -28%) se relaciona con mayor crecimiento de raíces, no existiendo diferencias entre los rangos de contenido volumétrico de agua de θ_s -16% θ y θ_s -20 % θ . Se concluye además que mediante el análisis de imágenes fue posible estimar el crecimiento de las raíces de las plantas de haba.

Palabras clave: Rizotrón, riego, densidad de longitud de raíces.

CHAPTER III: ESTIMATING THE ROOT SYSTEM BASED ON DIGITAL IMAGE ANALYSIS USING WINRHIZO™ SOFTWARE

ABSTRACT

Given the difficulty to obtaining information about the dynamics of roots, it is necessary an experimental system that allows continuous monitoring, easy, fast and accurate observations, easy and rapid root growth. A Rhizotron is a device for observing, non-destructively, the root system over time. The purpose of this study was to evaluate the estimation of fava bean plant roots, by analyzing digital images using WinRhizo™ computer software. It established three irrigation treatments which handled the volumetric water content ranges, where T1 remained between soil saturation (θ_s) and 16 % θ , T2 between θ_s -20 % θ and T3 between θ_s -28 % θ . It established five replicates, using a completely randomized design, tracking 10 during weeks which evaluated the growth of roots, photographing Rhizotron weekly and analyzing the images using the WinRhizo™ computer program. Subsequently, we determined the fresh and dry mass of roots. Significant differences between treatments for irrigation, where it was found that the root distribution, the number, the total length, the fresh and dry weight of roots were influenced by irrigation threshold, where greater processing soil water content (θ_s -28% θ) is associated with increased root growth, with no differences between the ranges of volumetric water content of θ_s -16 % θ and θ_s -20 % θ . It is concluded that by images analyzing was possible to estimate the growth of the roots of the fava bean plants.

Keywords: Rhizotron, irrigation, root length density.

INTRODUCCIÓN

La principal dificultad en los estudios del sistema radical es que las raíces no son visibles (Waisel *et al.*, 2002). Se sabe relativamente poco sobre la arquitectura de la raíz, dado que es difícil de observar, cuantificar e interpretar. Las raíces crecen en el suelo, un oscuro medio del que no pueden ser extraídas u observadas fácilmente sin introducir artefactos que destruyan su arquitectura nativa, y que impide el posterior análisis de un mismo individuo (Lynch, 1995). Se han llevado a cabo varias revisiones de la literatura sobre la visualización de la raíz y los métodos de medición de las mismas (Böhm, 1979; Waisel *et al.*, 2002; Gregory, 2006). Entre estos métodos se encuentran los diferentes tipos de rizotrones, método no destructivo que permite explorar el desarrollo de raíces, tanto en estudios de laboratorio como de campo (Sachs, 1873; Bates 1937; Wright y Wright, 2004; Silva y Beeson, 2011).

La distribución de un sistema radical se puede definir por la densidad de longitud de raíces (DLR), expresada como cm de raíz por cm³ de suelo, por la longitud radical para cada profundidad, o en el perfil completo, por el peso de las raíces en las diferentes capas del perfil y por la profundidad de enraizamiento (Kage y Ehlers, 1996; Grabarnik *et al.*, 1998). Gracias a los estudios de distribución de raíces se sabe que en la mayoría de los sistemas de cultivo tradicionales, las raíces se desarrollan entre los 20 y 100 cm de profundidad, con un 70% en los primeros 40 cm (Faust, 1989).

Mediante los estudios de dinámica de raíces se obtiene información acerca de la evolución de las mismas, permitiendo determinar las épocas de crecimiento y la intensidad de la exploración del sistema radical en el perfil del suelo. Sin embargo, los estudios de las raíces en condiciones de campo son difíciles y laboriosos, particularmente respecto a la dinámica del sistema radical, al requerir sucesivas y frecuentes medidas en el mismo sitio, lo que no es posible mediante las técnicas de muestreo que implican la destrucción de las raíces (Metcalf, 2006).

Sachs (1873) fue el primer investigador que propuso hacer crecer las plantas en contenedores de paredes transparentes, para poder observar las raíces y hacer un seguimiento periódico de su crecimiento. Se ha demostrado que el recuento de las raíces que se encuentran en la pared de un perfil de suelo, puede, de una forma sencilla, determinar su distribución en el mismo, destacando las revisiones sobre metodología de estudio del sistema radical de Lieth (1968), Newbould (1968), Yorke (1968), Schuurman y Goedewaagen (1971), Kolesnikov, (1971; 1972), Böhm *et al.* (1977), Böhm (1979) y Heeraman y Juma (1993).

La necesidad de más datos sobre la dinámica del desarrollo radical, indujo a la construcción de modernos laboratorios bajo tierra, llamados rizotrones (del griego "*rhizos*", raíz y "*tron*" instrumento de estudio), dedicados al estudio de las raíces a través de paredes de cristal (Huck y Taylor, 1982).

En la actualidad no existen marcos analíticos satisfactorios o herramientas cuantitativas para describir o resumir la complejidad del sistema radical cuando es caracterizado. Además, el crecimiento de la raíz y de su arquitectura son plásticos e interactúan dinámicamente con una amplia gama de factores físicos, químicos y biológicos en el suelo, que varían en el tiempo y el espacio (Lynch, 1995). Sin embargo, la observación directa es un método confiable para investigar interacciones entre el sistema radicular y sus condiciones ambientales.

La observación continua y directa de las raíces de un perfil de suelo permite estimar la cantidad y desarrollo de raíces finas y gruesas, interacciones entre el modelo de crecimiento de raíces y condiciones de suelo, tales como agua, temperatura o estado nutricional. Las raíces visibles del perfil pueden ser medidas por varios procedimientos, como conteo de puntas de raíces, intersecciones de raíces en una red cuadrículada dibujada sobre un marco, muestreando manualmente en láminas transparentes con marcadores de color a punta fina, por fotografías, escaneando o digitalizando imágenes para luego calcular parámetros de raíces mediante programas computacionales específicos (Box *et al.*, 1989; Polomski y Kuhn, 2002; Wright y Wright, 2004; Dhief *et al.*, 2011).

Las investigaciones en que se incluyen los parámetros de longitud y diámetro de raíces son generalmente laboriosas, por lo tanto hay una necesidad de métodos rápidos y confiables para el muestreo de los sistemas de raíces así como para la cuantificación de la longitud de raíz por unidad de volumen del suelo y distribución del diámetro de estas (Amato y Pardo, 1994; Pallant *et al.*, 1993; Schroth y Kolbe, 1994).

En los primeros trabajos, la longitud radical se calculaba utilizando el principio de Newman (1966), basado en los cruces de las raíces distribuidas al azar sobre las líneas de una cuadrícula, para posteriormente relacionar esta longitud con el volumen de suelo en el que estaban contenidas, siendo uno de los primeros métodos que permite una estimación precisa y relativamente rápida de la longitud de raíces. Para reducir el trabajo necesario para la obtención de los parámetros requeridos, varios investigadores han trabajado en el desarrollo de sistemas automatizados para la estimación de parámetros radicales (Berntson, 1992; Smit *et al.*, 1994; Tanaka *et al.*, 1995; Pan y Bolton, 1991). En la actualidad, la medida se lleva a cabo mediante el conteo de número de raíces que se observa en una superficie determinada (Upchurch y Ritchie, 1983; Upchurch, 1987).

Dada la importancia del conocimiento de la fenología de los cultivos para el manejo de campo (ajustes de necesidad de fertilizantes), como para la determinación de los periodos críticos al déficit de riego (Torrecillas *et al.*, 2000), se hace necesario abordar técnicas de estudio de la dinámica radical con plantas sometidas a distintas condiciones de riego, utilizando rizotrones y determinando la densidad de longitud de raíces (DLR, cm de raíz por cm³ de suelo). Considerando el tiempo dedicado a labores de conteo de raíces en campo, al respecto, el uso de la fotografía de raíces se ha desarrollado como una técnica para obtener un registro de las imágenes digitales, disminuyendo el tiempo de análisis en campo.

El uso de sistemas basados en instrumentación óptica y posterior análisis de las imágenes mediante programas computacionales especializados, como el Winrhizo™ pueden facilitar el estudio de las raíces, sin embargo, es necesario estudiar la asociación entre los parámetros que proporcionan y los obtenidos mediante evaluaciones de campo. (Fita *et al.*, 2006)

Hipótesis

Mediante el empleo de la técnica de rizotrófón es posible realizar estimaciones en forma continua y no destructiva de las raíces de plantas de haba, analizando imágenes fotográficas digitales mediante el programa computacional *WinRhizo™*

Objetivo

Relacionar y validar la metodología de evaluación del sistema radical de plantas de *Vicia faba* a través de imágenes fotográficas mediante el programa computacional WinRhizo™.

MATERIALES Y MÉTODOS

Construcción de rizotrón

Se construyó un cajón de madera, utilizando tableros contrachapados (15 mm de espesor), de 55 cm de largo, 25 cm de ancho y 40 cm de profundidad, adosado a un contenedor ovalado de plástico de 0,018 m³ con 6 perforaciones de 6 cm de diámetro en su base destinados para drenaje, ambas estructuras conectadas por una lámina de vidrio de 8 mm de espesor de 20×25 cm², a través de la cual es posible observar las raíces, permitiendo su fotografía (Figura 1a). Para impedir la entrada de luz al rizotrón, se colocó una tela negra sobre el vidrio, además, en la parte superior de la caja, se construyó una tapa de madera unida por una bisagra metálica continua, con una manilla plástica en el exterior. El cajón de madera se impermeabilizó con pintura negra resistente al agua (Figura 1b).

