

S È R I E D I V U L G A C I Ó T È C N I C A

Histología y Citología de Cítricos

Francisco R. Tadeo

José Luis Moya

Domingo J. Iglesias

Manuel Talón

Eduardo Primo-Millo

Histología y Citología de Cítricos

Francisco R. Tadeo
José Luis Moya
Domingo J. Iglesias
Manuel Talón
Eduardo Primo-Millo

S È R I E D I V U L G A C I Ó T È C N I C A

Histología y Citología de Cítricos

Francisco R. Tadeo

José Luis Moya

Domingo J. Iglesias

Manuel Talón

Eduardo Primo-Millo

Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias

Edita: GENERALITAT VALENCIANA
Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación

Fotomecánica,
Diseño e Impresión: Textos i Imatges, S.A.
Tel.: 96 313 40 95 Valencia

I.S.B.N.: 84-482-3436-7
Depósito Legal: V-1054-2003

Histología y Citología de Cítricos

ÍNDICE

9	PRÓLOGO
11	PREFACIO
13	1. LA CÉLULA Y SUS COMPONENTES
13	1.1. PARED CELULAR
15	1.2. LAS MEMBRANAS CELULARES: EL PLASMALEMA, EL TONOPLASTO Y EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO
17	1.3. EL CITOPLASMA Y LA VACUOLA
18	1.4. EL NÚCLEO
20	1.5. LAS MITOCONDRIAS Y LOS PLASTOS
20	1.5.1. LAS MITOCONDRIAS
21	1.5.2. LOS PLASTOS
22	1.6. EL COMPLEJO DE GOLGI
23	1.7. LOS MICROCUERPO O CITOSOMAS: LOS LISOSOMAS Y LOS GLIOXISOMAS
25	2. LOS TEJIDOS
25	2.1. TEJIDOS MERISTEMÁTICOS
27	2.2. EL PARÉNQUIMA
29	2.3. LOS TEJIDOS MECÁNICOS O DE SOSTÉN
29	2.4. LOS TEJIDOS PROTECTORES O AISLANTES
32	2.5. LOS TEJIDOS CONDUCTORES O VASCULARES
33	2.6. LOS TEJIDOS SECRETORES
35	3. LA RAÍZ
35	3.1. GERMINACIÓN DE LA SEMILLA
36	3.2. CRECIMIENTO DE LA RAÍZ
38	3.3. ONTOGENIA DE LA RAÍZ
38	3.4. ESTRUCTURA PRIMARIA DE LA RAÍZ
42	3.5. CRECIMIENTO SECUNDARIO DE LA RAÍZ
44	3.6. FORMACIÓN DE RAÍCES SECUNDARIAS O LATERALES

47	4. EL TALLO Y LA HOJA
47	4.1. EL TALLO
52	4.2. LA HOJA
52	4.2.1. ESTRUCTURA DEL LIMBO FOLIAR
54	4.2.2. ESTRUCTURA DEL PECIOLO
55	4.2.3. CAMBIOS ANATÓMICOS RELACIONADOS CON LA ABCISIÓN
56	4.2.4. CAMBIOS ANATÓMICOS INDUCIDOS POR DIFERENTES CONDICIONES DE ESTRÉS
61	5. LA FLOR Y EL FRUTO
61	5.1. MORFOLOGÍA DE LA FLOR
62	5.2. VASCULARIZACIÓN DE LA FLOR
63	5.3. MORFOLOGÍA DEL FRUTO
64	5.4. LA FLORACIÓN
66	5.5. LA FRUCTIFICACIÓN
68	5.6. ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS
68	5.6.1. EL PEDÚNCULO
70	5.6.2. EL ESTIGMA Y EL ESTILO
76	5.6.3. LOS ESTAMBRES
77	5.6.4. EL OVARIO Y EL FRUTO
83	5.6.4.1. DESORDENES FISIOLÓGICOS PRE-COSECHA
83	5.6.4.1.1. EL PICADO DE LA CORTEZA
85	5.6.4.1.2. EL COLAPSO DE LA CORTEZA
85	5.6.5. EL ÓVULO Y LA SEMILLA
91	BIBLIOGRAFÍA
95	INDICE ANALÍTICO

PRÓLOGO

Cuando ve la luz una obra bien hecha, que contribuye al conocimiento científico y mejora lo hasta entonces realizado, se percibe su trascendencia. Cuando, además, posee el atractivo de que con ella se ayuda a mejorar la práctica cotidiana, se tiene la certeza de ello.

No se entiende, en el siglo XXI, una agricultura basada exclusivamente en el empirismo y la experiencia, por muy amplia que ésta sea. Hace falta algo más. En efecto, el cultivo de las especies frutales debe estar basado en la exaltación de sus caracteres genéticos y en el conocimiento de la influencia que el medio ejerce sobre su desarrollo. A ello se unen los factores endógenos responsables de sus mecanismos de vida. Los dos primeros, carga genética y medio, no son modificables en términos agronómicos; los procesos fisiológicos, sin embargo, sí lo son. Pero para ello se precisa de su entendimiento, y podrán ser utilizados en agricultura tanto mejor cuanto más profundamente sean conocidos. A esta utilización práctica y racional del conocimiento la denominamos cultivo y a las técnicas que de ella emanan, prácticas de cultivo. Estas constituyen el método para orientar al árbol en la dirección deseada, esto es, hacia la obtención de cosechas elevadas de frutos de gran calidad. Naturalmente, la citricultura no es una excepción al respecto.

El primer paso para el avance en esta parcela del saber es conocer cómo son las plantas, sus órganos y sus tejidos. Sólo en la medida en que accedamos a su conocimiento entenderemos su funcionamiento. Y ello es lo que consigue el estudio que se presenta. Escrito con lenguaje científicamente depurado, preciso y con rigor, recorre todos los órganos de una planta cítrica explicando cómo están organizados y cómo son sus tejidos. El apoyo gráfico, con fotografías de gran calidad, permite al lector seguir el texto con facilidad y ahondar en el conocimiento básico de estas especies. Desvela lo misterioso, por oculto, de los cítricos hasta implicar al lector en una lectura inevitable.

El libro está avalado por sus autores, científicos de gran prestigio en citricultura, con muchos años de dedicación y con una labor reconocida en todo el mundo. Ello hace grande a este libro, en el que muchos encontrarán una razón para el estudio y otras explicaciones hasta entonces no entendidas, y todos el placer de leer ciencia en estado puro, esto es, cómo es un cítrico "por dentro" y cómo está "organizado".

La obra se convierte en imprescindible por su calidad y por la carencia de este tipo de estudios, no abordados desde los años 60. Desde entonces, el avance en las técnicas de microscopía óptica y electrónica hacía todavía más necesario el estudio que aquí se presenta. Estudiantes, profesionales y, en general, los estudiosos de la citricultura, encontrarán en él un texto formativo de gran valor científico.

Manuel Agustí Fonfría

PREFACIO

El cultivo de los cítricos es una tradición muy arraigada en toda la cuenca mediterránea. Esta práctica supone una fuente apreciable de riqueza para los habitantes de las comarcas o regiones que la explotan comercialmente.

El estudio de los cítricos en España comenzó a principios del siglo pasado en torno a la Granja Agrícola de Burjassot, concretamente en la Estación Naranjera de Levante, una institución pionera constituida en el año 1931 y dedicada íntegramente a tal fin. Con posterioridad, a mitad de los años 70, el personal de la Estación se trasladó a otras instalaciones más modernas y espaciosas, localizadas en Montcada, que hoy conocemos como Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). En este Instituto se continúa profundizando hoy día en el conocimiento y en la mejora del cultivo de los cítricos.

Los trabajos de histología y citología interesaron al Dr. Eduardo Primo Milló desde su inicio en el mundo de la investigación agraria. Suya fue la idea de, con el paso del tiempo, recopilar las aportaciones que su equipo venía realizando en este campo. Una antigua iniciativa que hoy se materializa en esta "Histología y Citología de Cítricos". Este texto comienza con la descripción tanto de las estructuras y de los sistemas membranosos que pueden contener las células como de los diferentes tejidos que componen un cítrico. A continuación se aborda la germinación de la semilla, un complejo proceso de degradación y movilización de reservas nutritivas que permitirán el crecimiento de estructuras vegetativas vitales para la planta: el tallo y la raíz. El estudio de la porción enterrada de la planta, la raíz, comienza con su ontogenia y su estructura primaria y prosigue incidiendo sobre su crecimiento secundario y su ramificación, así como sobre el papel que algunas fitohormonas pueden tener en estos procesos. La descripción del tallo, en particular de su sistema vascular, y de la hoja, se aborda haciendo hincapié en los cambios que experimenta la anatomía foliar en condiciones medioambientales que inducen estrés en los cítricos, como por ejemplo la salinidad. Para finalizar se describe la morfología y la anatomía de las estructuras reproductivas de los cítricos repasando los cambios anatómicos y ultraestructurales que se producen en las distintas partes de la flor y en el fruto durante los procesos de floración y de fructificación. La mayoría de las descripciones anatómicas, histológicas y ultraestructurales que aparecen en este texto están ilustradas con imágenes obtenidas en la investigación realizada en el Laboratorio de Fisiología Vegetal del Departamento de Citricultura y Otros Frutales del IVIA.

Este libro no solamente nació como un reto personal de los autores, sino para intentar cubrir un hueco en la literatura de cítricos relacionada con la Biología Celular. Esperemos que su lectura cautive a nuevos entusiastas del estudio de los cítricos y que sirva de apoyo o quizá de guía a otros en sus tareas docentes, investigadoras o agrícolas.

Quisiera agradecer al Dr. Manuel Agustí Fonfría sus comentarios y precisiones sobre el contenido del libro, así como sus facilidades a la hora de proporcionarnos material gráfico para la construcción de este texto.

Por último, quiero destacar que algunas de las fotografías que aquí aparecen, en las que se muestran detalles de la morfología del tallo, de la flor y del fruto, fueron realizadas por Eduardo Alonso Cabo, compañero del IVIA muy apreciado y querido al que añoramos.

Francisco R. Tadeo

1. LA CELULA Y SUS COMPONENTES

Todos los organismos vegetales, incluidos los cítricos, están formados por células, que a su vez se dividen en compartimentos individuales por medio de membranas semipermeables. En las células que forman los diferentes tejidos de los cítricos podemos encontrar los siguientes orgánulos y componentes: pared celular, sistemas membranosos (membrana plasmática o plasmalema, tonoplasto, retículo endoplásmico), ribosomas, vacuola, núcleo, mitocondrias, plastos, áreas de Golgi y microcuerpos (Fig.1.1).

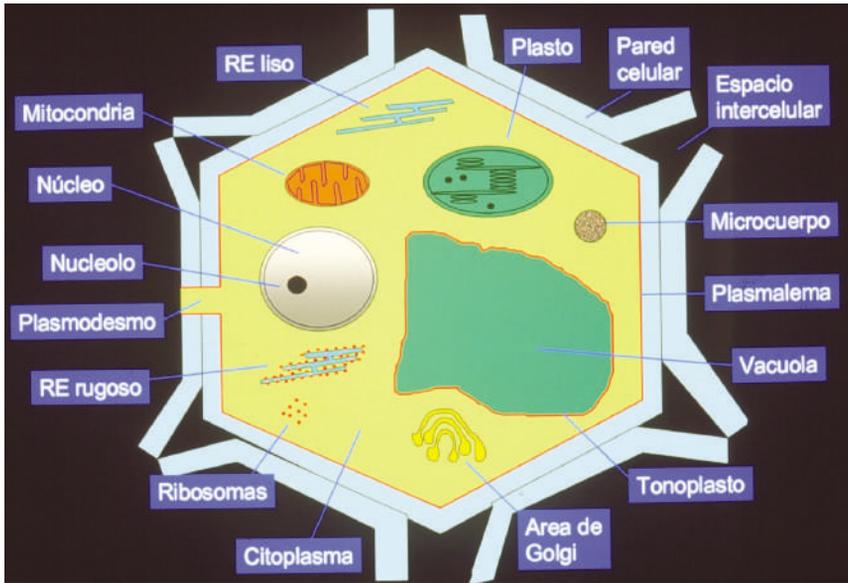


Figura 1.1. Componentes de una célula típica de cítricos.
RE = Retículo endoplásmico.

