

## Monitoreo de Raíces en Especies Frutales: Conociendo el Lado Oculto de la Planta

- ▶ Michelle Morales O.  
Ingeniera Agrónoma. Mg. Sc.  
Centro de Estudios Avanzados en Fruticultura, CEAF  
mmorales@ceaf.cl
- ▶ Alejandro Antúnez B.  
Ingeniero Agrónomo. Ph. D.  
INIA – La Platina  
aantunezb@inia.cl
- ▶ Mauricio Ortiz L.  
Ingeniero Agrónomo. Dr.  
CEAF  
mortiz@ceaf.cl
- ▶ Gabriel Sellés van Sch.  
Ingeniero Agrónomo. Dr.  
INIA – La Platina  
gselles@inia.cl

- ▶ Foto 1. Calicata con sistema de cuadrículas para determinar distribución de raíces en un parronal de uva de mesa.



► **Foto 2.** Cilindros de muestreo de raíces extraídos verticalmente en una calicata.

El crecimiento y desarrollo del sistema radical de las plantas es un fenómeno complejo. Aunque su potencial está definido genéticamente, las condiciones ambientales del suelo, tales como la compactación, temperatura, aireación, contenido de agua y los nutrientes pueden modificar su desarrollo y funcionalidad. También el desarrollo radical se ve afectado por la presencia de microorganismos que interactúan con las raíces, ya sea en términos benéficos o perjudiciales. Dada esta compleja situación, se hace cada vez más necesario conocer la dinámica de crecimiento del sistema radical de las plantas frente a diferentes tipos de estrés en el suelo, sea éste de carácter biótico (enfermedades, plagas, microorganismos) o abiótico (compactación, aireación, elementos tóxicos), para establecer nuevas estrategias de manejo agronómico.

Por otro lado, el estudio de raíces también es primordial para sentar las bases para programas de mejoramiento genético de frutales que permitan la adaptación a condiciones particulares de estrés. Esto es altamente necesario en nuestro país, donde, por efectos de las condiciones climáticas cambiantes, la frontera frutícola se ha ido expandiendo hacia la Zona Sur (a la Región de La Araucanía, Los Lagos e incluso la Región de Aysén), donde las condiciones físico-químicas de los suelos difieren sustancialmente. Ello tanto en características texturales, de humedad, pH de suelos y mayores riesgos de toxicidad por aluminio.

En los últimos años, los avances metodológicos y las tecnologías aplicadas al estudio de raíces han mejorado considerablemente, pudiendo observar, cuantificar y caracterizar la dinámica de los sistemas radicales a través del análisis de imágenes. El interés por las raíces abre la posibilidad de generar nuevas líneas de investigación, que requieren de esfuerzos interdisciplinarios que combinen el conocimiento de diferentes áreas de estudio. El uso de estas técnicas, ha sido recogida por INIA y el Centro de Estudios Avanzados en Fruticultura (CEAF), ubicado en INIA - Rayentué en la Región de O'Higgins desde el año 2010, con aportes del Fondo de Innovación para la Competitividad de Asignación Regional (FIC-R), Región del Libertador Bernardo O'Higgins y de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica (CONICYT).

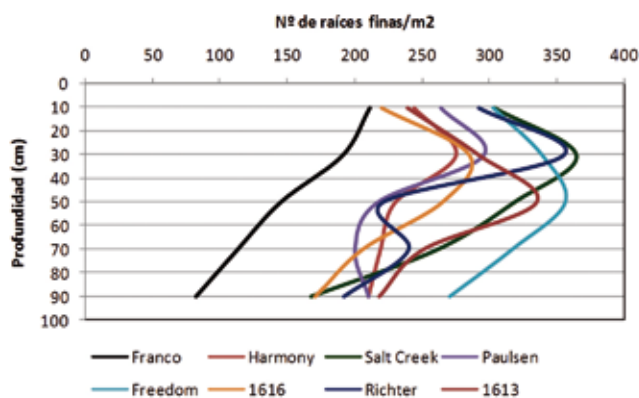
## Técnicas de monitoreo de raíces en especies frutales ◀

Las técnicas básicas de monitoreo de raíces en terreno pueden ser divididas en dos grandes grupos: destructivas y no destructivas.