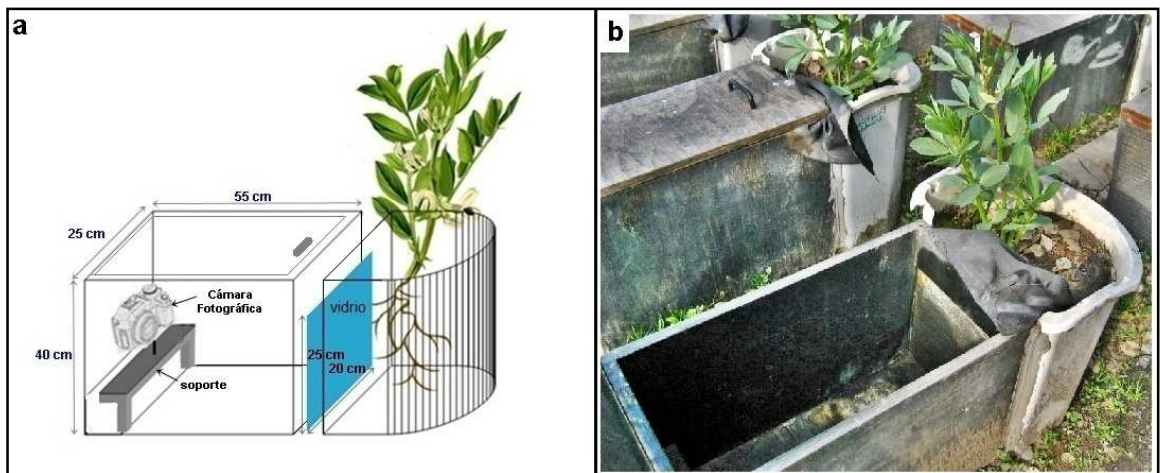


Figura 1. (a) Esquema del rizotrón con las medidas estructurales y accesorios de fotografía. (b) Imagen de la caja de madera, proporcionando la aislación del medio, y la cámara de observación y de fotografía.

Se realizaron pruebas de iluminación y fotografía con el fin de establecer la relación adecuada entre las características de la fuente de luz, el lente óptico y la resolución de la cámara. De acuerdo a los requerimientos de la cámara digital, y las condiciones de iluminación, para estandarizar la obtención de fotografías, se construyó un soporte metálico para uniformar la distancia y altura entre cada registro (Figura 1a), además se utilizó un paraguas reflectante para obtener una luz suave y difusa, evitando la luz directa y los reflejos sobre el vidrio.

Lugar de estudio

Los ensayos se realizaron en el Campus Antumapu, Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, La Pintana, Santiago, Región Metropolitana, Chile (33°34' S, 70°38' O, 620 m.s.n.m.), el cual presenta un clima semiárido (CIREN, 1990).

Material vegetal y sustrato

Se utilizaron 15 plantas de haba tipo Aguadulce (*Vicia faba* L. var. *Major* (Harz) Beck), cuyas semillas se sembraron una en cada contenedor en otoño, en un suelo franco arcillo arenoso tamizado a 4 mm.

Tratamientos y diseño experimental

Se establecieron tres tratamientos, considerando diferentes umbrales de riego en función del contenido volumétrico de agua ($\theta\%$) (Cuadro 1), donde $\theta_s - \theta_i$ corresponde al rango establecido entre saturación (θ_s) y el contenido de agua al momento de riego (θ_i). Es decir, se regó cuando el contenido de agua disminuyó, de un suelo a saturación (θ_s) hasta el θ_i asignado, manteniendo así los tratamientos en el rango determinado.

El contenido de agua se evaluó con un sensor de humedad, utilizando un equipo de reflectometría de dominio temporal, TDR (Fieldscout TDR 100, Spectrum Technologies Inc., EE.UU.). Para llevar el suelo a saturación se aplicó a cada cuadrante un riego de 1200 cm³ de agua.

Cuadro 1. Tratamientos de riego según contenido volumétrico de agua ($\theta_s - \theta_i$ %).

Tratamiento	Contenido volumétrico de agua ($\theta_s - \theta_i$ %)
T1	$\theta_s^* - 16$
T2	$\theta_s - 20$
T3	$\theta_s - 28$

* θ_s Corresponde al contenido de agua a saturación.

Cada planta se dispuso en el centro del contenedor, dejándose establecer por un periodo de 10 semanas posterior al inicio de intersección del crecimiento de raíces con el rizotrónc. En un primer periodo de 10 semanas, donde se regaron considerando un 20% θ , luego de ese periodo comenzó el riego diferenciado según cada tratamiento

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con tres tratamientos, correspondientes a los diferentes rangos de contenido volumétrico. La unidad experimental fue la planta de haba, y se utilizaron cinco repeticiones por tratamiento.

Evaluaciones

Se estandarizó el método de registro fotográfico, estableciendo distancia y ángulos para fotografiar, utilizando una cámara digital (SD630, Canon, Japón). Luego, se calibró el programa computacional específico para el estudio de raíces, *WinRhizo* (Regent Instruments Inc., Canadá). Se consideraron las condiciones de campo, para lograr la equivalencia entre las magnitudes de longitud reales y digitales (calibración de medidas). El registro fotográfico del rizotrón consideró como punto de partida el inicio de la intersección de las raíces con el vidrio, tomando fotografías a intervalos semanales (Figura 2).

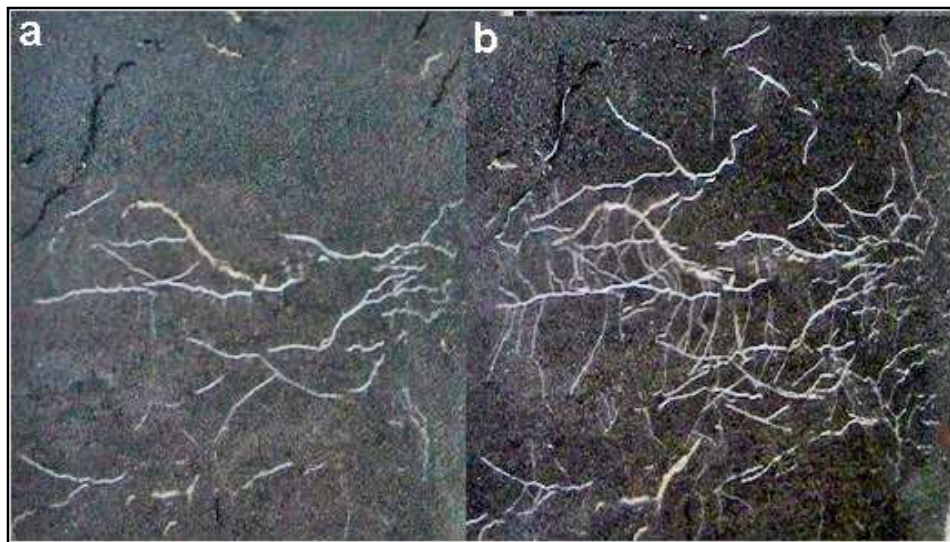


Figura 2. Fotografía que muestra la variación de crecimiento semanal.

Parámetros radicales

Las imágenes fueron almacenadas en un computador y posteriormente analizadas con el programa informático WinRhizo. El análisis de imágenes se realizó, previa calibración, cargando el archivo de la fotografía digital. Utilizando las herramientas gráficas se realizó el trazado a mano de las raíces sobre una máscara (archivo de patrones) con la posición y las propiedades de cada raíz de la imagen analizada, el programa sobrepuso la máscara cuando se cargó la siguiente sesión, permitiendo registrar el crecimiento semanal en el archivo de patrones o máscara.

Además, se generó en cada análisis, un archivo de los datos de medición en un formato tipo texto, adaptable a programas de hojas de cálculo Excel (Microsoft Corp., Redmond, Washington, EE.UU).

Con los datos de medición se obtuvieron los parámetros radicales de longitud y número de raíces. Se determinó la densidad de longitud de raíces DLR ($\text{cm}\cdot\text{cm}^{-3}$) utilizando el número total de raíces contenidas en el área observada del rizotrófon (DLR_P) Upchurch y Ritchie (1983), basado en el principio de Newman (1966), que utiliza las intersecciones de raíces distribuidas al azar sobre líneas de cuadrícula para luego, mediante un factor de conversión, obtener la longitud de éstas. Adicionalmente, se calculó el DLR utilizando la longitud total de raíces (DLR_L), según la metodología de Johnson et al. (2001).