En una célula, el plasmalema encierra un espacio denominado protoplasto, mientras que se denomina citoplasma o citosol al espacio celular que se encuentra por fuera de las membranas de los orgánulos. Dado que el plasmalema de una célula se comunica con el de otra célula vecina a través de unos canales denominados plasmodesmos, los protoplastos así unidos de una planta conforman un espacio continuo que se denomina simplasto. Al espacio de la planta excluido por el plasmalema, es decir, a las paredes celulares y a los espacios intercelulares, se le denomina apoplasto.

1.1 LA PARED CELULAR.

Las células de todos los tejidos de los cítricos presentan por la parte externa del plasmalema una pared celular gruesa y relativamente rígida que permite el transporte pasivo de sustancias (Fig. 1.2A). Los constituyentes químicos que forman la pared se sintetizan en el citoplasma y son secretados después al exterior para entrar a formar parte de la pared celular. Por tanto, la pared es un

producto y no un componente del citoplasma de la célula. La pared es indispensable para la célula ya que, si no existiera, la incorporación de agua por vía osmótica produciría un hinchamiento de la célula que culminaría en su explosión. No obstante, la pared es relativamente elástica y permite, dentro de ciertos límites, cambios reversibles en el volumen celular.

La pared celular está compuesta fundamentalmente por carbohidratos (90% en peso seco) y por proteínas (10% en peso seco). La pared, dada su composición, puede incorporar y retener agua y, por tanto, sus componentes se encuentran hidratados. Entre los carbohidratos encontramos pectinas, celulosa y hemicelulosa. Las proteínas son glicoproteínas (cadenas polipeptídicas unidas a carbohidratos) especialmente ricas en el aminoácido hidroxiprolina.

En la pared de una célula madura pueden distinguirse varias capas, que de fuera hacia dentro de la célula son: la lámina media, la pared primaria y la pared secundaria (Fig. 1.2B). La lámina media está compartida por las células en sus puntos de contacto y está compuesta por pectinas. La pared primaria, situada inmediatamente por debajo de la lámina media, está compuesta por microfibrillas de celulosa, hemicelulosa y proteínas. La pared secundaria se deposita a continuación de la primaria únicamente en algunos tipos celulares. En general, es mucho más gruesa que la pared primaria y está compuesta por celulosa y otras sustancias como lignina (en los vasos del xilema), cutina (en la cara externa de la epidermis) o suberina (en la hipodermis, la endodermis y el súber). La pared secundaria comprende, de fuera hacia dentro, tres capas denominadas S₁, S₂ y S₃. En cada una de ellas las microfibrillas de celulosa se disponen en una orientación diferente a la de la capa anterior.

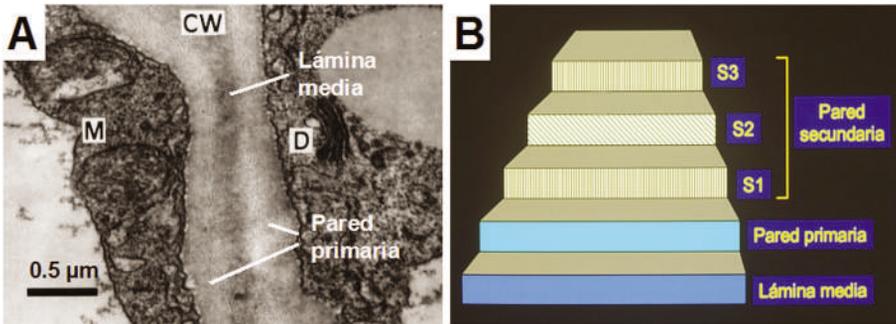


Figura 1.2. Estructura de la pared celular. A: Microfotografía al microscopio electrónico de transmisión de la pared primaria y la lámina media de dos células del córtex del estilo de una flor de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* [L.] Osb.). Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo. CW = pared celular; M = mitocondria; D = dictiosoma. B: Esquema de la estructura de la pared celular.

Los plasmodesmos son canales que se forman en la pared y que ponen en comunicación las células contiguas (Fig. 1.3). Estos canales son muy comunes entre células jóvenes y en algunos casos pueden persistir durante toda la vida celular. A su través se establece la libre circulación de líquidos, solutos y macromoléculas. Asociados a los plasmodesmos suelen encontrarse cisternas de retículo endoplásmico liso o rugoso. En algunas ocasiones pueden establecerse comunicaciones entre plasmodesmos muy próximos formándose plasmodesmos ramificados.

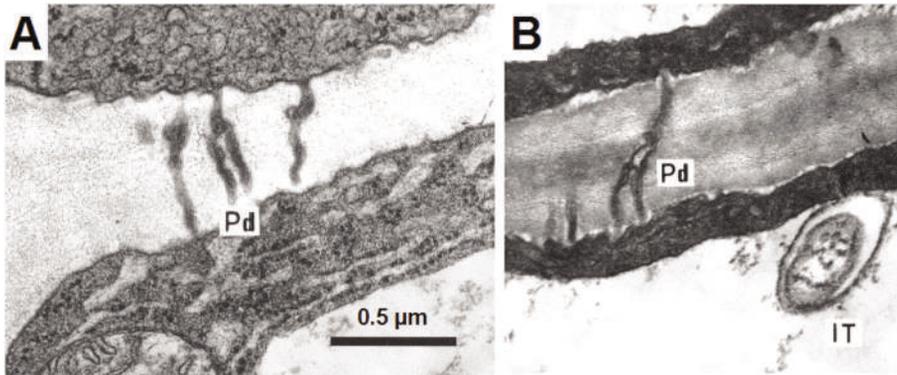


Figura 1.3. Estructura del plasmodesmo. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de plasmodesmos ramificados y no ramificados presentes en paredes de células del córtex de estiletes de flores de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* [L.] Osb.) en los estadios de pre-antesis (A) y antesis (B). Pd = plasmodesmo; IT = invaginación del tonoplasto. Contraste: Acetato de uranio y citrato de plomo.

1.2. LAS MEMBRANAS CELULARES: EL PLASMALEMA, EL TONOPLASTO Y EL RETÍCULO ENDOPLÁSMICO

El plasmalema o membrana plasmática delimita el protoplasto y se sitúa por debajo de la pared celular (Fig. 1.4). Al espacio que queda entre la pared y el plasmalema se le denomina espacio periplásmico. El tonoplasto es la membrana que delimita otro espacio celular denominado vacuola (Figs. 1.4A, C y D). Ambas membranas están formadas por lípidos, proteínas y oligosacáridos. Los lípidos forman una doble capa con los grupos apolares o hidrófobos en el centro y los polares o hidrófilos en el exterior, en contacto con la fase acuosa. Las proteínas son anfipáticas, es decir, tienen una distribución asimétrica de los grupos polares y apolares que hace posible que estén en parte embebidas en la membrana y en parte sobresalgan de ella. Podemos encontrar dos tipos de proteínas en las membranas: las integrales, que atraviesan completa o parcialmente la membrana, y las periféricas, que están unidas a los lípidos de la membrana o a otras proteínas integrales. Los oligosacáridos forman el glicocálix y pueden estar tanto asociados covalentemente a los lípidos como a las proteínas.

Las membranas son semipermeables, es decir, dejan pasar al disolvente pero no al soluto. El disolvente se mueve hacia donde el soluto es más abundante para intentar igualar la concentración. Las membranas dejan pasar a favor de gradiente de concentración moléculas pequeñas polares como el agua, el CO₂, la urea o el glicerol, mientras que son impermeables a las moléculas no polares como el oxígeno, el nitrógeno o el benceno. Sin embargo, las membranas son impermeables a las moléculas polares grandes no cargadas, como los azúcares, y a todas las moléculas cargadas, como los iones. Mediante los denominados sistemas de transporte, éstos dos últimos grupos de moléculas pueden atravesar las membranas. El transporte puede realizarse a favor de gradiente, electroquímico o de concentración, y no se requiere gasto energético. A este tipo de transporte se le denomina pasivo. Este tipo de transporte puede realizarse por difusión simple a través de canales de la membrana o por difusión facilitada a través de proteínas transportadoras. Si el transporte es contra gradiente, éste requiere energía, que se obtiene a través de la degradación del ATP, y se

denomina transporte activo. Este tipo de transporte requiere la participación de proteínas integrales transmembranas como las ATPasas.

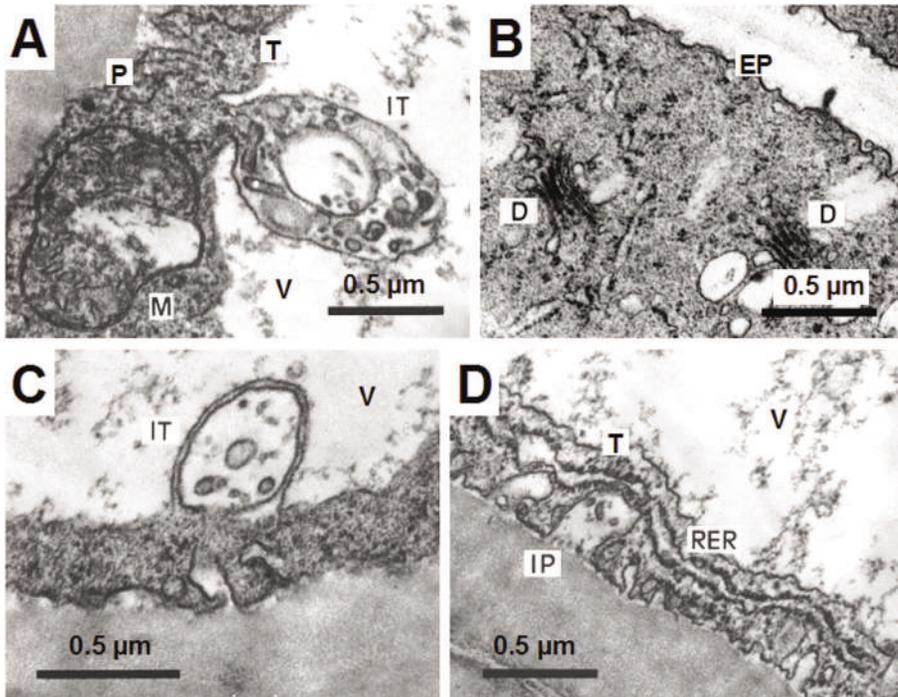


Figura 1.4. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de células del córtex del estilo procedentes de flores de navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). En ellas se observan porciones del plasmalema y del tonoplasto tanto normales como formando invaginaciones. D = dictiosoma; EP = espacio periplásmico IP = invaginación del plasmalema; IT = invaginación del tonoplasto; M = mitocondria; P = plasmalema; RER = retículo endoplásmico rugoso; T = tonoplasto; V = vacuola. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Algunas macromoléculas, como las proteínas o los ácidos nucleicos, pueden entrar en la célula englobadas en una membrana que proviene del plasmalema. A este proceso se le denomina endocitosis. Así mismo, las macromoléculas pueden seguir el camino opuesto y abandonar la célula. A este proceso se le denomina exocitosis. Ambos procesos requieren gasto de energía.

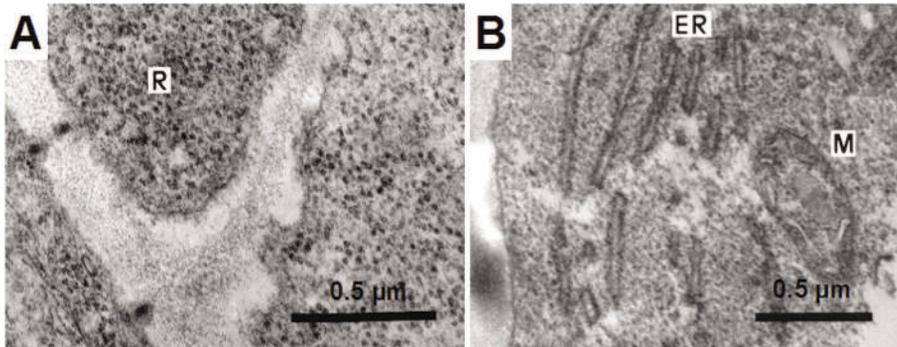


Figura 1.5. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de células del mesocarpo de ovarios procedentes de flores de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). En ellas se observan regiones del citoplasma con grandes acúmulos de ribosomas formando polisomas (A) y secciones de retículo endoplásmico rugoso (B). ER = retículo endoplásmico; M = mitocondria; R = ribosomas. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Además del plasmalema y del tonoplasto existen sistemas internos de membranas distribuidos por el citoplasma, solos o agrupados, que se denominan, globalmente, retículo endoplásmico (RE) (Fig. 1.5B). Estos sistemas membranosos corresponden tridimensionalmente a cisternas, túbulos y vesículas. La presencia o no de ribosomas adheridos a su superficie los diferencia en rugoso y liso. Los ribosomas pueden también encontrarse libres por el citoplasma (Fig. 1.5A). Los ribosomas están formados por dos subunidades, una mayor y otra menor, y realizan la síntesis de proteínas. Para cumplir esta función, los ribosomas se asocian formando polirribosomas o polisomas. Esta asociación ocurre tanto en el citoplasma como en el RE rugoso. En el RE rugoso se almacenan las proteínas sintetizadas por los ribosomas para unirles oligosacáridos. Una vez glicosiladas, las glicoproteínas saldrán del RE incluidas en vesículas hacia diferentes puntos de destino bien en el citoplasma o bien en la pared celular. El RE liso se dispone frecuentemente cerca de la pared celular y participa en la síntesis de fosfolípidos con destino al plasmalema y a otras membranas celulares.