Con respecto a las “técnicas destructivas”, éstas son ampliamente empleadas para monitorear raíces en condiciones de campo. Una de ellas consiste en la excavación de calicatas amplias con una profundidad variable y abarcando a lo menos la mitad de la distancia entre las hileras. Una pared de la calicata se cuadrícula a 10 x 10 cm, y en cada una de ellas se procede a contar el número de raíces incluidas en el área (**Foto 1**). Estas se pueden clasificar en categorías (gruesas, medianas y finas). En la **Figura 1**, se presenta la distribución en profundidad del sistema radical de diferentes Portainjertos utilizados en Uva de Mesa, en comparación a plantas francas.

Otro método destructivo, consiste en cuantificar raíces dentro de las calicatas utilizando un cilindro de volumen conocido, que es introducido al suelo a diferentes profundidades. Una vez obtenida la muestra, en el laboratorio se debe separar las raíces del cultivo del resto del suelo, con la precaución de no dañar el tejido, incluyendo sólo las raíces de la especie estudiada, descartando malezas u otras especies. Siendo un método destructivo, requiere de gran dedicación y tiempo para la limpieza y separación del material. Además, esta técnica puede entregar una visión sesgada de las raíces, porque se muestrea en un volumen reducido del sistema radical. Aún así, si esta metodología es implementada adecuadamente, permite estimar la densidad y distribución de raíces. En la **Foto 2**, se observa un cilindro de muestreo que contiene raíces y suelo, extraído verticalmente en una calicata.

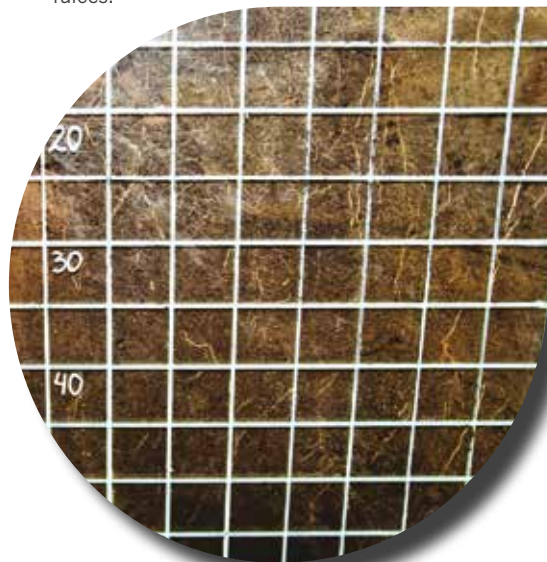
Con respecto a las “técnicas no destructivas” para la observación de raíces, la más usada es el “rizotrón”. Esta técnica consiste en la construcción de una cámara subterránea con un vidrio como trinchera vertical en el suelo, a través del cual se pueden observar las raíces de la planta creciendo en el contacto con el vidrio. Esta cámara debe ser oscurecida o cubierta para evitar la entrada de luz, permitiendo que las raíces crezcan en la zona de conteo.



► **Figura 1.** Distribución de raíces en profundidad de diferentes portainjertos de Uva de Mesa. La densidad de raíces se expresa como número de raíces finas en una superficie de un metro cuadrado de suelo.



► **Foto 3.** Estructura básica de un Rizotrón construido en madera con pared de vidrio para la observación del crecimiento de raíces.



► **Foto 4.** Desarrollo de raíces de maíz en un Rizotrón de 1 m de profundidad y grillas de 10 cm.

Normalmente se trazan grillas o cuadros espaciados a una distancia regular (10 x 10 cm), que facilitan el conteo de raíces de distinto grosor por cuadro o número de intercepciones por línea de la grilla. En la **Foto 3**, se muestra la estructura básica de un rizotrón utilizado para estudiar raíces de vides, mientras que en la **Foto 4**, se muestra el desarrollo radical de maíz grano, con grillas hasta un metro de profundidad.