Cosecha

Al momento de la cosecha, se registró la altura de cada planta. Se cortó la parte aérea a nivel de suelo. Luego, se rescató el contenido total de suelo del contenedor para separar las raíces, colocándolo sobre un marco de madera de 0,5x0,5 m, con un tamiz de 1 mm para lavar el suelo. Las raíces fueron clasificadas por diámetros en tres categorías (<1, 1-2 y >2mm), según la clasificación de Williams y Smith (1991). Se registró la masa fresca de las raíces, parte aérea y frutos, utilizando una balanza digital de sobremesa (Mettler-Toledo, modelo PBA330A6, España), expresando la medición en gramos (g). Posteriormente, las muestras fueron secadas en horno Binder® a 65°C hasta masa constante, para obtener su masa seca (g) y por diferencia su contenido de agua.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados mediante un análisis de varianza, (ANDEVA) previa comprobación de los supuestos sobre los términos de los errores, y en el caso de existir diferencias significativas se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de LSD de Fischer con $\alpha < 0,05$. Además, se realizaron pruebas de contrastes ortogonales.

Para evaluar la relación entre la información obtenida en campo y la obtenida mediante el programa WinRhizo, se realizó un análisis de regresión, utilizando como variable dependiente la masa fresca total de raíces, y como variable independiente la densidad de longitud de raíces DLR_P calculada en base al número de puntas de raíces totales.

Para comparar las medidas repetidas realizadas sobre la misma unidad experimental, se realizó un análisis de la varianza multivariado, utilizando la DLR_P del periodo en que se aplicaron los tratamientos de riego diferenciado (desde la décima semana en adelante).

Adicionalmente, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con las variables de campo (masa fresca y seca, de las raíces, la parte aérea y los frutos), y del análisis de fotografías (número de puntas, longitud total de raíces y DLR_p), representando el análisis mediante un gráfico Biplot.

Se utilizó el programa estadístico Infostat 2013 (Córdoba, Argentina).

RESULTADOS

Seguimiento del crecimiento de raíces

La variabilidad intrínseca de los estudios del sistema radical se representa en la Figura 3, donde el problema del tamaño de la muestra en relación a la varianza esperada y la realmente observada es muy importante (Tardieu, 1988; Logsdon y Allmaras, 1991). En las condiciones experimentales ensayadas, los coeficientes de variación de la longitud y el número de puntas de raíces de haba, calculados sobre cinco repeticiones, para los tres tratamientos de riego y las 19 fechas de evaluación, variaron entre 6,7 y 161,1% para la longitud de raíces y 12,9 y 161,9% para el número de raíces. La representación gráfica de las frecuencias absolutas de los coeficientes de variación muestra que el mayor porcentaje de las observaciones tienen un coeficiente de variación comprendido entre un 10 y un 60%.

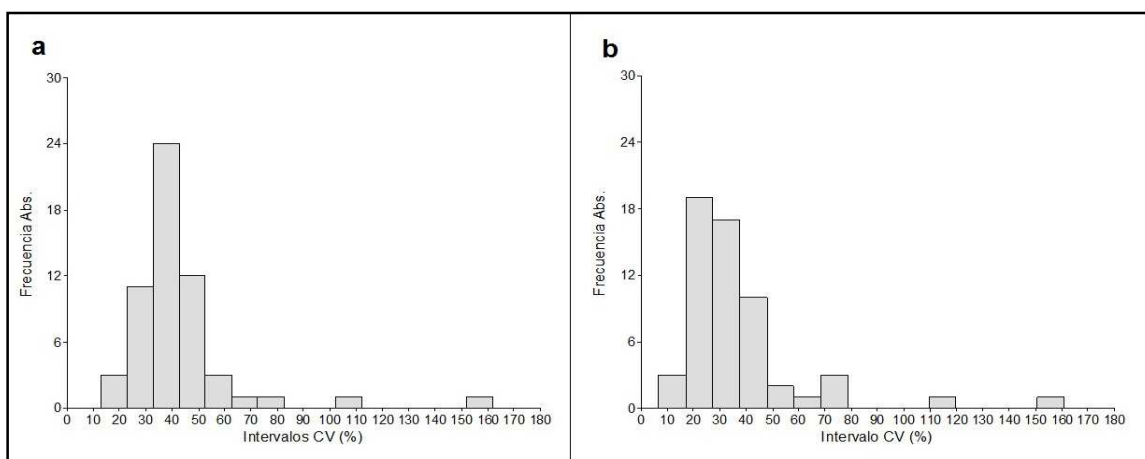


Figura 3. Distribución de las frecuencias absolutas de los coeficientes de variación (CV) de (a) la longitud y (b) el número de puntas de raíces de haba durante el periodo experimental.

Una vez analizadas las imágenes, con la información proporcionada por el programa WinRhizo; el patrón de raíces y el archivo de datos (Figura 4), se obtuvo el índice de Densidad de Longitud de Raíces (DLR) a partir del número de puntas (DLR_p) y del largo total de raíces (DLR_L), ambos expresados en cm de raíz por de suelo.

La conversión de las unidades obtenidas mediante el programa WinRhizo a DLR permite que los datos se presenten en una forma útil para describir los procesos del crecimiento y para la comparación con otras medidas (Johnson *et al.*, 2001).

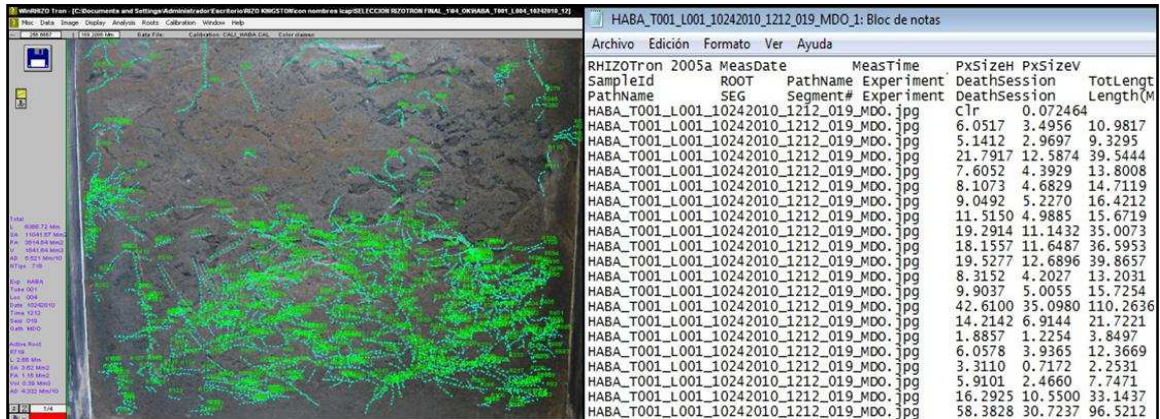


Figura 4. Mapa de patrones de raíces y archivo de datos del programa computacional WinRhizo.

Se realizó un análisis de regresión entre DLR_P y DLR_L que mostró una alta relación entre ambos métodos: pendiente cercana a la unidad (0,92) y un coeficiente de determinación altamente significativo (0,93), con una ligera diferencia de DLR_P y DLR_L (Figura 5).

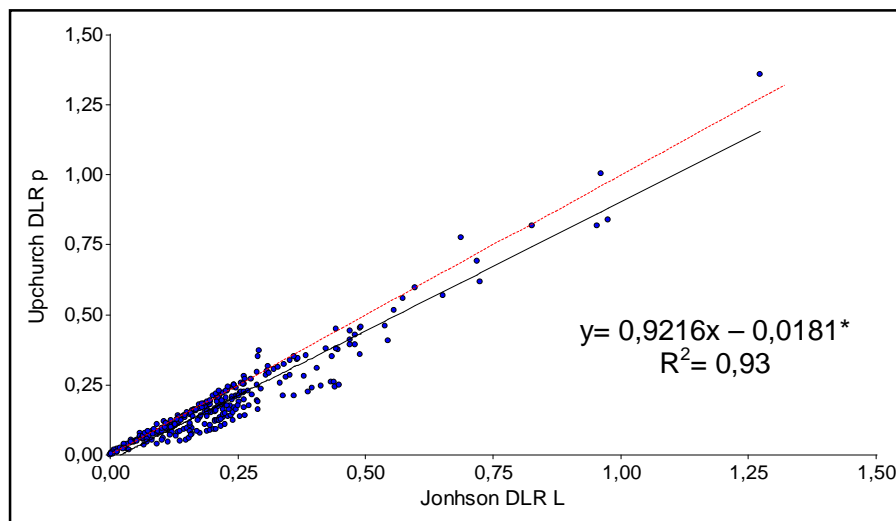


Figura 5. Regresión entre los métodos de cálculo de DLR; número de puntas (DLR_P) y longitud (DLR_L). La línea discontinua es la relación 1:1.

Si bien pareciera más lógico convertir directamente los valores de longitud radical en DLR_L (Johnson *et al.*, 2001) el cálculo de DLR que utiliza el número de puntas (DLR_P) según los resultados obtenidos es igualmente válido. Hay que indicar que este último método se fundamenta en el concepto original de la cuadrícula de Newman (1966), basado en el principio que a mayor longitud de raíces, mayor será el número de intersecciones que ocurrirán con líneas rectas trazadas sobre el mismo plano de la muestra (método en el cual se basó este trabajo).