1.3. EL CITOPLASMA Y LA VACUOLA

El citoplasma o citosol es la zona del protoplasma que se encuentra por fuera de las membranas de los orgánulos (Fig. 1.6). Al microscopio electrónico aparece sin estructura, aunque está atravesado por el citoesqueleto. El citoesqueleto está formado por elementos filamentosos y contráctiles, los microtúbulos y los microfilamentos, los cuales confieren a la célula un armazón interno y, por tanto, estabilidad. El citoplasma interviene en el intercambio de sustancias entre los orgánulos celulares y, además, es el medio en el que se producen tanto la degradación de azúcares (la glicólisis), como el ciclo oxidativo de las pentosas fosfato y parte de la biosíntesis de ácidos grasos.

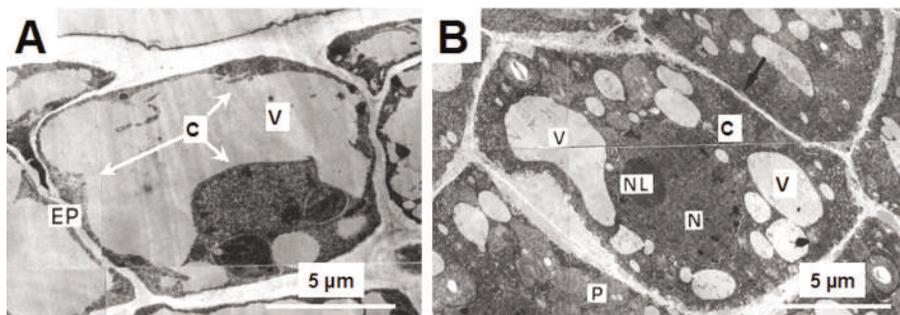


Figura 1.6. Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión de células de la epidermis (A) y del mesocarpo (B) del ovario procedentes de flores de navelate de naranja dulce (*Citrus sinensis* L. Osb.). C = citoplasma; EP = epidermis; N = núcleo; NL = nucleolo; P = plastido; V = vacuola. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Las vacuolas poseen, en general, una apariencia amorfa. El jugo vacuolar, el material que rellena la vacuola, puede ser de naturaleza fibrilar o granular. En las células meristemáticas suele observarse la presencia de pequeñas vacuolas dispersas por el citoplasma (Fig. 1.6B), mientras que las células diferenciadas poseen frecuentemente una gran vacuola central que puede alcanzar hasta el 90% del volumen celular total (Fig. 1.6A). Entre las funciones que desempeñan las vacuolas destacan su participación en el mantenimiento de la turgencia celular, en el almacenamiento de sustancias de reserva o de subproductos del metabolismo celular y en la digestión celular, puesto que contienen enzimas líticas que degradan tanto orgánulos celulares afuncionales como sustancias que penetran en ella englobadas en vesículas derivadas del tonoplasto (Figs. 1.4A y C).

1.4. EL NÚCLEO

El núcleo está considerado como el centro de control de las células. Cada una de las funciones de control está basada en los ácidos nucleicos que contiene, el ADN y el ARN. En general, el tamaño del núcleo guarda relación con el del citoplasma y ésta relación es constante para cada tipo celular. Cuando el núcleo alcanza un determinado tamaño, si no aumenta el del citoplasma, la célula se divide. El tamaño del núcleo también está relacionado con el trabajo que debe realizar la célula y con la cantidad de ADN que contiene. La forma del núcleo no es estática sino que cambia adaptándose a la forma de la célula y a su actividad. Su posición en las células suele ser central.

Los núcleos en las células diferenciadas conservan todo su potencial funcional debido al ADN que contienen. El ADN no es característico de cada tipo celular sino que su cantidad es constante para cada una de las células que constituyen los tejidos de una especie determinada. Es decir, una célula del tallo, de la hoja o de la raíz del patrón citrange Carrizo contendrá la misma cantidad de ADN y los mismos genes. Sin embargo, existe una gran influencia del citoplasma en la función celular.

La célula puede encontrarse en dos estadios claramente diferentes: el de no división o interfase y el de división o mitosis. En la interfase, la célula realiza sus funciones habituales y antes de producirse la mitosis o división celular debe duplicar o replicar el ADN que contiene el núcleo.

A la etapa previa que existe entre la mitosis anterior y la interfase se la denomina G_1 . A continuación viene la etapa S en donde se produce la duplicación del ADN y en la etapa posterior o etapa G_2 se produce la síntesis de ARN para la división celular. Una vez finalizada esta etapa se produce la división del citoplasma y la tabicación celular formándose una nueva pared que separa las dos células hijas con la misma dotación genética diploide (con $2n$ cromosomas) que la célula de la que provienen. Existe otro tipo de división del material genético denominada meiosis. Este tipo de división tiene lugar en los órganos reproductores, tanto masculinos (los estambres de las anteras) como femeninos (los óvulos del ovario). La meiosis convierte células diploides en haploides (con n cromosomas). En estos órganos, una vez reducido el número de cromosomas se producirá una mitosis, dando lugar a los gametos (la célula madre de las microsporas y de las megasporas).

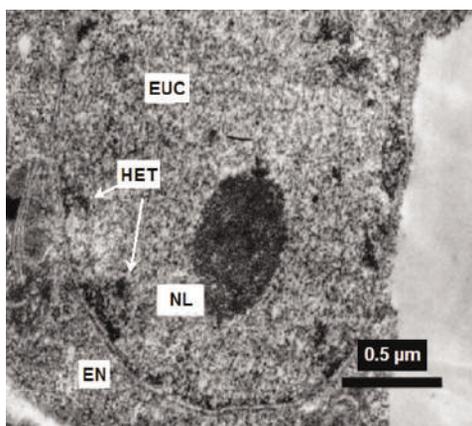


Figura 1.7. Microfotografía, al microscopio electrónico de transmisión, del núcleo de una célula del córtex del estilo de una flor de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). EN = envoltura nuclear; EUC = eucromatina; HET = heterocromatina; NL = nucleolo. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Citológicamente, en el núcleo en interfase pueden distinguirse los siguientes componentes (Fig. 1.7):

La envoltura nuclear. Se trata de una doble membrana, externa e interna, separada por la cisterna perinuclear. La envoltura celular posee características semejantes al RE rugoso en cuanto a composición, estructura y funciones. La membrana externa puede tener ribosomas adheridos y, en algunos tipos celulares, se observa una continuidad entre la envoltura nuclear y el RE rugoso. La membrana interna presenta, en su cara interna, un material fibroso y denso denominado lámina nuclear que separa la cromatina de la envoltura nuclear. La lámina nuclear está compuesta por proteínas que parecen participar como guía en las interacciones de la cromatina con la envoltura nuclear. La envoltura nuclear está perforada por los denominados poros nucleares, muy abundantes en las células inmaduras y en las células muy activas que necesitan un alto grado de transferencias entre el núcleo y el citoplasma.

El nucleoplasma constituye la fase acuosa en la que están embebidas, fundamentalmente, las enzimas relacionadas con el metabolismo de los ácidos nucleicos.

La cromatina de los núcleos en interfase puede encontrarse en dos estados diferentes: laxo (eucromatina) o formando masas densas y homogéneas en donde no puede apreciarse material fibrilar (heterocromatina). La eucromatina corresponde a la cromatina desespiralizada y, por tanto, activa, mientras que la heterocromatina sería la cromatina intensamente espiralizada o condensada y, en principio, inactiva.

El nucleolo es una estructura globular, densa a los electrones, formada mayoritariamente por ARN. En general, solamente se observa uno por núcleo y, en muchos casos, tiene asociada una masa fibrilar densa que contiene exclusivamente ADN y que se denomina heterocromatina asociada al nucleolo. El nucleolo interviene activamente en la síntesis de proteínas. Su presencia y actividad van unidas estrechamente a la necesidad de ribosomas de la célula. Por tanto, es una estructura temporal del núcleo y puede considerarse como la expresión morfológica de la transcripción del ARN ribosómico.

1.5. LAS MITOCONDRIAS Y LOS PLASTOS.

1.5.1. Las mitocondrias

Las mitocondrias presentan, en general, una estructura globular al microscopio electrónico de transmisión (Fig. 1.8), aunque también pueden aparecer como bastones o filamentos al microscopio óptico. Su tamaño y número es muy variable y está relacionado con las necesidades energéticas de la célula. Su distribución celular está también relacionada con los lugares en donde la aplicación de esa fuente de energía es más intensa.

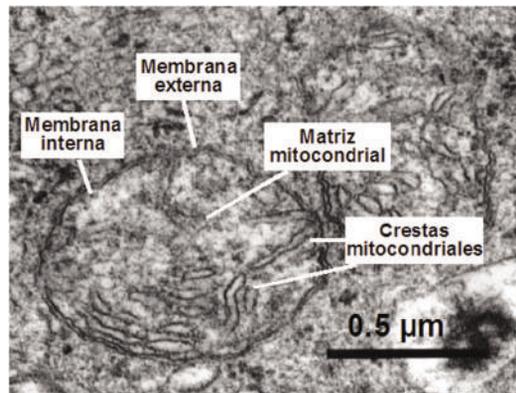


Figura 1.8. Microfotografía al microscopio electrónico de transmisión de mitocondrias localizadas en una célula del córtex del estilo de una flor de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Las mitocondrias poseen una doble membrana, externa e interna. Entre ambas hay un espacio denominado perimitocondrial. La membrana interna presenta invaginaciones hacia el interior que forman unos tabiques denominados crestas mitocondriales. Estas crestas no se prolongan hasta el lado opuesto de la mitocondria por lo que la compartimentalización que introducen en el orgánulo

es de tipo abierto. El número de crestas que contienen las mitocondrias es variable y está relacionado con las necesidades de producción de energía. Las crestas se orientan preferentemente de modo perpendicular al eje longitudinal de la mitocondria. El interior de la mitocondria está constituido por un contenido más o menos fluido denominado matriz mitocondrial. En su interior encontramos ribosomas, aunque en menor número que en el citoplasma, el ADN mitocondrial y, en algunas ocasiones, unos gránulos electrodensos denominados gránulos osmiófilos.

Las mitocondrias contienen las enzimas del ciclo de Krebs o de oxidación de los glúcidos, de la fosforilación oxidativa y los componentes de la cadena de transporte electrónico.

1.5.2. Los plastos

Los plastos se originan a partir de los proplastos y pueden interconvertirse entre sí dando los leucoplastos, los cloroplastos o los cromoplastos (Fig. 1.9). Estos tipos de plastos se diferencian entre sí por los pigmentos que acumulan y por la función que desempeña.

Los leucoplastos no contienen pigmentos y son fotosintéticamente inactivos. Pueden almacenar proteínas, lípidos o almidón. En los tejidos no fotosintéticos de los cítricos predominan los que almacenan almidón, denominados amiloplastos (Fig. 1.9A).

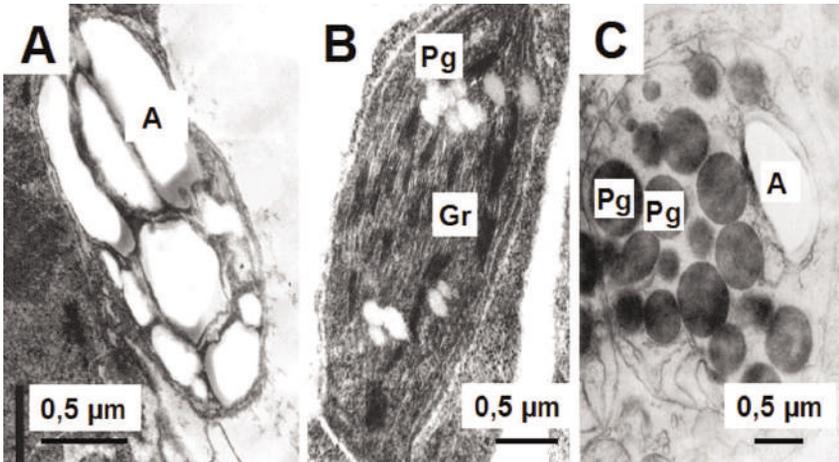


Figura 1.9. Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión de un amiloplasto (A), un cloroplasto (B) y un cromoplasto (C; adaptada de Schneider, 1968) presentes en el exocarpo de ovarios y frutos de naranjo dulce (*Citrus sinensis* L. Osb.). A = almidón; Gr = grana; Pg = plastoglobulos. Contraste: acetato de uranilo y citrato de plomo.