Los rizotrones permiten determinar en el campo la distribución de raíces en el perfil del suelo y la magnitud relativa de raíces gruesas y finas. Además, permite conocer la dinámica del crecimiento de las raíces en el curso de la temporada. La ventaja de la observación en campo es describir el crecimiento de las raíces en la condición del suelo, con el inconveniente que las raíces tienden a crecer en distintas direcciones evitando situaciones de estrés, sin desarrollarse necesariamente hacia el vidrio, lo cual puede representar una visión limitada del sistema radical. Sin embargo, esta técnica permite conocer los periodos de crecimiento de raíces, de manera de ajustar la aplicación de nutrientes y agua, mejorando su eficiencia de absorción.

### Nuevas técnicas de monitoreo de raíces ◀

Una modificación del rizotrón tradicional, es la utilización de tubos transparentes instalados en el suelo, llamados “minirizotrones”. A través de éstos, se introduce un escáner (**Foto 5**), para captar imágenes en el tiempo y de forma estandarizada. Estas fotografías permiten el monitoreo del crecimiento y regeneración de raíces, logrando mayor precisión en la estimación de la tasa de crecimiento y muerte de raíces.

Desde el rizotrón en campo hasta los minirizotrones, el avance se ha dirigido hacia la mejora en la adquisición de imágenes, siendo posible obtenerlas con cámaras fotográficas tradicionales. Para ello, se estandariza la distancia de captura y el tamaño de la imagen, o con escáner especializado en que las imágenes son indexadas, lo cual facilita su identificación, ordenamiento y posterior procesamiento.

Un aspecto crítico del uso de esta técnica dice relación con el grado de representatividad del análisis, debido a la ubicación y cantidad de tubos transparentes necesarios para representar correctamente el desarrollo de las raíces. En este caso, es necesario considerar un tiempo previo a la toma de imágenes, de tal manera de permitir que el crecimiento de raíces alcance la zona de visualización de los tubos. Normalmente, en condiciones de campo, se usa entre dos a cuatro tubos por planta, los cuales son instalados preferentemente en un ángulo de 45° respecto de la superficie del suelo (**Foto 6**).

La captura de imágenes mediante el escáner permite analizar el crecimiento de las raíces tomando fotografías de alta resolución en tramos de profundidad de 20 cm. El análisis de las imágenes se realiza mediante programas computacionales, aunque la mayoría de los investigadores concuerdan que este proceso es un punto crítico



► **Foto 7.** A la derecha, fotografía obtenida con el escáner de raíces. A la izquierda, imagen procesada con software RootSnap, raíces que son marcadas con diferentes colores y analizadas por el programa.



por la gran cantidad de tiempo requerido, que va desde los 40 minutos hasta cuatro horas por imagen si ésta contiene un alto número de raíces. No obstante, este procesamiento permite generar información muy valiosa, como conocer la dinámica de crecimiento anual, determinar diámetro de raíces, tasas de crecimiento, tasas de mortalidad y generación de nuevas raíces y estado sanitario de las raíces, entre otras.

Se dispone de varios software para el análisis de imágenes, entre de los cuales están WinRhizo (Regent Instruments Inc., Canadá), WinRhizoTRON (Regent Instruments Inc., Canadá), RootSnap (CID Bio-Science Inc., USA) y GiA Roots (Galkovskyi, 2012), siendo este último gratuito. Todos estos programas facilitan el análisis y comprimen la información requerida, pero siguen siendo muy demandantes de tiempo, pues en su mayoría son semiautomáticos, y requieren que las raíces sean marcadas en la imagen (**Foto 7**). Los programas más recientes pueden detectar las raíces automáticamente, disminuyendo el tiempo invertido, pero requieren que la imagen sea de alta resolución (sobre 300 DPI) y con un alto contraste entre el suelo y la raíz, que se hace difícil, considerando que generalmente ambos suelen tener color pardo.



► **Foto 6.** Instalación de tubo de acrílico en ángulo de 45°, para la observación de raíces por medio de un escáner en vides de mesa.