En la Figura 6 se muestran los resultados de DLR_P correspondientes a los tres tratamientos de riego, T1 (θ_s -16 % θ), T2 (θ_s -20 % θ), y T3 (θ_s -28 % θ). En la Figura 6A se muestra la evolución del DLR_P , donde se indica, a partir de la semana 10 posterior a la intersección de las raíces con el vidrio del rizotrón, el comienzo de la aplicación de los riegos según cada tratamiento. Al inicio del seguimiento, se observaron valores muy similares de DLR_P entre los tres tratamientos de riego, pero a partir de la semana 13 las diferencias entre tratamientos comenzaron a hacerse más notables. Es posible observar un aumento y diferenciación del T3 (θ_s -28 %) con respecto a los otros tratamientos, asimismo en la Figura 6B, en igual periodo se observó una diferencia en la tasa de crecimiento.

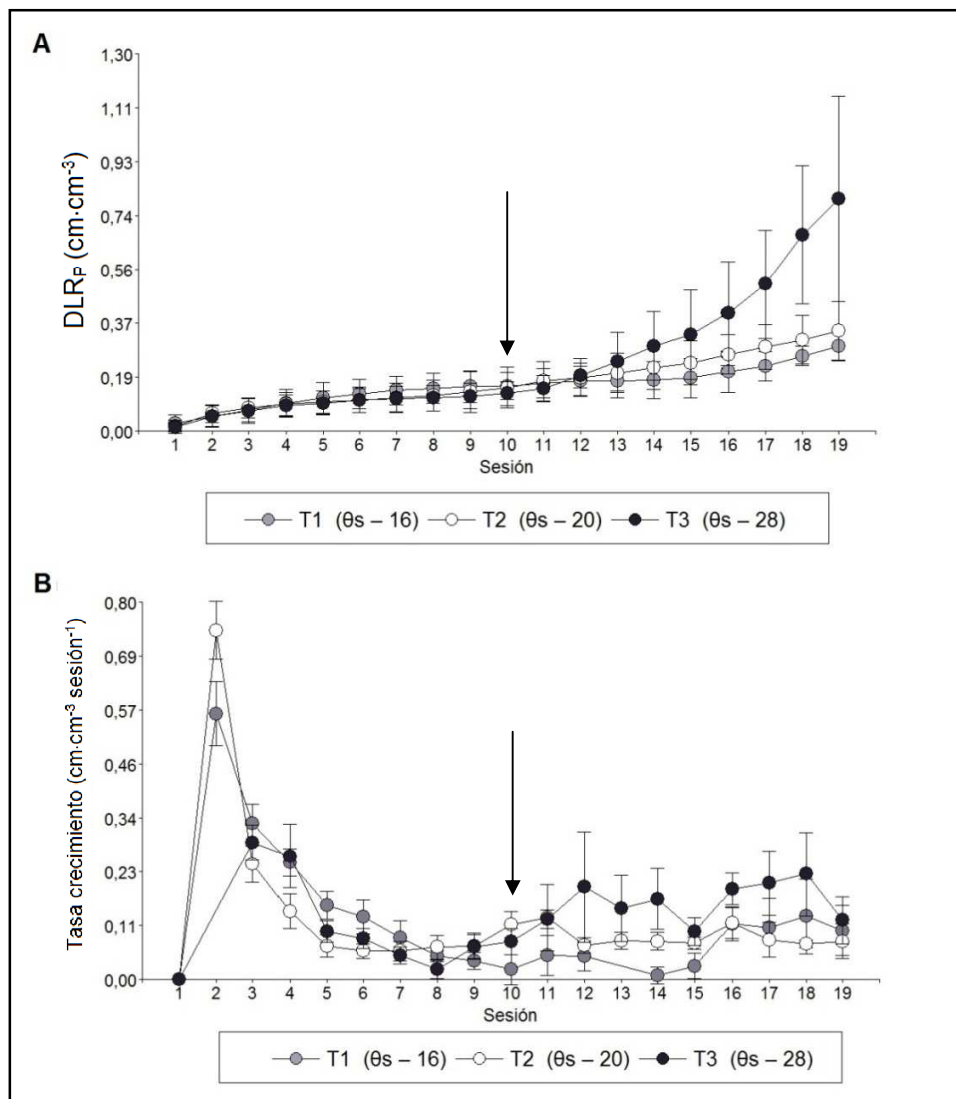


Figura 6. A. Evolución de la Densidad de Longitud de Raíces basado en el número de puntas (DLR_P). B. Tasa de crecimiento.

La flecha indica inicio de aplicación de tratamientos.

Se realizó un análisis de varianza para cada semana de evaluación. No se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos en el periodo comprendido entre la primera semana y la semana 14. A partir de la semana 15 fue posible encontrar diferencias significativas entre los tratamientos. En el Cuadro 2 se observa que, paulatinamente, el tratamiento 3 (θ_s -28 % θ), evoluciona diferenciándose estadísticamente, primero del T1 (θ_s -16 % θ) para finalizar la secuencia de evaluaciones diferenciándose además del T2 (θ_s -20 % θ).

Cuadro 2. DLR_P (cm·cm⁻³) semanal de plantas de haba sometidas a distintos tratamientos de riego.

SEMANA	DLR _P					
	T1 (θ_s -16 % θ)		T2 (θ_s -20 % θ)		T3 (θ_s -28 % θ)	
	----- (cm·cm ⁻³) -----					
1	0,03	a [†]	0,02	a	0,01	a
2	0,05	a	0,06	a	0,05	a
3	0,07	a	0,08	a	0,07	a
4	0,10	a	0,09	a	0,09	a
5	0,11	a	0,10	a	0,10	a
6	0,13	a	0,11	a	0,10	a
7	0,14	a	0,11	a	0,11	a
8	0,15	a	0,12	a	0,11	a
9	0,15	a	0,13	a	0,12	a
10*	0,16	a	0,15	a	0,13	a
11	0,16	a	0,17	a	0,15	a
12	0,17	a	0,18	a	0,19	a
13	0,17	a	0,20	a	0,24	a
14	0,18	a	0,22	a	0,29	a
15	0,18	a	0,23	ab	0,33	b
16	0,20	a	0,26	ab	0,41	b
17	0,22	a	0,29	a	0,51	b
18	0,26	a	0,31	a	0,68	b
19	0,29	a	0,34	a	0,80	b

[†]Letras distintas en sentido horizontal indican diferencias estadísticas significativas ($p \leq 0,05$)

*Inicio de la aplicación de riego diferenciado según cada tratamiento.

Adicionalmente se compararon tratamientos en la semana final de evaluación, utilizando una prueba de contrastes ortogonales, donde se encontraron diferencias significativas para las medias del índice DLR_P del tratamiento 3 *versus* los tratamientos T1 y T2 (p valor =0,0014).

Utilizando la metodología de análisis de la varianza multivariado (MANOVA), que permite modelar las correlaciones existentes entre observaciones seriales, fue

posible detectar diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (Test de Roy $\alpha < 0,05$; O'Brien y Kaiser. 1985). En la serie de medidas repetidas sobre la misma unidad experimental (raíces de plantas de haba), se evidenció una mayor DLR_p en T3 lo cual fue consistente con el mayor suministro de riego. No existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos de riego T1 ($\theta_s - 16\% \theta$) y T2 ($\theta_s - 20\% \theta$) (Figura 7).

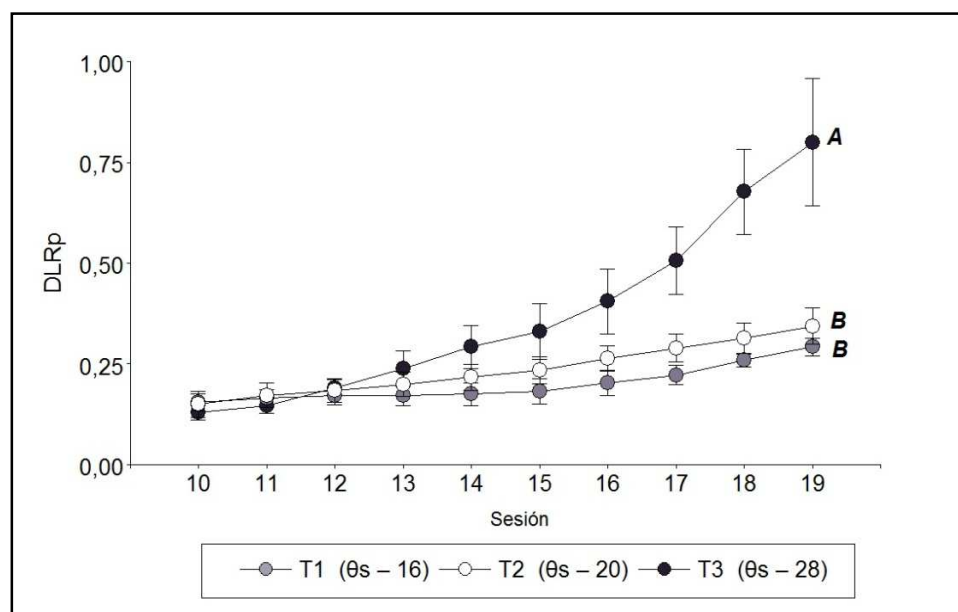


Figura 7. Análisis multivariado de la varianza.