Los cloroplastos son verdes, debido a que el pigmento que predomina en ellos es la clorofila y son fotosintéticamente activos (Fig. 1.9B). Los cloroplastos presentan forma esférica o elipsoidal y tienen una longitud variable. Su número también es muy variable y depende del tejido en que se encuentren. Son muy abundantes en las células del parénquima en empalizada de las hojas, pudiéndose encontrar hasta 40 cloroplastos por célula, y menos abundantes en las capas más

superficiales del ovario en desarrollo. Se localizan en la periferia celular, alrededor de la gran vacuola central. Al microscopio electrónico aparecen delimitados por una doble membrana denominada envoltura del cloroplasto. La doble membrana está separada entre sí por un espacio, el denominado espacio periplástico. En el interior del cloroplasto, llamado estroma, pueden encontrarse ribosomas (similares a los de las mitocondrias), estructuras filamentosas compuestas por ADN, denominadas nucleoides, y pequeñas inclusiones esféricas de naturaleza lipoproteica, los plastoglobulos. Esporádicamente, dentro del estroma pueden encontrarse gránulos de almidón. La estructura que predomina en el interior del cloroplasto corresponde al sistema de dobles membranas denominadas lamelas. Las membranas están separadas entre sí por un espacio de aproximadamente 7 nm denominado espacio interlamelar. Las lamelas se orientan preferentemente en sentido longitudinal y, entre lamelas paralelas, podemos encontrar otras dobles membranas en forma de sáculos denominadas tilacoides. Los tilacoides se superponen unos con otros formando apilamientos denominados grana. Las membranas de los tilacoides son las portadoras del aparato fotoquímico de la fotosíntesis. En ellas se encuentran tanto el conjunto de pigmentos que participan en la absorción de la luz como los sistemas enzimáticos encargados del transporte electrónico y el factor de acoplamiento de la formación de ATP.

Los cromoplastos son de color amarillo-anaranjado debido a que los pigmentos predominantes que contienen son los carotenoides y son fotosintéticamente poco activos o inactivos (Fig. 1.9C). Los cromoplastos derivan de los cloroplastos y se localizan en las capas más externas del fruto de los cítricos, en el flavedo. Se forman durante la maduración del fruto y le confieren su color característico. Los cromoplastos jóvenes se parecen a los cloroplastos y contienen lamelas y algunos grana. Debido a la degradación de clorofila, los cromoplastos van perdiendo paulatinamente los grana y se van formando en su interior cristales globulares de β -caroteno. En el estroma del cromoplasto también pueden encontrarse plastoglobulos y algunos gránulos de almidón.

1.6. EL COMPLEJO DE GOLGI

El complejo de Golgi debe su nombre a su descubridor, el patólogo italiano Camilo Golgi, en el año 1889, y lo describió como un aparato reticular interno. Consta de varias unidades, posiblemente conectadas entre sí y denominadas dictiosomas (Fig. 1.10). Cada dictiosoma es un conjunto de sáculos apilados, separados entre sí alrededor de 20 nm, en cuya periferia se localizan vesículas de tamaño variable. La cara del dictiosoma más cercana al núcleo celular se denomina cara externa o cis, aunque también se la conoce como cara de formación. En su periferia se localizan vesículas que provienen del RE rugoso llamadas vesículas de transición. La cara del dictiosoma más cercana al plasmalema se denomina cara interna o trans, aunque también se la conoce como cara de maduración. Su luz es más amplia que la de la cara cis y de su superficie derivan grandes vesículas denominadas vesículas de condensación. Estas vesículas pueden migrar hacia el plasmalema, vertiendo su contenido en el apoplasto o hacia otras localizaciones, como el lisosoma. Los dictiosomas son muy abundantes en las células secretoras (las células estigmáticas del estigma, las de los canales estilares, las de la superficie del disco floral o las células globosas de las emergencias carpelares) o en las que se está produciendo un rápido engrosamiento de la pared celular (las células del protoxilema). Su localización en estos tipos celulares se sitúa entre el núcleo y la región apical por la que se vierte la secreción. Los dictiosomas participan en la secreción de glicoproteínas.

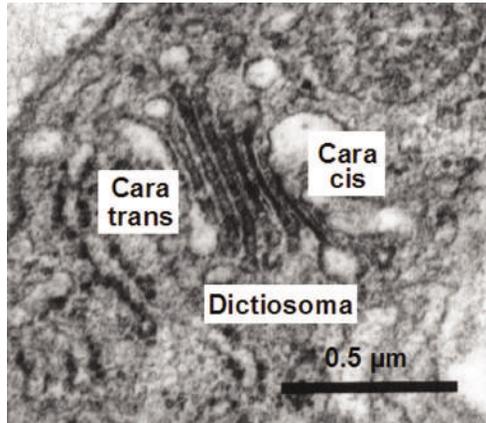


Figura 1.10. Microfotografía, al microscopio electrónico de transmisión, de un área de Golgi localizada en una célula del córtex del estilo de una flor de navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

1.7. LOS MICROCUERPOS O CITOSOMAS: LOS LISOSOMAS Y LOS GLIOXISOMAS

Los microcuerpos o citosomas son orgánulos celulares esféricos, de tamaño variable, y rodeados por una membrana simple. Su interior es denso y granuloso al microscopio electrónico. En función de sus características bioquímicas podemos clasificarlos en lisosomas y glioxisomas (Fig. 1.11).

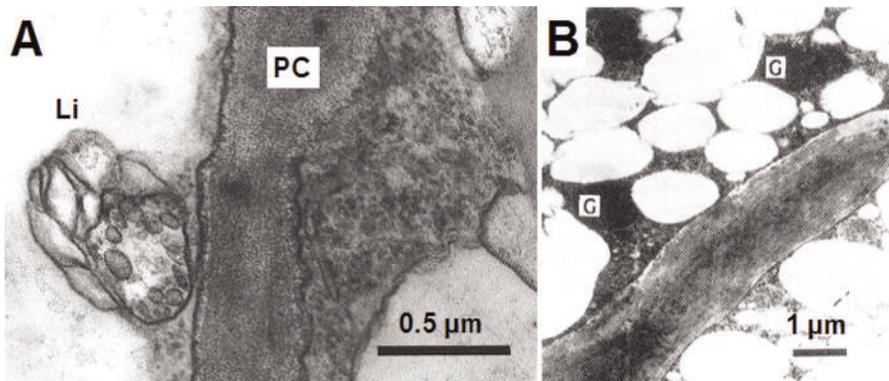


Figura 1.11. Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión. (A) Lisosoma presente en células del mesocarpo de ovarios de navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) con síntomas de degeneración y (B) glioxisomas presentes en el cotiledón de una semilla de limón (*Citrus limon* L. Burm.). G = glioxisoma; Li = lisosoma; PC = pared celular. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Los lisosomas contienen enzimas líticas que se encargan del fraccionamiento o desintegración de macromoléculas celulares (proteínas, polisacáridos y ácidos nucleicos) (Fig. 1.11A). En las célu-

las funcionales intactas, las macromoléculas se incorporan a los lisosomas a través de invaginaciones de la membrana lisosomal. Sin embargo, cuando la célula deja de ser funcional se disuelve la membrana del lisosoma y se liberan sus enzimas al citoplasma produciéndose la autodigestión o autólisis celular. Las vacuolas suelen también incluirse como compartimentos lisosómicos.

Los glioxisomas se encargan, junto con las mitocondrias y el citosol, de la transformación de las grasas de reserva en carbohidratos. Los glioxisomas son especialmente abundantes en los cotiledones de la semilla de los cítricos que contienen abundantes reservas lipídicas (Fig. 1.11B).

2. LOS TEJIDOS

Las células de los cítricos con origen, estructura y, en general, funciones comunes se disponen formando los tejidos y los órganos que componen la planta adulta. Atendiendo a su función, podemos clasificar los tejidos de los cítricos en los siguientes tipos: meristemáticos, parénquimáticos, mecánicos o de sostén, protectores o aislantes, conductores o vasculares y secretores.

2.1. TEJIDOS MERISTEMÁTICOS

Los meristemos pueden considerarse como tejidos embrionarios que persisten en la planta de cítricos durante toda su vida y son responsables del crecimiento de sus órganos (raíz, tallo, hoja, flor, fruto), no solamente en volumen sino también en número. Los tejidos meristemáticos no desaparecen nunca puesto que alguna de sus células hijas no se determina y conserva su primitivo carácter meristemático. A estas células se las denomina células iniciales, mientras que las que se determinan para diferenciarse posteriormente se denominan células derivadas de las iniciales. No obstante, las células diferenciadas pueden, en algunos casos, volver a adquirir capacidad meristemática como ocurre en el cultivo *in vitro* de entrenudos o en la iniciación de raíces laterales a partir de las células del periciclo (ver capítulo 3).

Atendiendo al momento en que comienza su actividad, los meristemos pueden clasificarse en primarios y secundarios.

Los meristemos primarios actúan durante la primera etapa de desarrollo de los órganos de la planta y se asocian con su crecimiento en longitud. Estos meristemos son de dos tipos, apicales e intercalares. Los meristemos apicales se sitúan en los ápices o extremos de los brotes y de las raíces, y se denominan, respectivamente, meristemos caulinares y radicales. La proliferación celular en los meristemos caulinares produce el crecimiento del tallo y de las hojas y, durante la etapa reproductiva, el de los órganos florales. En las axilas de las hojas se localizan también meristemos caulinares. Por su parte, la proliferación de los meristemos radicales permite el crecimiento de la raíz. Los meristemos intercalares se localizan en la base de los entrenudos y, mediante su división activa, producen el crecimiento en elongación de tales entrenudos.

Los meristemos apicales presentan forma más o menos cónica. En el brote vegetativo, sus células iniciales se encuentran en la superficie del extremo apical, mientras que en la raíz están protegidas por otro tejido, la caliptra o cofia. Las células meristemáticas son de pequeño tamaño e isodiamétricas y están densamente empaquetadas. Presentan una alta relación citoplasma/vacuola (siempre mayor que 1) y sus paredes celulares únicamente poseen la lámina media y la pared primaria. El citoplasma contiene abundantes ribosomas libres, mitocondrias y áreas de Golgi y pocas secciones de retículo endoplásmico. Los plastos que contienen no están diferenciados, es decir, son aún proplastos. La tabicación celular o formación de las paredes de las nuevas células que se producen son, tomando como referencia el eje principal del órgano, periclinales (cuando la división se realiza en el plano paralelo a la superficie del órgano), anticlinales (cuando el plano de división es perpendicular) u oblicuas.

En los meristemos caulinares pueden distinguirse dos zonas de células iniciales, la túnica y el corpus (Fig. 2.1A). La túnica es la zona más externa y está formada por entre una y cuatro capas

celulares perpendiculares a la superficie. Sus capas más externas originan la epidermis y las más internas el córtex. El corpus es la masa más interna de células iniciales poligonales y origina el resto de tejidos del tallo. Los meristemas están protegidos del medio externo por primordios foliares y por perfiles o escamas.