► **Foto 5.** Minirizotrófon de tubo de acrílico instalado en una maceta donde se inserta el escáner de raíces circular para la adquisición de la imagen de raíces de portainjertos de cerezos.

## Plataforma de estudio de raíces ◀

Utilizando esta técnica, en el CEAF se estableció una plataforma para caracterizar la respuesta de las raíces de distintos portainjertos de cerezo en suelos con propiedades físicas contrastantes. Esta plataforma consiste en macetas de 280 L, llenas con suelo de diferentes texturas, asociadas a distinto nivel de aireación (**Foto 8**). En las macetas se instaló minirizotrones, sensores de contenido de agua, temperatura y oxígeno. El minirizotróon es un tubo de acrílico transparente en el cual se inserta un escáner circular (CI-690, Cid-Bioscience) que toma una fotografía en 360° de las raíces que crecen alrededor del tubo. Como las plantas están confinadas en una maceta, la observación de las raíces alrededor del tubo es bastante representativa.

Esta metodología ha permitido cuantificar y describir el ciclo anual del crecimiento de las raíces de diferentes portainjertos de cerezo establecidos en suelos con contenidos de aire variables. Los portainjertos estudiados son los de uso generalizado en cerezos, tales como Colt, Gisela 6, MaxMa 14, MaxMa 60, Cab 6P y Mazzard F-12. Estos portainjertos se encuentran creciendo en suelos con diferentes contenidos de aire: 20%, 15% y 10% aproximadamente, teniendo el último de ellos un contenido de oxígeno limitante con promedios de 5% de oxígeno, concentración considerada crítica y que conduce a estrés por hipoxia en la mayoría de las especies cultivadas.

Del análisis de las imágenes se observó un alto porcentaje de muerte de raicillas nuevas bajo condiciones de hipoxia. También que la velocidad de regeneración de nuevas raíces bajo este estrés es una característica que diferencia un portainjerto menos susceptible de otro susceptible a la falta de oxígeno en el suelo. Además,

se ha observado el desarrollo de lenticelas en raíces de portainjertos Colt y MaxMa 60, lo cual estaría relacionado con una respuesta a la condición de hipoxia, hipótesis que se está corroborando con ensayos específicos (**Foto 9**).

La distribución de raíces de los diferentes portainjertos de cerezo, fue otro parámetro importante obtenido con los minirizotrones. Por ejemplo, el portainjerto Mazzard F-12, presentó mayor proporción de raíces en la superficie que en profundidad, mientras que el portainjerto MaxMa 14 desarrolló más raíces en profundidad (**Fotos 10 y 11**). Esta respuesta podría estar relacionada con la estrategia de evitación del portainjerto Mazzard F-12 a la falta de oxígeno, que consiste en concentrar las raíces en superficie. Si bien el perfil de suelo está cercano a saturación, en los primeros centímetros siempre se registra una mayor concentración de oxígeno por el contacto natural de los poros con el aire atmosférico.

## Comentarios finales ◀

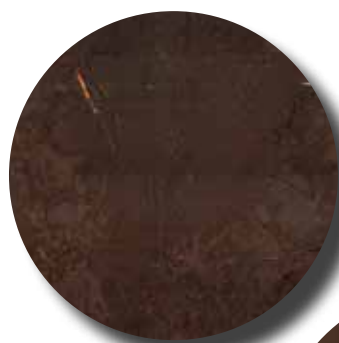
- El estudio de raíces en campo es complejo, resultando a veces un tanto impreciso y de una relativa baja replicabilidad. Sin embargo, todos los esfuerzos orientados a generar información de los sistemas radicales constituyen avances significativos con repercusiones importantes en la descripción y posterior selección de variedades tolerantes a condiciones de estrés biótico y abiótico.
- La aplicación de nuevas técnicas y el equipamiento óptico e informático facilita el estudio de los sistemas radicales con métodos no destructivos describiendo, por medio de una serie de parámetros, el crecimiento de raíces en sustratos de distintas propiedades físico-hídricas.