†Letras distintas indican diferencias estadísticamente significativas según el Test de Roy ($p \leq 0,05$)

Datos de seguimiento *versus* campo

Se realizó un análisis de regresión, utilizando como variable dependiente la masa fresca total de raíces, y variable independiente la DLR_p , determinando una relación directamente proporcional entre ambas variables. Así, al relacionar la DLR_p con la masa fresca de raíces, utilizando una función lineal (Figura 8A) se obtiene una relación estadísticamente significativa y positiva, obteniendo un alto coeficiente de determinación $R^2 = 0,57$. Al ajustar el análisis a una función polinómica, el coeficiente de determinación aumenta a un $R^2 = 0,65$ (Figura 8B).

Se observa el rango general del estudio en ambas variables. Sin embargo, la planta 4 sobresale, con aproximadamente 98 g de masa fresca, siendo los valores del T3 ($\theta_s - 28\% \theta$) más altos comparado con los demás tratamientos, demostrando el efecto del mayor suministro de riego durante la temporada.

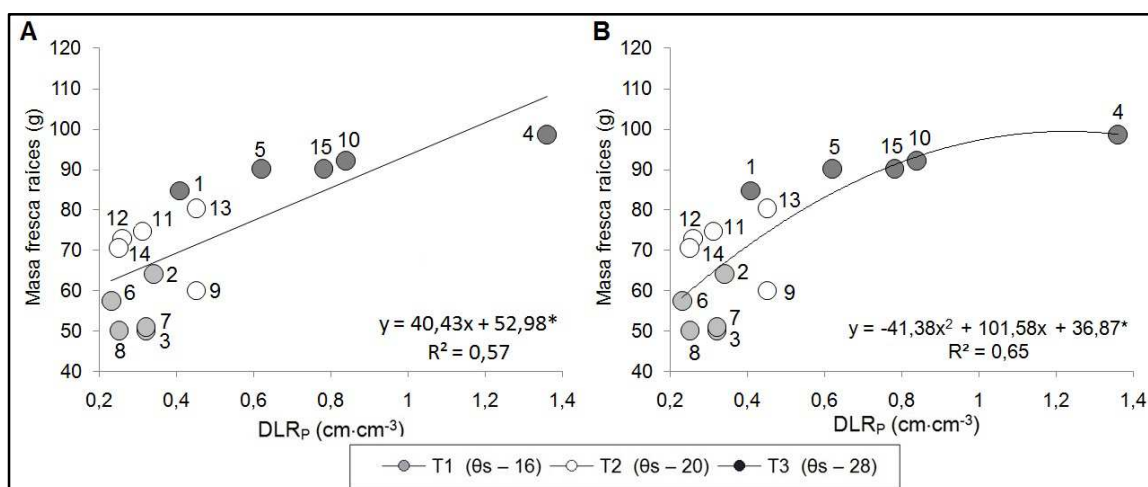


Figura 8. Masa fresca de raíces (g) en función de la DLR_p ($cm \cdot cm^{-3}$) A. Función lineal. B. Función polinómica.

En general, se observan los valores altos de masa fresca de raíces en aquellas plantas correspondientes al T3 (θ_s -28 % θ), donde los valores de contenido de agua se mantuvieron altos. Se aprecia una disminución significativa de la densidad radical conforme disminuye el contenido de agua del suelo.

Datos de campo

Para determinar el efecto de los tratamientos sobre el diámetro de raíces se realizó un análisis de varianza con los datos de masa fresca y seca de raíces de las tres categorías de diámetros (<1, 1-2 y >2 mm) y el total.

Para los datos de masa fresca de raíces (Figura 9A), en el caso de la categoría de diámetro <1 mm, el T1 se diferenció de T2 y T3, obteniendo la menor masa de raíces, $21,4 \text{ g} \pm 3,4$, versus T2 con $36,2 \text{ g} \pm 8,5$ y T3 con $44,5 \text{ g} \pm 6,7$. En la categoría de raíces entre 1 y 2 mm, no se observaron diferencias entre los tratamientos. Luego, en la categoría de diámetro de raíces superior a 2 mm, el T3, con $32,4 \text{ g} \pm 5,3$ se diferenció de T1 y T2, con $22,3 \text{ g} \pm 2,7$ y $24,3 \text{ g} \pm 2,8$ respectivamente. Cuando el análisis se hace en función de la masa fresca total de raíces, se obtuvieron diferencias estadísticas entre los tres tratamientos, siendo la mayor masa fresca obtenida por el T3, con $91,0 \text{ g} \pm 4,9$, seguida por T2 y T1 con $71,6 \text{ g} \pm 7,4$ y $54,5 \text{ g} \pm 6,1$ respectivamente.

En cuanto a los datos de masa seca de raíces (Figura 9B), para las raíces de diámetro <1 mm, el T1 se diferencia de T2 y T3, obteniendo la menor masa de raíces, $3,9 \text{ g} \pm 1,0$ versus T2 con $7,2 \text{ g} \pm 2,0$ y T3 con $9,3 \text{ g} \pm 2,1$. Al igual que el caso de masa fresca de raíces, en la categoría 1-2 mm, no se observaron diferencias entre los tratamientos. Luego, en la categoría de diámetro de raíces > 2 mm, el T3 con $8,8 \text{ g} \pm 1,9$, se diferenció de T1 y T2, con $5,6 \text{ g} \pm 0,7$ y $6,2 \text{ g} \pm 1,4$

respectivamente. Al analizar la masa seca total de raíces, se obtuvieron diferencias estadísticas entre los tres tratamientos, siendo la mayor masa seca la obtenida por el T3, con $21,4 \text{ g} \pm 1,4$, mientras que T1 y T2 presentaron valores de $11,9 \text{ g} \pm 1,8$ y $15,8 \text{ g} \pm 2,5$ respectivamente.

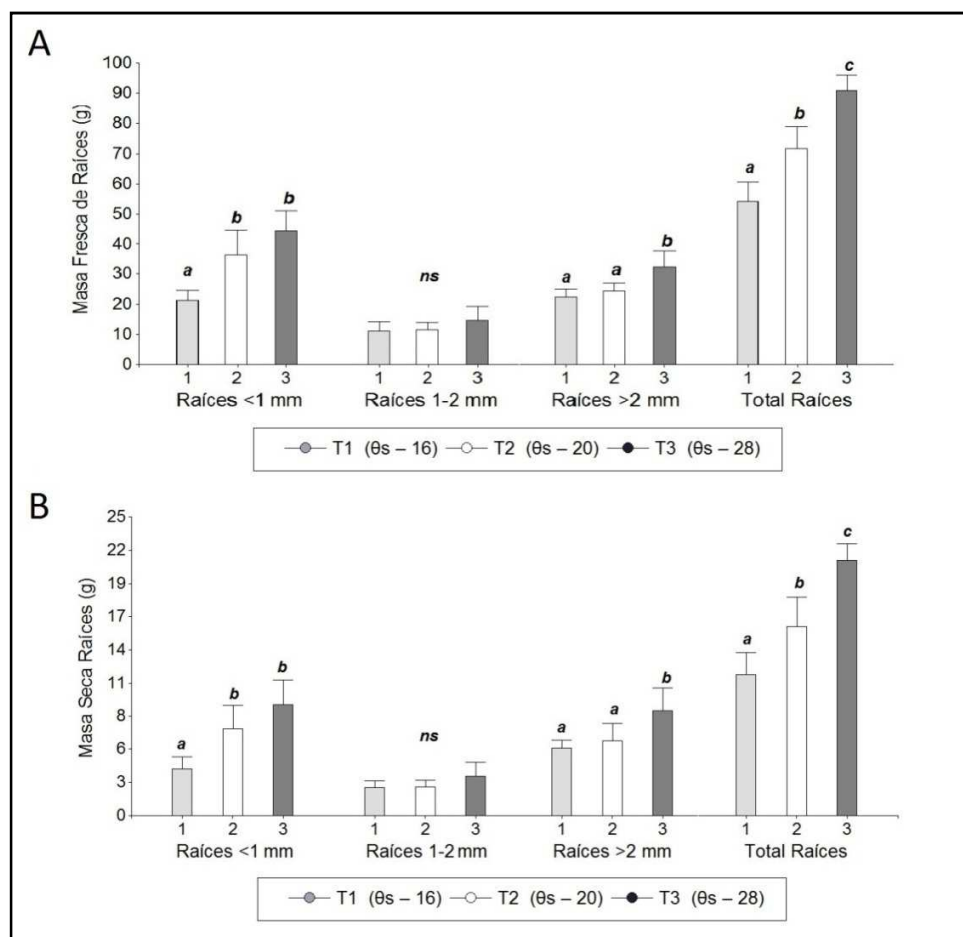


Figura 9. Masa fresca (A) y seca de raíces (B) de haba según categorías y el total de raíces por tratamiento de riego.

Por otro lado, el análisis multivariado de componentes principales (ACP) donde se describen las observaciones multidimensionales obtenidas sobre las variables evaluadas, señala que las dos primeras componentes principales (CP 1 y CP 2) explican el 100% de la variación, donde la CP 1 explica, por sí sola, un 93,1 % de la variación total (Figura 10). En esta componente, todas las variables en estudio fueron ponderadas de manera similar con un promedio de magnitud 33 (Cuadro 2, Apéndice), lo cual se evidencia por la posición relativa de los vectores de las variables, todas a la derecha. Adicionalmente, se obtuvo una alta correlación entre las variables, tanto de las obtenidas del seguimiento como de las variables de campo (Cuadro 1, Apéndice). En la Figura 10 también se observa con claridad la evidente relación del tratamiento 3 con las magnitudes altas de todas las variables de estudio, es decir, con el tratamiento de mayor umbral de riego 28 %θ se obtiene mayor longitud, número de puntas y DLR_P. Se obtuvo el mismo

comportamiento con los datos de campo; mayor masa fresca y seca total de raíces, diferenciándose estadísticamente de T2 y T3 (Cuadro 3, Apéndice).