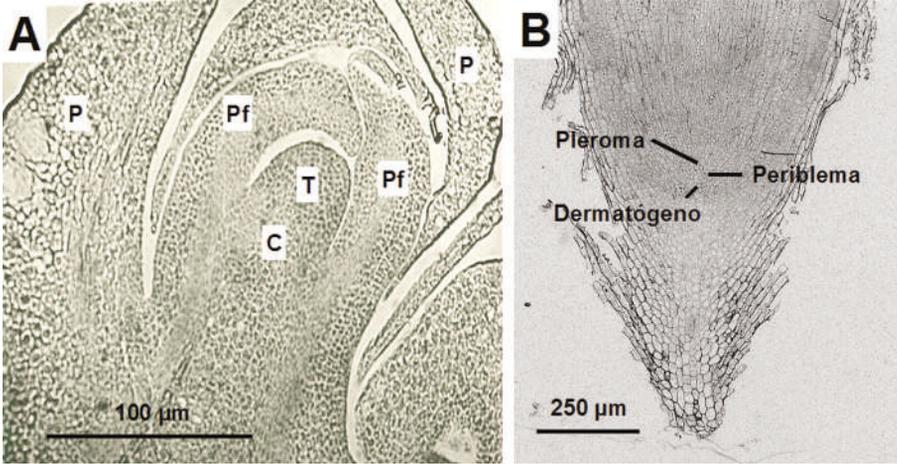


Figura 2.1. Meristemas apicales. Meristemo caulinar (A, microfotografía cedida por el Prof. Manuel Agustí) perteneciente a una planta de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). C = corpus; P = profilo o escama; Pf = primordio foliar; T = túnica. Tinción: Safranina-verde rápido. Meristemo radical (B) perteneciente a una planta de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.). Tinción: Acido periódico-reactivo de Schiff (PAS).

En los meristemas radicales hay tres grupos de células diferentes entre sí denominadas histógenos (Fig. 2.1B). Estos tres histógenos son el dermatogéno, el estrato celular más externo del que deriva la caliptra o cofia y la epidermis, el periblema, situado por debajo del dermatogéno y del que deriva la hipodermis y el córtex, y el pleroma que es el más interno y del que deriva la estela o cilindro central de la raíz.

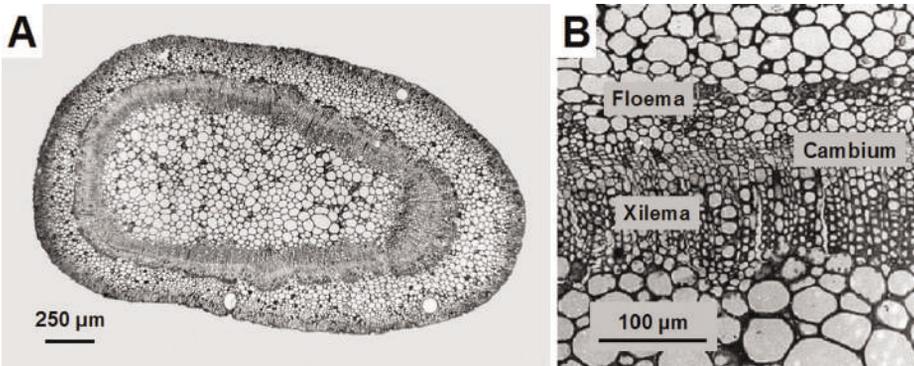


Figura 2.2. Meristemas secundarios. Sección transversal de un tallo de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (A) y un detalle de la zona vascular (B) en donde se observa el cambium vascular, el floema y el xilema. Tinción: Azul de toluidina.

Los meristemos secundarios se localizan en los laterales de las ramas, tallos y raíces y son responsables del crecimiento en espesor de éstos órganos. Entre estos meristemos secundarios se encuentran el cambium vascular, del que deriva el aumento en volumen del sistema conductor, y el cambium suberoso o felógeno que forma la corteza protectora del tronco y de la raíz.

El cambium vascular se origina a partir del procambium. Está constituido por células alargadas y planas de las que derivan por divisiones periclinales el floema secundario, hacia el exterior, y el xilema secundario hacia el interior (Fig. 2.2). El cambium vascular puede presentar dos disposiciones, bien formando un número variable de cordones de células equidistantes entre sí y que en sección transversal aparecen como puntos o un cilindro que en sección transversal aparece como un anillo completo que divide el órgano en dos zonas, exterior e interior al cambium.

El cambium suberoso o felógeno proviene de la dediferenciación de varias capas de células corticales (Fig. 2.3). A partir del felógeno se produce el súber, compuesto por células muertas de paredes suberizadas, y la felodermis, formada por unos pocos estratos de células parenquimáticas.

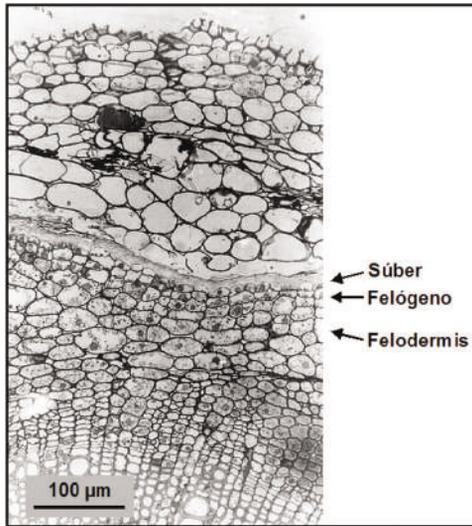


Figura 2.3. Meristemos secundarios. Sección transversal de una raíz vieja de carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) en donde se observa el cambium suberoso o felógeno, el súber y la felodermis. Tinción: Azul de toluidina.

2.2 EL PARÉNQUIMA

El parénquima es un tejido muy poco diferenciado, como de relleno, que ocupa los espacios entre otros tejidos más diferenciados. Sin embargo, constituye la porción más voluminosa de los órganos y en él tienen lugar funciones muy importantes como la fotosíntesis o la elaboración y almacenamiento de sustancias.

Las células parenquimáticas presentan una forma variable, aunque en la mayoría de los casos tienen un aspecto redondeado. Sus paredes constan de lámina media y pared primaria y, en algunos casos, también presentan una pared secundaria poco desarrollada. En el parénquima de reser-

va las paredes son gruesas mientras que en el parénquima del xilema secundario las paredes pueden presentar deposiciones de lignina. El empaquetamiento de sus células es variable y presentan espacios intercelulares más o menos voluminosos. Es muy característica en sus células la presencia de una gran vacuola central. Dado que se trata de células poco diferenciadas, conservan su capacidad para dividirse, incluso cuando son maduras, como respuesta, por ejemplo, a la producción de heridas o a la aplicación de sustancias reguladoras del crecimiento.

En los cítricos encontramos dos tipos de parénquima, el asimilador o clorofílico y el de reserva.

El parénquima asimilador o clorofílico (Fig. 2.4A) se encuentra principalmente en la hoja, aunque también existe en el tallo y en el ovario, pero mucho menos desarrollado. Realiza la fijación del carbono atmosférico mediante la fotosíntesis y, por esa razón, se localiza bajo la epidermis, donde puede penetrar bien la luz. Sus células contienen abundantes cloroplastos que pueden contener almidón o no. En la hoja, adquiere dos formas: en empalizada y lagunar. El parénquima en empalizada está formado por células prismáticas, alargadas y densamente empaquetadas, mientras que el lagunar está formado por células redondeadas, con amplios espacios intercelulares y grandes cámaras de origen esquizógeno (formadas por separación de las paredes de las células) o lisígeno (formadas por degradación de las células).

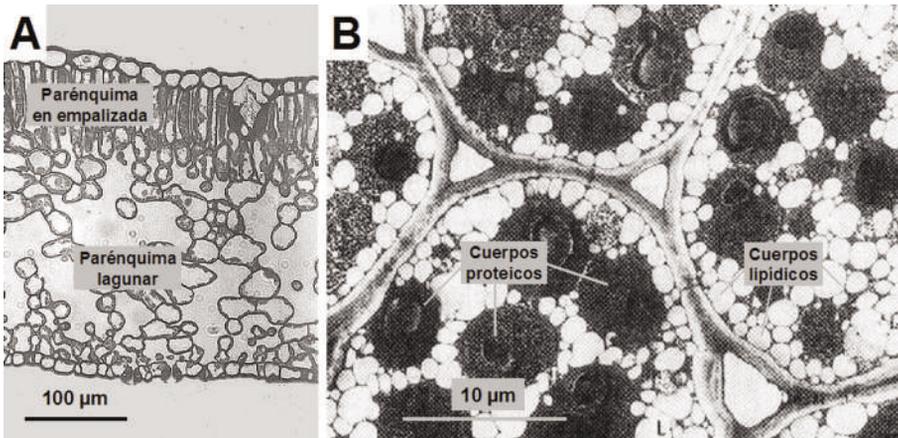


Figura 2.4. Tejidos parenquimáticos. (A) Sección transversal de una hoja madura de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) en donde se observan las dos formas que adquiere el parénquima asimilador: en empalizada y lagunar. Tinción: Azul de toluidina. (B) Microfotografía, al microscopio electrónico de transmisión, de un cotiledón quiescente de limón (*Citrus limón* L. Burm.) en donde se observan los depósitos de proteínas (cuerpos proteicos) y de lípidos (cuerpos lipídicos). Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

El parénquima de reserva se localiza fundamentalmente en los cotiledones de la semilla (Fig. 2.4B) y en la médula del tallo y de la raíz. Sus células presentan paredes finas, un pequeño núcleo periférico y una gran vacuola que acumula materiales de reserva en forma sólida o solubilizada. Pueden almacenar carbohidratos en forma de almidón, así como proteínas y lípidos.

2.3 LOS TEJIDOS MECÁNICOS O DE SOSTÉN

Los órganos jóvenes mantienen su forma gracias a la turgencia de sus células, pero, a medida que crecen en grosor y envejecen, algunas de sus células endurecen su pared y adquieren una gran resistencia mecánica. Los cítricos únicamente presentan un tejido con estas características, el esclerénquima (Fig. 2.5). Sus células, además de la pared primaria formada por celulosa, desarrollan una pared secundaria muy engrosada y endurecida por deposición de lignina. El esclerénquima presenta dos tipos celulares, las esclereidas y las fibras. Las esclereidas derivan de células parenquimáticas del córtex y de la médula que depositan abundante lignina en su pared secundaria quedando solamente una pequeña luz celular. Las fibras poseen una morfología fusiforme y se encuentran en el floema secundario formando anillos o placas.

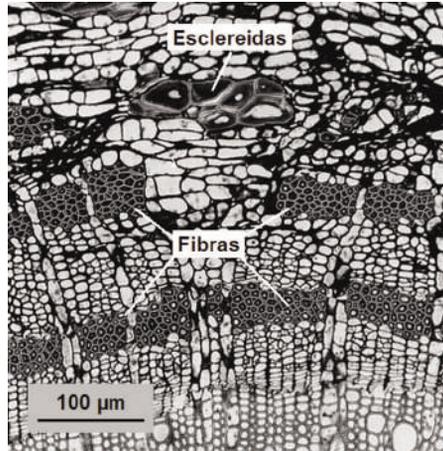


Figura 2.5. Tejidos mecánicos o de sostén. Sección transversal del pedúnculo de un fruto maduro del híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.) en donde se observan las esclereidas y las fibras. Tinción: Azul de toluidina.

2.4 LOS TEJIDOS PROTECTORES O AISLANTES

El primer tejido protector o aislante que recubre la planta de cítricos y forma una barrera con el medio externo es la epidermis. En la raíz, existe otro tejido protector situado bajo la epidermis, la hipodermis, mientras que la estela o cilindro central, también de la raíz, está protegida por la endodermis. El incremento en grosor del tallo y de la raíz por crecimiento secundario, producido a partir del felógeno, conduce a la separación del córtex (ver Figura 2.3), formándose un tejido protector secundario denominado peridermis, que comprende varias capas de súber, una de felógeno y varias de felodermis.

La epidermis es la capa celular más externa en las hojas, los verticilos florales, los cotiledones, los frutos, las semillas, los tallos y las raíces y no está diferenciada en los meristemos apicales. Al tratarse de la capa más externa y, por tanto, en contacto con el medio ambiente, su misión está relacionada con los intercambios entre éste y el interior de los diferentes órganos.

Sus principales funciones son: a) la defensa del órgano frente a los agentes externos, tanto físicos (sol, radiaciones, calor, etc.) como biológicos (depredadores y microorganismos); b) la regulación de la transpiración y del intercambio de gases a través de unas estructuras especiales denominadas estomas; c) la acumulación de sustancias que van a secretarse al exterior, y d) la absorción por la raíz de agua y sales del suelo.