► **Foto 8 (a y b).** Plataforma para el estudio de raíces de portainjertos de cerezos en macetas.





► **Foto 9.** Fotografía de raíces de portainjerto Colt en suelo limoso con deficiencias de oxígeno, con presencia de lenticelas hipertrofiadas.



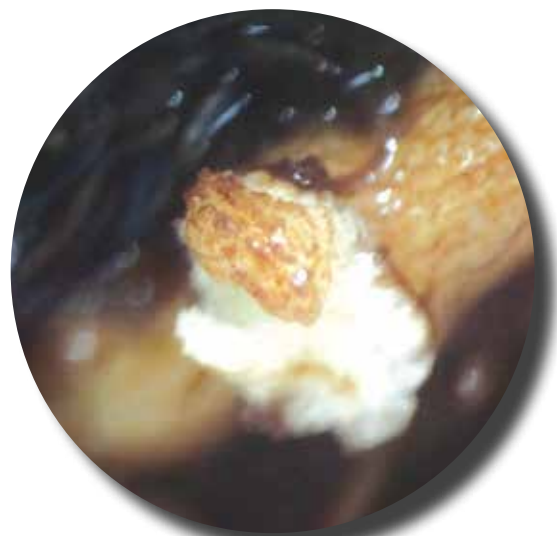
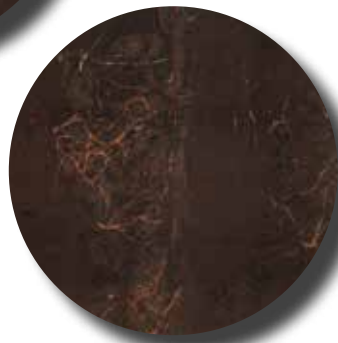
► **Foto 10 (a).** Raíces superficiales del portainjerto Mazzard F-12, con mayor área de raíces en primeros 20 cm. (b) Fotografía en profundidad (en los siguientes 20 cm) del mismo portainjerto, revelando una escasa presencia de raíces.

Foto 10 (b) ◀



► **Foto 11.** Raíces del portainjerto MaxMa 14 que profundizan en el perfil de suelo, con área de raíces tanto en los primeros 20 cm (a) como en profundidad (b).

Foto 11 (b) ◀



► **Foto 12.** Acercamiento a una lenticela hipertrofiada en raíces sumergidas de Colt en ensayo de hidroponía.

- La combinación de distintos enfoques con las metodologías actuales, permitirá aminorar el error en terreno, diseñando con éxito nuevas estrategias de riego y manejo de la fertilidad, adaptada a variedades y portainjertos seleccionados específicamente para una condición de suelo restrictiva.

## Lenticelas ◀

La “lenticelas” son células que se disponen relativamente libres, suberizadas o no suberizadas, en la peridermis. Tienen forma de lentes macroscópicos, y se pueden encontrar en la superficie de raíces, tallos y algunas frutas como manzanas, peras, paltas y mangos.

Mientras que las lenticelas hipertrofiadas en raíces, como se observa en la **Foto 12**, se forman cuando el órgano se encuentra en condiciones de estrés, en este caso de inundación. Aún no está claro que su aparición se relacione con tolerancia a hipoxia, pero en general se desarrolla como vía de escape de gases perjudiciales como el etileno, acetileno, y/o para mejorar el transporte de agua en condiciones de inundación.

## Bibliografía

- Galkovskyi, T.; Mileyko, Y.; Bucksch, A.; Moore, B.; Symonova, O.; Price, C.A.; Topp, C.N.; Iyer-Pascuzzi, A.S.; Zurek, P.R.; Fang, S.; Harer, J.; Benfey, P.N. and Weitz, J.S. 2012. GiA Roots: software for the high-throughput analysis of plant root system architecture. BMC Plant Biology, 12:116.
- Sellés, G.; Ferreyra, R.; Pinto, M. y Ruiz, R. 2012. Portainjertos en uva de mesa: Experiencia en el Valle de Aconcagua. Boletín INIA N° 251, 101 p.