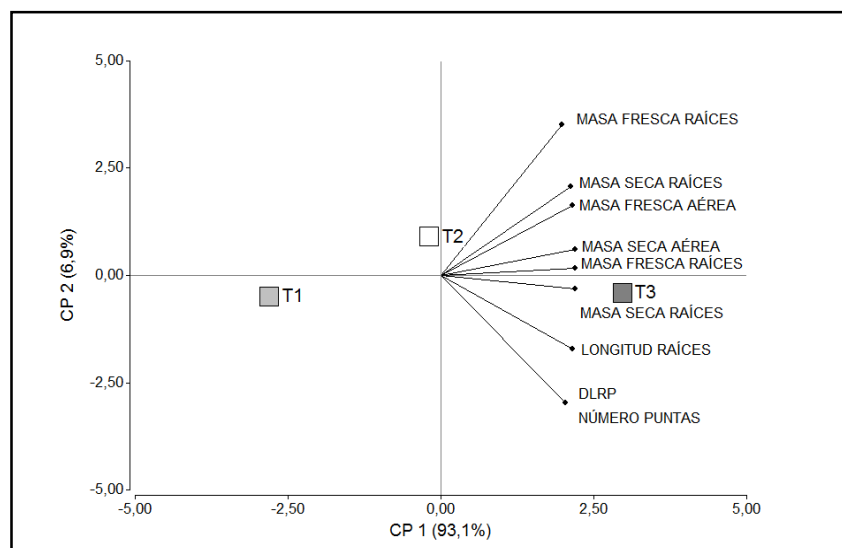


Figura 10. Análisis de componentes principales para variables de seguimiento y de campo de tratamientos de riego en plantas de haba.

Con respecto a la variable masa fresca de raíces y la proporción de cada categoría por tratamiento, existen diferencias significativas entre tratamientos, es así como en la categoría de raíces <1mm de diámetro, el T1, de menor UR, presenta la menor proporción. En cuanto a la categoría de raíces entre 1-2 mm de diámetro no se detectaron diferencias estadísticas. En el caso de la categoría de raíces de diámetro >2 mm de diámetro, el T1 presentó mayor proporción que el T2. El T3 no se diferenció estadísticamente tanto de T1 como de T2. (Cuadro 3).

Cuadro 3. Proporción de cada categoría de diámetro de raíces. Promedio \pm desviación estándar.

Tratamiento	Raíces		
	Diámetro < 1mm	Diámetro 1-2 mm	Diámetro >2mm
	----- Proporción -----		
T1 (θ s-16% θ)	0,39 \pm 0,05 a	0,20 \pm 0,04 ns	0,41 \pm 0,05 b
T2 (θ s-20% θ)	0,50 \pm 0,07 b	0,16 \pm 0,05	0,34 \pm 0,04 a
T3 (θ s-28% θ)	0,49 \pm 0,05 b	0,16 \pm 0,05	0,35 \pm 0,05 ab

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

^{ns} No significativo

DISCUSIÓN

Se ha demostrado que la arquitectura de la raíz es un aspecto fundamental de la productividad de la planta, especialmente en condiciones de bajos contenidos de agua y reducida disponibilidad de nutrientes (Lynch, 1995; Callejas *et al.*, 2012). De forma global existe una mayor magnitud en todos los parámetros evaluados del tratamiento de mayor rango de contenido volumétrico, donde la reposición de agua se efectuó con mayor frecuencia, T3 θ_s -28 % θ , en comparación a los tratamientos de menor frecuencia de riego, T1 θ_s -16 % θ y T2 θ_s -20 % θ . Consecuentemente, en el tratamiento 3, se observó un ligero aumento de la tasa de crecimiento de la DLR_p con respecto a los otros tratamientos, debido a una condición más adecuada de contenido de agua del suelo.

Los avances metodológicos en diversos campos han mejorado la capacidad de visualizar, cuantificar y conceptualizar arquitectura de la raíz y su relación con la productividad de la planta (Böhm, 1979; Waisel *et al.*, 2002; Gregory, 2006; Neumann, *et al.*, 2009). Considerando que los métodos propuestos para el estudio de la dinámica del sistema radical son tediosos e incluyen evaluaciones metódicas, los rizotrones ofrecen un efectivo método no destructivo para evaluar en forma periódica el sistema radical, reduciendo al mínimo la perturbación del suelo y los efectos de la variación espacio-temporal (Sachs, 1873; Bates, 1937; Smit *et al.*, 2000; Crocker *et al.*, 2003; Wright y Wright, 2004; Silva y Beeson, 2011), lo cual se confirma con los resultados del presente trabajo, donde el seguimiento de raíces permitió predecir, con alto grado de certeza, el potencial crecimiento de estas, expresado como masa fresca.

Muchos investigadores han utilizado métodos directos de medición tradicional del sistema radical, por ejemplo, para determinar el peso, la longitud y el diámetro de raíces, con las evaluaciones limitadas y agotadoras asociadas a estas labores. Sin embargo, varios autores señalan que la habilidad de las plantas para absorber agua está más relacionada con la longitud de las raíces que con el peso de las mismas (Gardner, 1960; Cowan, 1965; Brewster y Tinker, 1970). Con estas consideraciones, se utilizó el método basado en la determinación de la longitud total de raíces designado como "densidad de longitud de raíces" (DLR) obteniendo una alta asociación con el sistema radical estudiado (Newman, 1966; Pearson, 1974; Rowse y Phillips, 1974; Voorhees, *et al.*, 1980; Huck y Taylor, 1982).

Con la técnica de rizotróf, se fotografiaron las raíces del perfil, visibles a través del vidrio, para luego ser analizadas mediante un programa computacional específico diseñado para el estudio de raíces, WinRhizo (Polomski y Kuhn, 2002). Inicialmente, las mediciones de la longitud de la raíz se realizaban directamente con una regla (Ahlrichs *et al.*, 1990) o con las raíces dibujadas sobre transparencias (Lynch y Beem, 1993) restringiendo los estudios por el tiempo de campo dedicado a la labor.

Actualmente, la mayoría de los procedimientos para estimar la longitud de raíces se realizan sobre la base de modificaciones del método de intersección propuesto por Newman (1966), basado en el principio que a mayor longitud de raíces, mayor será el número de intersecciones de éstas con líneas de cuadrícula. Donde es posible, a través de los parámetros obtenidos mediante el programa WinRhizo, minimizar esta limitación utilizando variables más fáciles de evaluar, por ejemplo, número de raíces como sustituto de la longitud de éstas, así, al calcular la densidad de longitud de raíces basándose en el número de puntas (DLR_P) y la longitud total (DLR_L) se determinó mediante el análisis de regresión una alta relación entre ambos métodos, con un coeficiente de determinación altamente significativo (0,93), lo que sugiere que cambios en el número de raíces se pueden utilizar para predecir la dinámica de la longitud de éstas de manera fiable, lo cual concuerda con lo obtenido por otros autores como Crocker *et al.* (2003) y Abrisqueta (2011).

El estudio del sistema radical requiere de métodos cuantitativos que deben combinar velocidad y precisión (Bland y Mesarch, 1990). Por ello, los nuevos programas computacionales intentan facilitar el complejo procedimiento de evaluación de la longitud de raíces en terreno (Harris y Campbell, 1989; Polomski y Kuhn, 2002). Si bien, los sistemas de análisis de imágenes digitales están siendo adaptados para contar las intersecciones, se requiere de instrumental apropiado que otorgue imágenes de calidad suficiente para su posterior análisis (Voorhees *et al.*, 1980; Harris y Campbell, 1989). Por otro lado, el tiempo asociado con el procesamiento de imágenes limita la cantidad de datos que se pueden obtener en un período razonable de tiempo (Crocker *et al.*, 2003). Esto puede representar una inversión sustancial de tiempo y costos de investigación; en esta experiencia, se destinaron tiempos de análisis en el rango de 40 min a 4 h por imagen de rizotróf. Lamentablemente, las indicaciones de horas y el trabajo necesario se encuentra muy raramente en la literatura, generalmente solo se pueden encontrar recomendaciones generales (Böhm, 1979).

Con la metodología de evaluación de DLR obtenida en base al número de puntas de raíces y masa fresca de éstas, se obtuvo un alto coeficiente de regresión, lo cual indica que la metodología es eficiente y fiable. De todas maneras, es imprescindible considerar un buen contraste entre las raíces y el suelo, ya que esto puede convertirse en una desventaja del método. También la delimitación del área a ser fotografiada debe ser realizarse con un sistema de reticulado, por ejemplo, una malla, o fijando mediante sistemas de soporte la posición de la cámara.