La epidermis, en todos los órganos de cítricos, consiste en una sola capa de células íntimamente unidas entre sí, de naturaleza parenquimática y que presenta una gran variedad de formas y tamaños (Fig. 2.6A). Su pared primaria posee un espesor variable, aunque, en general, es fina. La relación citoplasma/vacuola suele ser baja (siempre menor que 1) y su citoplasma contiene mitocondrias, retículo endoplásmico, áreas de Golgi y amiloplastos. Las paredes tangenciales y radiales internas presentan plasmodermos y las tangenciales externas tienen engrosamientos por fuera de la pared primaria, en la lámina media, de naturaleza pectínica. Por fuera de la pared tangencial externa y en contacto con el medio externo está la cutícula. La formación de la cutícula tiene lugar durante los estadios tempranos del desarrollo del órgano. Esta capa es de grosor variable y contiene, fundamentalmente, cutina y ceras. La cutina está formada por ácidos grasos insaturados que se sintetizan en la célula epidérmica y son luego secretados a la pared. Las ceras se depositan en la superficie de la cutícula y pueden tener forma de placas, bastoncillos o gránulos (Fig. 2.6B). Se denominan ceras epicuticulares.

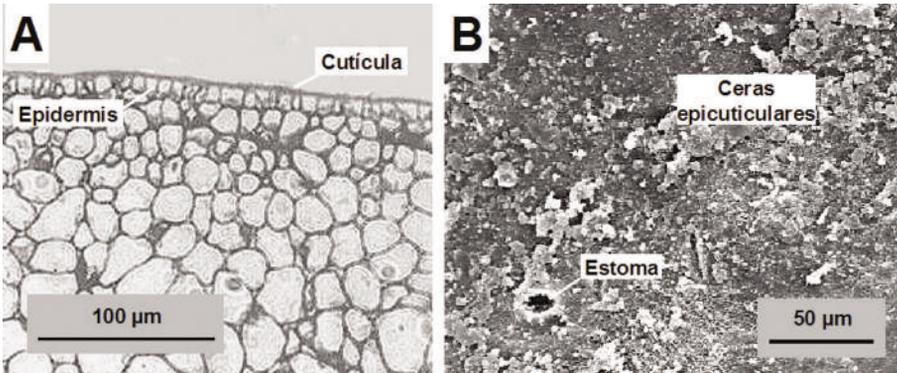


Figura 2.6. Tejidos protectores o aislantes de los cítricos. (A) Sección transversal de un fruto maduro del híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.) en donde se observan la epidermis y la cutícula. Tinción: Azul de toluidina. (B) Microfotografía, al microscopio electrónico de barrido, de la porción externa de un fruto maduro de Fortune en donde se observan los depósitos de ceras epicuticulares.

La epidermis no es completamente impermeable y deja salir agua con algunos solutos, fenómeno que se conoce como transpiración cuticular. Además, dispersos por la epidermis encontramos los estomas, que comunican las zonas profundas del tallo, las hojas o el fruto con el ambiente (Fig. 2.7). En las hojas se localizan exclusivamente en la superficie abaxial o envés. Vistos de frente, los estomas están formados por dos células estomáticas, con forma arriñonada, que se disponen simétricamente y se acoplan de modo que dejan entre ambas una abertura u ostiolo. Las células estomáticas poseen paredes tangenciales muy gruesas en comparación con las radiales, un gran núcleo y abundantes mitocondrias, dictiosomas, retículo endoplásmi-

co, vacuolas y plastos. Los plastos contienen abundantes gránulos de almidón que se disuelven y se regeneran causando variaciones en la presión osmótica. Estos cambios regulan la apertura y cierre del estoma por aumento y descenso de la turgencia celular. Al lado de éstas células se encuentran las células anexas, que son también modificaciones de las células epidérmicas. En el interior del estoma se forma una cavidad de origen lisígeno denominada cámara subestomática. Esta cavidad tiene una extensión variable y está comunicada con toda la red de espacios intercelulares del órgano.

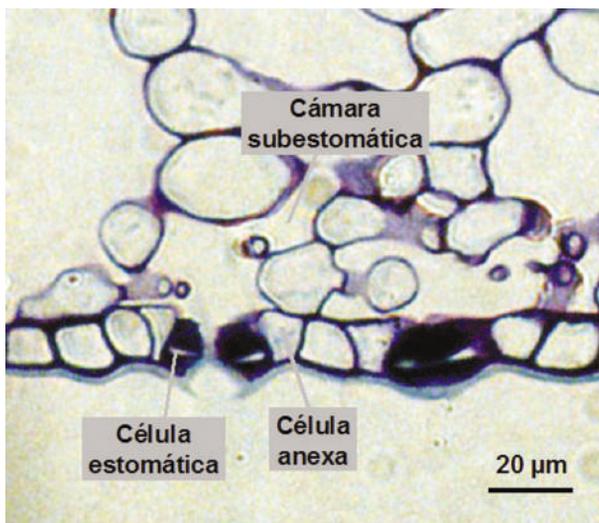


Figura 2.7. Tejidos protectores o aislantes. Detalle de la cara abaxial, en una sección transversal de una hoja madura de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), en donde se observan varios estomas con sus correspondientes células estomáticas y anexas y las cámaras subestomáticas. Tinción: Azul de toluidina.

La hipodermis se sitúa inmediatamente por debajo de la epidermis de la raíz (ver Fig. 3.5). La pared tangencial externa y las radiales contienen lignina y la pared tangencial interna contiene suberina.

La endodermis es la capa más interna del córtex de la raíz (ver Fig. 3.5). Sus células tienen un aspecto similar a las epidérmicas, con una gran vacuola. Sus paredes celulares presentan depósitos de lignina y suberina.

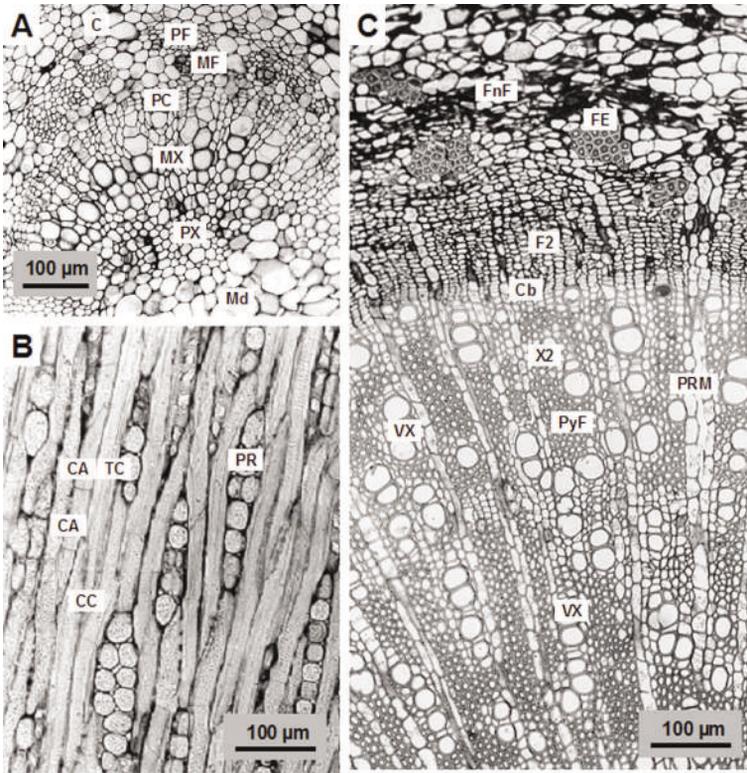
El súber es un tejido protector secundario que se forma cuando los órganos envejecen y pierden su epidermis por crecimiento secundario (Fig. 2.3). El súber se produce por división activa del meristemo secundario denominado felógeno y está formado por un número variable de células prismáticas densamente empaquetadas y con sus paredes suberificadas. La formación del súber puede también producirse como reacción a una lesión externa del órgano producida por el ataque de insectos o herbívoros o por condiciones medioambientales adversas como, por ejemplo, el exceso

de viento. El súber puede considerarse entonces como un tejido de cicatrización.

2.5. LOS TEJIDOS CONDUCTORES O VASCULARES

Los tejidos conductores o vasculares, el floema y el xilema, constituyen un sistema de canales por el que discurren y se distribuyen por toda la planta tanto el agua como las sustancias, orgánicas e inorgánicas, disueltas en ella (Fig. 2.8).

El floema transporta los productos de la fotosíntesis, azúcares y materiales orgánicos elaborados, desde su lugar de síntesis hasta donde serán consumidos. Durante el crecimiento primario de la planta se forma el floema primario a partir del procambium. En primer lugar se forma el protofloema y después el metafloema. Posteriormente, a partir del cambium vascular, se forma el floema secundario durante el crecimiento secundario. El floema comprende tanto elementos vasculares como no vasculares. Entre los elementos vasculares encontramos los tubos y las células cribosas, mientras que entre los no vasculares encontramos las células anexas, las células albuminíferas, el



parénquima axial y el radiomedular y las fibras esclerenquimatosas.

Figura 2.8. Tejidos conductores o vasculares. Secciones transversal (A) y longitudinal (B) de un tallo de naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) a nivel del 5º entrenudo en donde se observa el tejido vascular. (C) Sección transversal de un pedúnculo de un fruto maduro del híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.). C = córtex; CA = células anexas; Cb = cambium; CC = células cribosas; FE = fibras esclerenquimáticas; FnF = floema no funcional; F2 = floema secundario; Md = médula; MF = metafloema; MX = metaxilema; PC = procambium; PF = protofloema; PR = radios floemáticos; PRM = parénquima radiomedular; PX = protoxilema; PyF = parénquima y fibras del xilema; TC = tubo criboso; VX = vaso xilemático; X2 = xilema

secundario. Tinción: Acido periódico - reactivo de Schiff (PAS; A, B) y azul de toluidina (C).

El xilema transporta el agua y las sustancias disueltas en ella desde la raíz a todas las partes de la planta. Los principales elementos conductores del xilema son células alargadas desprovistas de citoplasma, con forma de tubo y con paredes lignificadas. Son las tráqueas o vasos xilemáticos. El engrosamiento de las paredes de las tráqueas es de tipo anular. Durante el crecimiento primario se forma el xilema primario a partir del procambium (en primer lugar el protoxilema y después el metaxilema). Posteriormente, con el crecimiento secundario se forma el xilema secundario a partir del cambium vascular. El xilema consta también de elementos conductores y no conductores. Los elementos conductores son las tráqueas o vasos xilemáticos y las traqueidas, mientras que los no conductores son el parénquima axial y el radiomedular y las fibras esclerenquimáticas.

2.6. LOS TEJIDOS SECRETORES

Los tejidos secretores más importantes, debido al papel fundamental que desempeñan durante la polinización, se encuentran en el gineceo de la flor de cítricos. Son los tejidos más externos del disco floral o nectario y los tejidos que recubren el estigma y los canales estilares. El disco floral está situado en la base del ovario, justo por encima de los puntos de anclaje de los filamentos de los estambres (Fig. 2.9). En el momento de la antesis, comienza a secretarse una gran cantidad de un néctar acuoso a través de estomas modificados que tapizan la superficie del disco (Schneider, 1968). Esta secreción se prolonga durante al menos 48 horas después de la antesis y es capaz de atraer a las abejas, responsables finales de que tenga lugar el proceso de polinización cruzada en los cítricos (Vansell y cols., 1942). Paralelamente a la secreción del disco floral, las células de las papilas del estigma y del estilo también secretan un exudado que permitirá la hidratación, la germinación del grano de polen y el crecimiento del tubo polínico (Fig. 2.9A, ver Capítulo 5). Las células que componen estos tejidos tienen forma alargada y presentan una pared fina con plasmodesmos que las conectan con las células parenquimáticas vecinas. Su relación citoplasma/vacuola es elevada y poseen abundantes

perfiles de RE rugoso y gran número de áreas de Golgi muy activas. El plasmalema tiene apariencia ondulada debido a la continua fusión de vesículas con material a secretar al exterior.

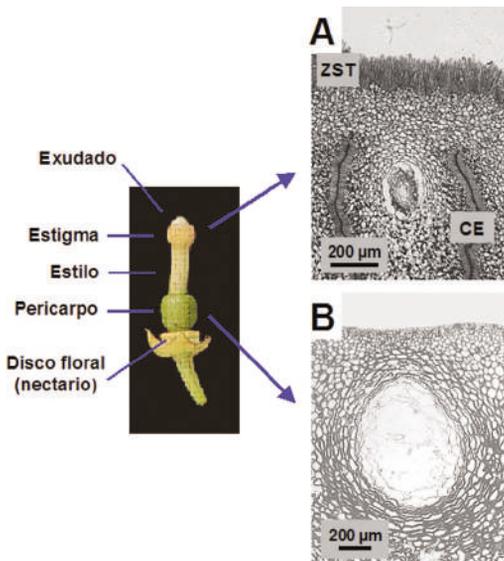


Figura 2.9. Tejidos secretores. (A) Sección transversal del estigma de una flor de navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en donde se observan las papilas del tejido

estigmático (ZST) y varios canales estilares (CE). (B) Sección transversal de la corteza del fruto de naranjo dulce Navelina (*Citrus sinensis* L. Osb.) en donde se observa una glándula de aceites esenciales. Tinción: Safranina - verde rápido (A) y azul de toluidina (B).

Otros tejidos secretores son las glándulas de aceites esenciales (Fig. 2.9B). Se localizan bajo la epidermis de un gran número de órganos como el tallo, la hoja, los pétalos, los sépalos, el ovario y el fruto. Las primeras glándulas de aceite comienzan a diferenciarse muy pronto en los órganos recién formados y, después, comienzan a formarse otras cuando el órgano alcanza su máximo grado de desarrollo y madura. La diferenciación de la glándula es de origen lisígeno y comienza cuando el citoplasma de un grupo de células subepidérmicas toma un aspecto denso y oscuro. Las células que rodean la cavidad lisígena en formación experimentan varios ciclos de división dando lugar a un grupo de células parenquimáticas de paredes finas. Estas células se rodean a su vez de otras con forma de media luna y con paredes más gruesas que las anteriores.

3. LA RAIZ

3.1. GERMINACIÓN DE LA SEMILLA

La semilla de los cítricos está formada por dos cotiledones y puede ser mono o poliembriónica; es decir, puede contener entre uno y siete embriones (Frost y Soost, 1968). Solamente uno de los embriones deriva de la fusión sexual entre los núcleos generativos que transporta el tubo polínico y los núcleos polares y de la oosfera presentes en el saco embrionario del óvulo. El resto de embriones derivan de células nucelares localizadas en la proximidad del saco embrionario del óvulo (ver capítulo 5). Por tanto, de una misma semilla pueden emerger varias plántulas con carga genética diferente. La emergencia del hipocotilo (la porción de tallo entre el primordio radicular y los cotiledones) y de la radícula por el extremo micropilar de la semilla supone el comienzo de la germinación, aunque antes de que esto ocurra debe pasar un periodo variable de hidratación o imbibición (Fig. 3.1; Frost y Soost, 1968). A continuación aparecen el brote vegetativo y el epicotilo (la porción de tallo entre el brote vegetativo y los cotiledones). Todo este crecimiento se produce a expensas de las reservas energéticas (proteínas, lípidos y azúcares) que contienen los cotiledones.

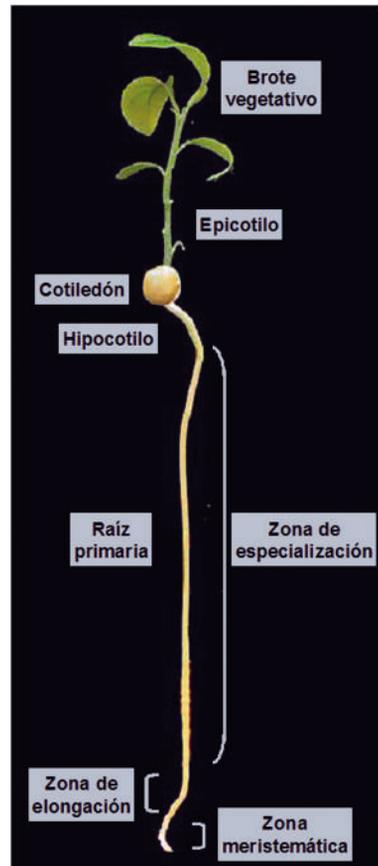


Figura 3.1. Plántula de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) de 1 mes de edad en la que se muestran sus diferentes partes y las zonas en que puede subdividirse la raíz.

Las células de los cotiledones quiescentes de los cítricos, es decir, los cotiledones desecados, contienen abundantes reservas lipídicas y proteicas (García-Agustín y Primo-Millo, 1989). Estas reservas representan en conjunto el 80% del peso seco de la semilla, mientras que las reservas de azúcares son inferiores al 0,1 %. Las reservas lipídicas se encuentran en forma de vesículas denominadas cuerpos lipídicos, mientras que las proteicas se localizan en otro tipo de vesículas denominadas cuerpos proteicos (ver Fig. 2.4B). Estos cuerpos proteicos presentan frecuentemente inclusiones cristalinas o globulares en su interior. Las reservas de carbohidratos se encuentran en forma de almidón y se localizan en los amiloplastos. El citoplasma de las células queda confinado pues a una estrecha banda cercana a la pared celular. En él podemos encontrar secciones de retículo endoplásmico liso y rugoso, ribosomas libres, mitocondrias y glioxisomas. La movilización de reservas en los cotiledones comienza cuatro días después de la imbibición y se prolonga durante

aproximadamente veinte días. Seis días después de la imbibición se observa un incremento en el grado de vacuolación celular debido a la desintegración parcial tanto de los cuerpos lipídicos como de los proteicos (Fig. 3.2A). El proceso de movilización de reservas es progresivo y concomitante con el incremento en el grado de vacuolación celular y finaliza, prácticamente, tras 20 días de imbibición (Fig. 3.2B). A los cuarenta días después de la imbibición coexisten en los cotiledones células completamente desprovistas de reservas junto a otras que aún contienen parte de ese material (Fig. 3.2C). Durante el proceso de germinación se observa un ligero incremento en el número de amiloplastos que se localizan preferentemente en las capas celulares más externas del cotiledón.

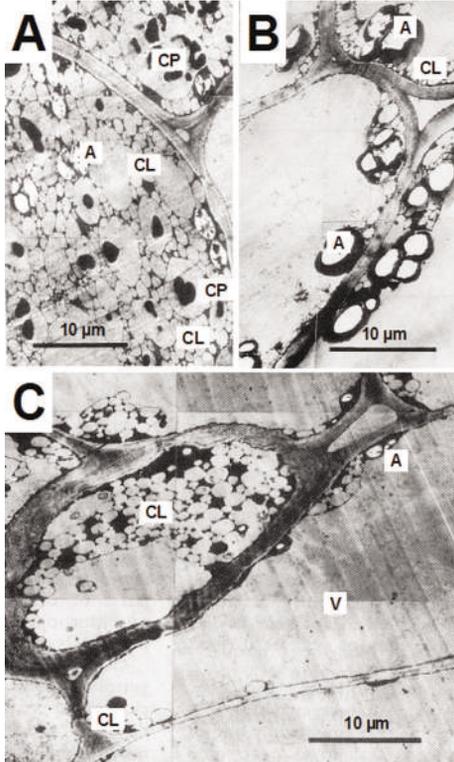


Figura 3.2. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de células pertenecientes a los cotiledones de limón (*Citrus limon* L. Burm.) en diferentes etapas de la germinación que corresponden a 6 (A), 20 (B) y 40 días después de la imbibición (C). A = almidón; CL = cuerpo lipídico; CP = cuerpo proteico; G = glioxisoma; V = vacuola. Contraste: acetato de uranilo y citrato de plomo.

3.2. CRECIMIENTO DE LA RAÍZ

La raíz principal o primaria de las plántulas de cítricos crece activamente a medida que se movilizan las reservas de los cotiledones. Entre sus funciones destacan las siguientes: anclaje de la planta al suelo, absorción de agua y nutrientes, almacenamiento de reservas y síntesis de hor-

monas. A los 26 días después de la germinación, las plántulas del patrón citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) alcanzan una altura de 3-4 cm y la raíz primaria una longitud de 8-10 cm (Fig. 3.1). A lo largo del eje longitudinal de la raíz podemos distinguir 3 zonas: la meristemática, la de elongación y la de especialización. La zona meristemática es la más apical de la raíz y también la menos extensa. En ella se producen la mayor parte de las divisiones celulares que ocurren en la raíz. La zona de elongación está situada a continuación de la meristemática y en ella predomina la expansión celular, tanto longitudinal como radial. A continuación se encuentra la zona de especialización, que es la más extensa, y en donde ocurre la diferenciación celular.

El alargamiento de la raíz se produce, fundamentalmente, en las dos zonas más apicales, la meristemática y la de elongación, siendo la zona de especialización la que menos activamente crece. En la interfase entre las zonas de elongación y de especialización de la raíz primaria se produce la diferenciación de las raíces laterales o secundarias (Fig. 3.3). En principio, las nuevas raíces parten perpendicularmente al eje longitudinal de la raíz primaria y, más tarde, debido a su gravitropismo positivo, cambian su dirección de crecimiento. Una vez las raíces secundarias han alcanzado un tamaño suficiente se ramifican a su vez, originándose así el entramado del sistema radicular de la planta de cítricos. El crecimiento y desarrollo del sistema radicular, tanto en elongación como en formación de nuevas raíces, tiene lugar durante los periodos de brotación y se alterna con el crecimiento de la parte aérea de la planta (Bevington y Castle, 1985). Los procesos de crecimiento del tallo y la raíz se solapan ligeramente, aunque en general, cada brotación permite el crecimiento primero de la parte aérea y después de la parte enterrada de la planta, o sea, de la raíz. La temperatura y la disponibilidad de agua y nutrientes regulan el crecimiento de la raíz. Cuando el potencial hídrico del suelo desciende a $-0,05$ MP se produce la inhibición tanto de la elongación como de la producción de nuevas raíces. Una vez han desaparecido las condiciones que generan el estrés hídrico, bien por la lluvia o por el riego, tiene lugar la iniciación de nuevas raíces y después se reactiva el crecimiento de las raíces ya formadas anteriormente (Bevington y Castle, 1985).



Figura 3.3. Emergencia de raíces laterales en plántulas de 1 mes de edad de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) cultivadas durante 16 días con ácido indolbutírico.

3.3. ONTOGENIA DE LA RAÍZ

La raíz se desarrolla a partir de un grupo de células iniciales localizadas en la región meristemática apical. Estas células se localizan en tres histógenos: dermatógeno, periblema y pleroma (ver capítulo 2). El dermatógeno da lugar a la caliptra o cofia y a la epidermis, el periblema a la hipodermis y al córtex y el pleroma a la estela o cilindro central, en donde se localizan el periciclo, el tejido vascular y la médula.

Junto a las células iniciales meristemáticas, aunque situadas en posición algo más apical que éstas, se encuentra el denominado centro quiescente (Fig. 3.4). A diferencia de las células iniciales, que se encuentran en continua división, las células del centro quiescente no se dividen o lo hacen mucho más lentamente. El centro quiescente constituye una reserva de células meristemáticas que pueden ser utilizadas para renovar la población de células iniciales en caso de necesidad.



Figura 3.4. Sección longitudinal del ápice de una raíz de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) mostrando la estructura del centro quiescente. Tinción: Azul de toluidina.

3.4. ESTRUCTURA PRIMARIA DE LA RAÍZ

La estructura primaria de la raíz de los cítricos se muestra en la figura 3.5, en donde pueden apreciarse los siguientes componentes:

La caliptra o cofia. Esta región de la raíz está formada por varios estratos de células de tipo parenquimático que recubren el ápice de la raíz. Las células producen una secreción de tipo mucilaginoso que se acumula en sus paredes celulares. Al morir las células de los estratos más externos de la caliptra se desprenden creando un entorno lubricado a las células en crecimiento, evitando así lesiones celulares. Además, este tejido participa en el geotropismo positivo de la raíz.

La epidermis. Es el tejido más externo de la raíz en las zonas meristemática y de elongación. Forma una sola capa de células estrechamente empaquetadas que, en determinadas condiciones, pueden diferenciar pelos radicales. Estos pelos radicales son protuberancias o extensiones de la epidermis que incrementan considerablemente la superficie de la raíz con capacidad para absorber agua. Con el crecimiento de la raíz y el rozamiento con el suelo, las células epidérmicas degeneran en la zona de especialización y, de esta forma, la siguiente capa celular, la hipodermis, pasa a ser la más externa.

La hipodermis. Está normalmente situada bajo la epidermis y constituye también una sola capa de células estrechamente empaquetadas. Sus paredes periclinales externas y radiales presen-

tan depósitos de lignina, mientras que las periclinales internas y parte de las radiales presentan depósitos de suberina (Walker y cols., 1984). Estas deposiciones secundarias representan la primera barrera selectiva de la raíz al transporte apoplástico de agua y sales y, en su conjunto, se les denomina banda de Caspary. A intervalos variables de células hipodérmicas, entre 2 y 10 células, encontramos una sin depósitos en la pared denominada célula de paso.