La resolución también puede afectar las longitudes y diámetros observados (Bouma *et al.*, 2000). Pan y Bolton (1991) observaron la sobreestimación de diámetro de la raíz debido a las sombras producidas. Se debe señalar que este efecto se puede minimizar ajustando adecuadamente las imágenes y utilizando una escala de contrastes apropiada. Otras observaciones importantes de considerar es que los análisis obtenidos a partir de las imágenes son extremadamente sensibles a la utilización de un protocolo, es decir, al analizar la

misma unidad experimental, que varía en crecimiento periódicamente, la superposición de los patrones de raíces, de una sesión a la siguiente, se convierte en una importante fuente potencial de error (Harris y Campbell 1989; Pan y Bolton, 1991; Smit *et al.*, 1994).

Es importante señalar que en la elección de cualquier método de evaluación, también se deben considerar parámetros como la dificultad operativa y los costos económicos, dado que existen sistemas muy eficientes, que son rápidos y no destructivos, pero que al momento de hacer una evaluación económica, no resultan convenientes. Ejemplo de lo anterior son los minirizotrones, que utilizan pequeñas cámaras y tubos bajo el suelo, pero proveen información de un limitado número de raíces (McMichael *et al.*, 1992). Finalmente se puede optar por métodos de rizotrones de menor costo comparativo, o por el camino de excavación tradicional (Schlegel *et al.*, 2000).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones del presente ensayo se puede concluir que:

Mediante el empleo de la técnica de rizotróf, analizando imágenes fotográficas digitales mediante el programa computacional WinRhizo™ y utilizando la DLR calculada en base al número de puntas, fue posible estimar el crecimiento de las raíces de plantas de haba.

La distribución de raíces, el número de puntas totales, la longitud total, la masa fresca y seca de raíces se vieron influenciadas por el umbral de riego, en donde el mayor contenido hídrico del suelo se relaciona con un mayor crecimiento de raíces.

Independiente de la técnica o implemento, la obtención de una imagen de calidad es el requisito más importante para el procesamiento digital.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abrisqueta, I. 2011. Balance hídrico y respuesta del melocotonero extratemprano al riego deficitario. Tesis Doctoral. Universidad de Murcia, Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS), Madrid. 234h.

Ahlich, J. L.; M. C. Karr; V. C. Baligar and R. J. Wright. 1990. Rapid bioassay of aluminum toxicity in soil. *Plant and Soil*, 122(2): 279-285.

Amato, M. and A. Pardo. 1994. Root length and biomass losses during sample preparation with different mesh sizes. *Plant and Soil*, 161: 299-303.

Berntson, G. M. 1992. A computer program for characterizing root system branching patterns. *Plant and Soil*, 140: 145-149.

Bland, W. L. and M. A. Mesarch. 1990. Counting error in the line-intercept method of measuring root length. *Plant and Soil*, 125(1): 155-157.

Böhm, W. 1979. *Methods of studying root system*. Springer-Verlag, Berlin. 187p.

Böhm, W.; H. Maduakor and H. M. Taylor. 1977. Comparison of five methods for characterizing soybean rooting density and development. *Agronomy Journal*, 69: 415-419.

Bouma, T. J.; K. L. Nielsen and B. Koutstaal. 2000. Sample preparation and scanning protocol for computerised analysis of root length and diameter. *Plant and Soil*, 218: 185-196.

Box, J. E. Jr.; A. J. M. Smucker and J. T. Ritchie. 1989. Minirhizotron installation techniques for investigating root responses to drought and oxygen stress. *Soil Science Society of America Journal*, 53: 115-118.

Brewster, J. and P. Tinker. 1970. Nutrient cation flows in soil around plant roots. *Proceedings Soil Science Society of America*, 34: 421-426.

Callejas, R.; E. Rojo; C. Benavidez, y E. Kania. 2012. Crecimiento y distribución de raíces y su relación con el potencial productivo de parrales de vides de mesa. *Agrociencia*, 46: 23-35.

CIREN (Centro de Información de Recursos Naturales). 1990. *Atlas agroclimático de Chile, Regiones IV a IX*. Ciren, Chile. Publicación N°87. 67p.

- Cowan, I. 1965. Transport of water in the soil plant atmosphere system. *Journal of Applied Ecology*, 8: 221-239.
- Crocker, T. L.; R. L. Hendrick; R. W. Ruess; K. S. Pregitzer; A. J. Burton; M. F. Allen and L.A. Morris. 2003. Substituting root numbers for length: improving the use of minirhizotrons to study fine root dynamics. *Applied Soil Ecology*, 23(2): 127-135.
- Dhief, A.; R. Abdellaoui; M. Tarhouni; A. O. Belgacem; S. A. Smiti and M. Neffati. 2011. Root and aboveground growth of rhizotron-grown seedlings of three Tunisian desert *Calligonum* species under water deficit. *Canadian Journal of Soil Science*, 91: 15-27.
- Faust, M. 1989. *Physiology of Temperate Zone Fruit Trees*. John Wiley and Sons, New York. 338p.
- Fita, A.; B. Picó y F. Nuez. 2006. Análisis de imagen como herramienta en la mejora del sistema radicular en melón. *Actas de Horticultura*, 45: 119-120.
- Gardner, W. 1960. Dynamic aspects of water availability to plants. *Soil Science*, 89: 6773.
- Grabarnik, P.; L. Pages and A. G. Bengough. 1998. Geometrical properties of simulated maize root systems: consequences for length density and intersection density. *Plant and Soil*, 200(2): 157-167.
- Gregory, P. J. 2006. *Plant roots: growth, activity and interactions with the soil*. Wiley-Blackwell. Oxford, UK. 329p.
- Harris, G. A. and G. S. Campbell. 1989. Automated quantification of roots using a simple image analyzer. *Agronomy Journal*, Madison, 81: 935-938.
- Heeraman, D. A. and N. G. Juma. 1993. A comparison of minirhizotron, core and monolith methods for quantifying barley (*Hordeum vulgare* L.) and fababean (*Vicia faba* L.) root distribution. *Plant and Soil*, 148: 29-41.
- Huck, M. G. and H. M. Taylor. 1982. The rhizotron as a tool for root research. *Advances in Agronomy*. 305p.
- Johnson M. G.; D. T. Tingey; D. L. Philips and M. J. Storm. 2001. Advancing fine root research with minirhizotrons. *Environmental and Experimental Botany*, 45: 263-289.

Kage, H. T and W. Ehlers. 1996. Does transport of water to roots limit water uptake of field crops? *Zeitschrift Fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde*, 159: 583-590.

Kolesnikov, V. A. 1971. Ed. 2. *The Root system of Fruit Plant*. Mir Publishers, Moscow. 269p.

Kolesnikov, V. A. 1972. *Methods of Studying the Root Systems of Woody Plants*. Moscow, 152p.

Lieth, H. 1968. The determination of plant dry-matter production with special emphasis underground parts. (pp. 179-186). In: Eckardt, F.E. (Ed.). *Functioning of Terrestrial Ecosystems at the Primary Production Level*. Proceeding of the Copenhagen Symposium. Paris: UNESCO. 516p.

Logsdon, S. L. and R. R. Allmaras. 1991. Maize and soybean clustering as indicated by root mapping. *Plant and Soil*, 131: 169-176

Lynch J. and J. Van Beem. 1993. Growth and architecture of seedling roots of common bean genotypes. *Crop Science*, 33: 1253-1257.

Lynch, J. 1995. Root architecture and plant productivity. *Plant physiology*, 109:7-13.

McMichael, B. L.; D. R. Upchurch and H. M. Taylor. 1992. Transparent wall techniques for studying root growth and function in soil. *Journal of Plant Nutrition*, 15: 735-762.

Metcalf, D. 2006. *Manual de cálculo de dinámicas de raíz para ecosistemas tropicales Sixth Framework Programme 2002-2006*. University of Edinburgh, School of Geosciences, Drummond Street. Edinburgh, Scotland, U.K. 20p.

Neumann, G.; T. S. George and C. Plassard. 2009. Strategies and methods for studying the rhizosphere the plant science toolbox. *Plant and Soil*, 321(1-2): 431-456.

Newbould, P. J. 1968. Methods of estimating root production (pp.187-190). In: Eckardt, F.E. (ed.). *Functioning of Terrestrial Ecosystems at the Primary Production level*. Proceedings of the Copenhagen Symposium. Paris: UNESCO.

Newman, E. 1966. A method of estimating the total length of roots in a sample. *Journal of Applied Ecology*, 2: 139-145.

- O'Brien, R. G. and M. K. Kaiser. 1985. MANOVA method for analyzing repeated measures designs: an extensive primer. *Psychological Bulletin*, 97(2): 316-333.
- Pallant, E.; R. A. Holmgren; G. E. Shuler; K. L. McCracken and B. Drbal. 1993. Using a fine extraction device to quantify small diameter corn roots (≤ 0.025 mm) in field soils. *Plant and Soil*, 153: 273-279.
- Pan, W.L. and R.P. Bolton. 1991. Root quantification by edge discrimination using a desktop scanner. *Agronomy Journal* 83:1047-1052.
- Pearson, R. 1974. Significance of rooting pattern to crop production and some problems of root research. In: *The plant root and its environment*, ed. E.W. Carson. Charlottesville. The University Press of Virginia, 24: 72-70.
- Polomski, J. and N, Kuhn. 2002. Root research methods. (pp. 295-321). In: Waisel, Y.; A. Eshel and U. Kafkafi. (eds.), *Plant Roots: The hidden half*. Marcel Decker, New York. 1136p.
- Rowse, H. and D. Phillips. 1974. An instrument for estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*, 11: 309-314.
- Sachs, J. 1873. Über das Wachstum der Haupt und Neben wurzeln. *Arb. Bot. Inst. Würzburg*, 3: 201-214.
- Schlegel, A. J.; M. Alam; C. W. Rice and L. R. Stone. 2000. Soil chemical properties in fields with a history of manure applications. In: *Proceedings of the Great Plains Soil Fertility Conference (Vol. 8, p. 275)*. Kansas State University.
- Schroth, G. and D. Kolbe. 1994. A method of processing soil core samples for root studies by subsampling. *Biology and Fertility of Soils*, 18: 60-62.
- Schuurman, J. J. and M. A. J. Goedewaagen. 1964. *Methods for the examination of root systems and roots*. Center for Agricultural Publications and Documentation, Wageningen, Netherlands. 86p.
- Silva, D. and R., Beeson. 2011. A large-volume Rhizotron for evaluating root growth under natural-like soil moisture conditions. *HortScience*, 46(12): 1677-1682.
- Smit, A. L. Sprangers, J.F.C.M. Sablik, and J. Groenwold. 1994. Automated measurement of root length with three-dimensional high-resolution scanner and image analysis. *Plant and Soil*, 158: 145-149.

Smit, A. L.; George, E. and J. Groenwold. 2000. Root observations and measurements at (transparent) interfaces with soil. In *Root methods*. Springer Berlin Heidelberg. 235-271.

Tanaka N.; M. Takao and T. Matsumoto. 1995. Vincamine production in multiple shoot culture derived from hairy roots of *Vinca minor*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 41: 61-64.

Tardieu, F. 1988. Analysis of the spatial variability of maize root density. I Effect of wheel compaction on the spatial arrangement of roots. *Plant and Soil*, 107: 259-266.

Torrecillas, A.; R. Domingo; R. Galego y M. C. Ruiz-Sánchez. 2000. Apricot tree response to irrigation with holding at different phenological periods. *Scientia Horticulturae*, 85: 201-215.

Upchurch, D. R. 1987. Conversion of minirhizotron-root intersections to root length density. In: Taylor, H.M. (Ed.). *Minirhizotron Observation Tubes: Methods and Applications for Measuring Rhizosphere Dynamics*. American Society of Agronomy. Special Publication Number 50, Madison, Wisconsin, 51-66.

Upchurch, D. R. and J. T. Ritchie. 1983. Root observations using a video recording system in minirhizotrons. *Agronomy Journal*, 75: 1009-1015.

Voorhees, W.; V. Carson and E. Hallauer. 1980. Root length measurement with a computer controlled digital scanning microdensitometer. *Agronomy Journal*, 72: 847-851.

Waisel, Y.; A. Eshel and U. Kafkafi. 2002. *Plant roots: The hidden half*. 3rd ed. Marcel Dekker, New York. 1136p.

Williams, L. E. and R. J. Smith. 1991. The effect of rootstock on the partitioning of dry weight, nitrogen and potassium, and root distribution of Cabernet Sauvignon grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 42(2): 118-122.

Wright, A. N. and R. D. Wright. 2004. The Horhizotron™: a new instrument for measuring root growth. *HortTechnology*, 14: 560–563.

APÉNDICE

Cuadro 1. Matriz de coeficientes de correlación lineal de Pearson (r). Análisis de Componentes Principales.

	N° Puntas	Longitud Raíces (cm)	DLR _P (cm·cm ⁻³)	Masa Fresca Raíces (g)	Masa Seca Raíces (g)	Masa Fresca Aérea (g)	Masa Seca Aérea (g)	Masa Fresca Frutos (g)	Masa Seca Frutos (g)
Número Puntas	1,00								
Longitud Raíces (cm)	0,99	1,00							
DLR _P (cm·cm ⁻³)	1,00	0,99	1,00						
Masa Fresca Raíces (g)	0,92	0,97	0,92	1,00					
Masa Seca Raíces (g)	0,94	0,98	0,94	1,00	1,00				
Masa Fresca Aérea (g)	0,84	0,91	0,84	0,98	0,97	1,00			
Masa Seca Aérea (g)	0,90	0,96	0,90	1,00	0,99	0,99	1,00		
Masa Fresca Frutos (g)	0,68	0,79	0,68	0,91	0,88	0,97	0,93	1,00	
Masa Seca Frutos (g)	0,81	0,89	0,81	0,97	0,96	1,00	0,98	0,98	1,00

Cuadro 2. Coeficientes de autovectores, ponderación de cada variable en la formación de CP1 y CP2, proporción y proporción acumulada.

Variables	N° Puntas	Longitud Raíces (cm)	DLR _P (cm·cm ⁻³)	Masa Fresca Raíces (g)	Masa Seca Raíces (g)	Masa Fresca Aérea (g)	Masa Seca Aérea (g)	Masa Fresca Frutos (g)	Masa Seca Frutos (g)	Proporción	Proporción acumulada
Autovector 1	0,32	0,34	0,32	0,35	0,35	0,34	0,34	0,31	0,33	0,931	0,931
Autovector 2	-0,47	-0,27	-0,47	0,02	-0,05	0,26	0,10	0,55	0,32	0,069	1,000

Cuadro 3. Medias por tratamiento de número de puntas, longitud de raíces (cm) y DLR_P (cm·cm⁻³) en plantas de haba sometidas a distintos tratamientos de riego.

Tratamiento	Puntas (número)	Longitud Raíces (cm)	DLRP (cm·cm-3)
1	146,0 a	152,8 a	0,3 a
2	172,0 a	222,6 a	0,3 a
3	400,0 b	420,6 b	0,8 b

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

Cuadro 4. Medias por tratamiento de la masa fresca de las categorías de diámetro y el total de raíces, masa aérea y de frutos de plantas de haba sometidas a distintos tratamientos de riego.

Tratamiento	Masa Fresca					
	Diámetro <1mm	Diámetro 1-2mm	Diámetro >2mm	Total	Parte Aérea	Frutos
	----- (g) -----					
1	21,2 a	10,7 ns	22,3 a	54,3 a	215,6 a	458,4 a
2	36,2 b	11,1	24,3 a	71,6 b	267,7 ab	530,9 ab
3	44,5 b	14,2	32,4 b	91,0 c	298,3 b	542,6 b

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

^{ns}No significativo

Cuadro 5. Medias por tratamiento de la masa seca de las categorías de diámetro y el total de raíces, masa aérea y de frutos de plantas de haba sometidas a distintos tratamientos de riego.

Tratamiento	Masa Seca					
	Diámetro <1mm	Diámetro 1-2mm	Diámetro >2mm	Total	Parte Aérea	Frutos
	----- (g) -----					
1	3,9 a	2,3 ns	5,6 a	11,9 a	39,0 ns	122,8 ns
2	7,2 b	2,4	6,2 a	15,8 b	44,5	115,2
3	9,3 b	3,3	8,8 b	21,4 c	49,7	127,9

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

^{ns}No significativo

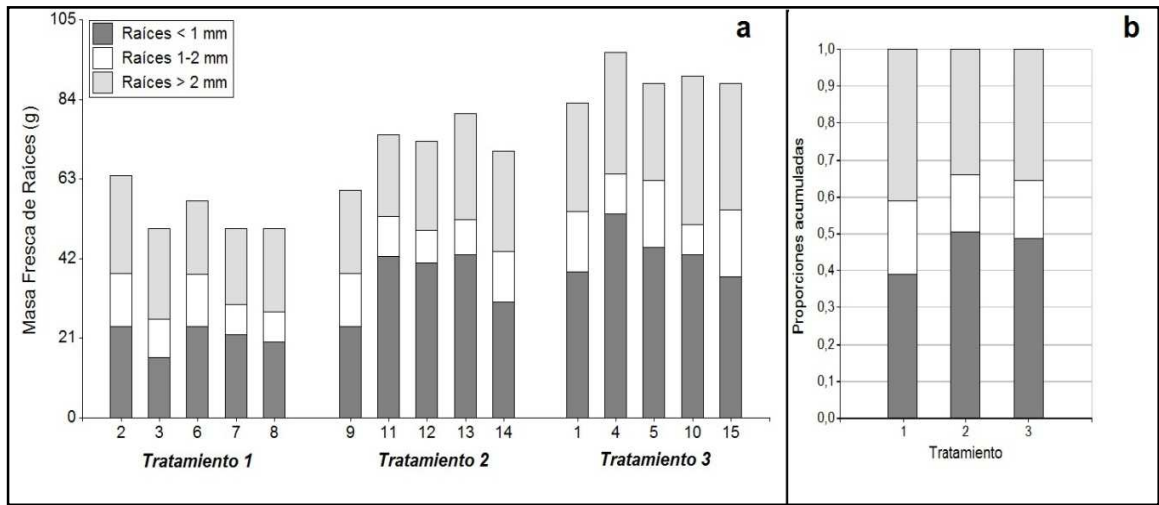


Figura 1. Valores observados para la masa fresca, por categoría de raíces (a) y proporciones acumuladas (b) en plantas de haba sometidas a distintos tratamientos de riego.