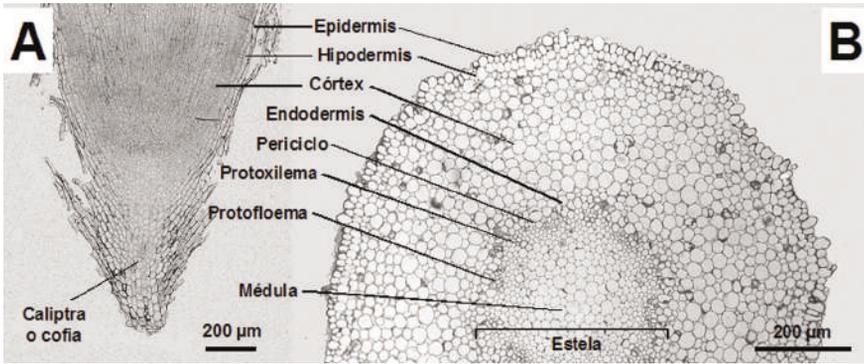


Figura 3.5. Componentes anatómicos de la raíz de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), en sección longitudinal (A) y transversal (B), a nivel de las zonas meristemática y de elongación. Tinción: Azul de toluidina.

El córtex. Constituye, junto con la estela, el tejido más extenso en volumen de la raíz de los cítricos y está formado por células de naturaleza parenquimática. Atendiendo al tamaño de sus células, puede dividirse en externo e interno. Las células del córtex externo son más pequeñas que las del interno y están más estrechamente empaquetadas. El córtex interno es la zona cortical más extensa con continuos espacios intercelulares de tamaño variable.

La endodermis. La endodermis es una monocapa de células situada a continuación del córtex. Al igual que la hipodermis, las paredes radiales presentan depósitos de lignina y las periclinales internas y parte de las radiales depósitos de suberina formando otra barrera más interna (Walker y cols., 1984).

La estela o cilindro central.

Esta estructura, la más interna de la raíz, está compuesta por:

El periciclo. Esta monocapa de células es la más externa que limita la estela. Sus paredes celulares son finas y presentan plasmodesmos que las conectan entre sí y con las células endodérmicas. Suelen contener en su interior depósitos lipídicos. A partir del periciclo se diferencian los primordios de las raíces secundarias o laterales y, además, apoya el crecimiento secundario en grosor de la raíz generando nuevas células.

Haces vasculares. El tejido vascular se sitúa por debajo del periciclo y su disposición, en las zonas meristemática y de elongación, es radial alterna. En la porción más distal de la zona de elongación encontramos protofloema, compuesto por tubos cribosos, y protoxilema, compuesto por tráqueas con una luz muy fina (Fig. 3.6A). En la porción proximal encontramos un número variable de bandas de protoxilema y protofloema, entre tres y ocho (Fig. 3.6B). En la zona de espe-

cialización, el tejido vascular aparece ya como un anillo continuo que envuelve la médula y presenta zonas de floema y xilema completamente diferenciados (Figs. 3.6C-D).

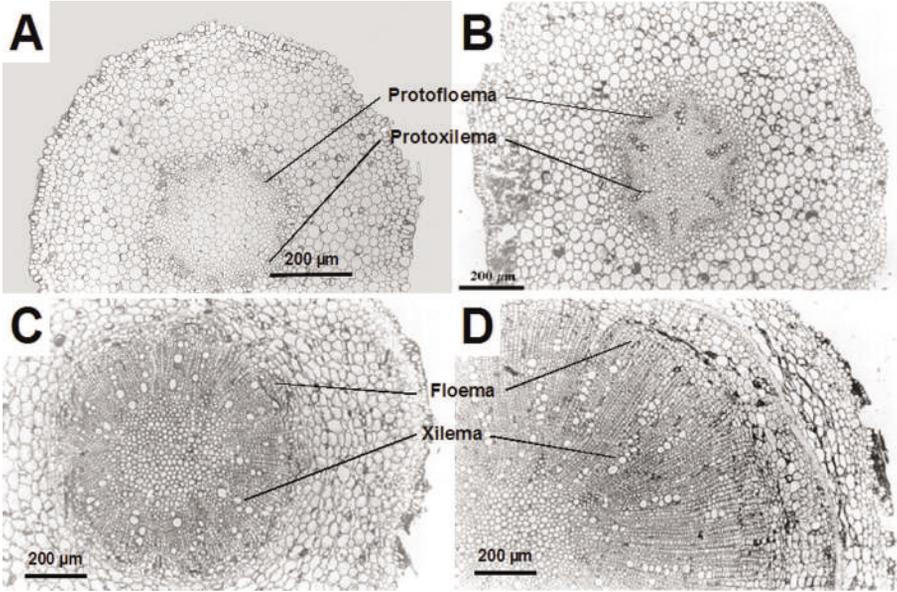


Figura 3.6. Secciones transversales de la raíz de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) en las porciones distal (A, C) y proximal (B, D), respectivamente, de las zonas de elongación y de especialización. Tinción: Azul de toluidina.

En el xilema secundario, formado a partir del cambium vascular, se distinguen los elementos siguientes (Fig. 3.7): a) las tráqueas o vasos, que son los elementos conductores de mayor grosor, b) las traqueidas, de menor luz que las anteriores y c) las fibras, de menor tamaño que las traqueidas y que actúan como elementos de sostén. Además, encontramos células parenquimáticas dispuestas en haces axiales y radiales.

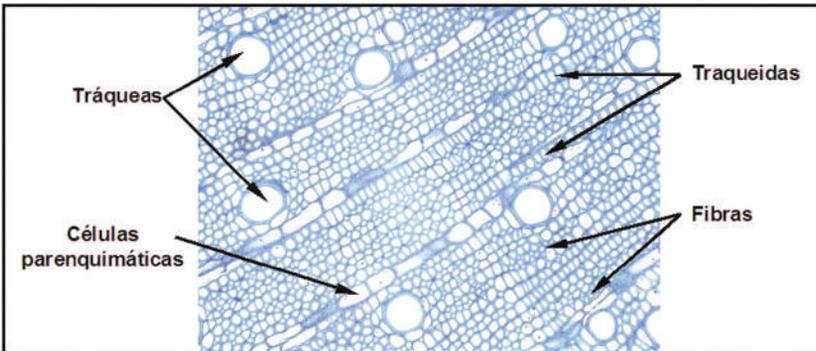
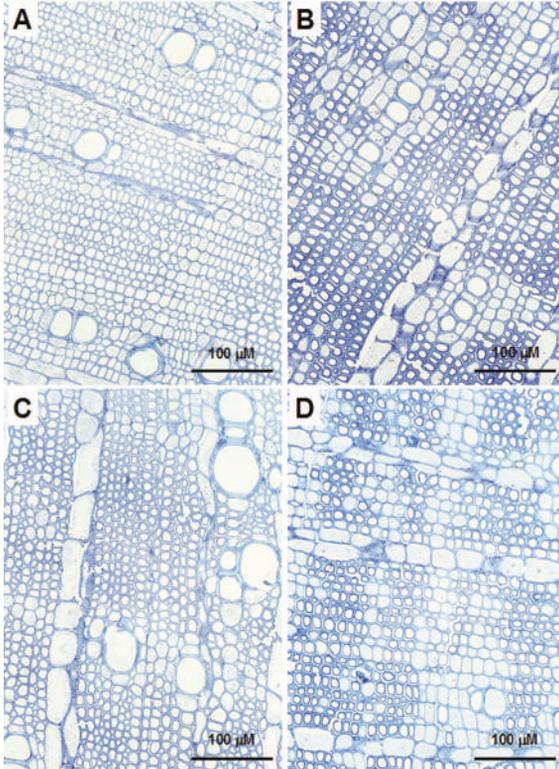


Figura 3.7. Sección transversal de xilema secundario de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) en la que se indican los distintos elementos que lo componen. Tinción: Azul de toluidina.

Los estudios histológicos centrados en los elementos conductores del xilema secundario muestran que las raíces de un patrón relativamente vigoroso, como puede ser citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), poseen una estructura física que le permite una mayor capacidad para el transporte de agua que otro patrón considerado menos vigoroso, como el mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (Moya 2000). En las raíces de citrange Carrizo, el tamaño en sección transversal de las traqueidas y, sobre todo, de los vasos es claramente mayor que en el mandarino Cleopatra. Cuando injertamos ambos patrones entre si, se observa que el tamaño de los vasos de las raíces del citrange Carrizo sobre el que se ha injertado mandarino Cleopatra aumenta considerablemente respecto a las raíces de una planta de Carrizo sin injertar, mientras que en las plantas de mandarino Cleopatra sobre las que se ha injertado citrange Carrizo no se aprecian variaciones respecto a las raíces de una planta de Cleopatra sin injertar (Fig. 3.8).

El sistema radicular de los cítricos tiene una gran influencia sobre un gran número de características de la variedad injertada (Castle 1987; Forner 1984). Cuando se realizan injertos recíprocos entre los patrones Cleopatra y Carrizo, se observa como el sistema radicular de Cleopatra induce un crecimiento menos vigoroso de la parte aérea de Carrizo, mientras que el vástago de Cleopatra mejora su crecimiento cuando crece injertado sobre Carrizo. El sistema radicular condiciona parámetros como la altura de las plantas, el número de hojas e incluso el área foliar. De forma general, podemos decir que las raíces de los patrones considerados vigorosos generan plantas con gran capacidad de crecimiento, mientras que las raíces de los patrones menos vigorosos parecen reducir el vigor de las plantas que crecen sobre ellos (Fig 3.9).



La médula. Es un tejido de tipo parenquimático, con escasos espacios intercelulares, que ocupa el centro de la estela. Este tejido también se extiende entre los haces vasculares hasta llegar al periciclo. En algunas ocasiones, cuando el crecimiento secundario es importante, parte del tejido puede transformarse en esclerénquima.

Figura 3.8. Sección transversal de xilema secundario de raíces de plantas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (A), mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (B), y de plantas injertadas de Cleopatra sobre Carrizo (C) y de Carrizo sobre Cleopatra (D). Tinción: Azul de toluidina.



Figura 3.9. Plantas de injertos recíprocos entre patrones. A la izquierda Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) injertada sobre Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) y a la derecha Carrizo injertado sobre Cleopatra.

3.5. CRECIMIENTO SECUNDARIO DE LA RAÍZ

Las raíces crecen radialmente, es decir, engrosan, por un proceso de crecimiento secundario y acumulan, en general, nuevos elementos floemáticos y xilemáticos derivados de una zona cambial localizada en el cilindro vascular de la estela (Fig. 3.6C-D). Ese cambium aparece cuando los elementos vasculares primarios (protofloema y protoxilema) se han diferenciado completamente. La actividad cambial genera hacia afuera elementos floemáticos y hacia adentro elementos xilemáticos, de forma que los haces vasculares iniciales, separados por tejido parenquimático medular, se transforman en un anillo continuo (Fig. 3.6C). La presión ejercida por el aumento en grosor del tejido vascular causa el colapso de las capas celulares intermedias del córtex, originándose un tejido peridérmico que, con el tiempo, ocupará la porción más externa de la raíz (Fig. 3.6D). Además, otros tejidos de la raíz, como el córtex, también pueden aumentar en volumen contribuyendo así al crecimiento secundario de la raíz.

El crecimiento en grosor de la raíz está claramente influenciado por las fitohormonas, fundamentalmente por las giberelinas (GAs), las auxinas y el etileno. La velocidad normal de crecimiento de la raíz de cítricos se obtiene con los denominados niveles basales de estas hormonas. Sin embargo, si los modificamos podemos modular tanto el crecimiento longitudinal como el crecimiento radial de la raíz (Tadeo y cols., 1996; 1997; 1998). Así, niveles infrabasales de GAs o supra-basales de auxinas o etileno ralentizan el crecimiento longitudinal y estimulan la expansión radial de la raíz de plántulas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.). Sin embargo, la región diana de la raíz cambia con la naturaleza de la hormona. Las GAs y las auxinas modulan el crecimiento radial en la región apical de la raíz, en la zona de elongación, mientras que el etileno afecta a la región basal, a la zona de especialización. Estos efectos morfológicos de la raíz derivan de los cambios que experimentan tanto el córtex como la estela. En cualquier caso, la presencia de niveles de GAs inferiores a los basales o de auxinas y etileno superiores a los basales incrementan el espesor del córtex y el diámetro de la estela al estimular, respectivamente, un cambio en la polaridad de crecimiento de sus células y la división en el cambium vascular (Fig. 3.10). Los efectos producidos por GAs y por auxinas parecen estar propiciados, respectivamente, por cambios en la sensibilidad y en la producción de etileno por el ápice radicular.

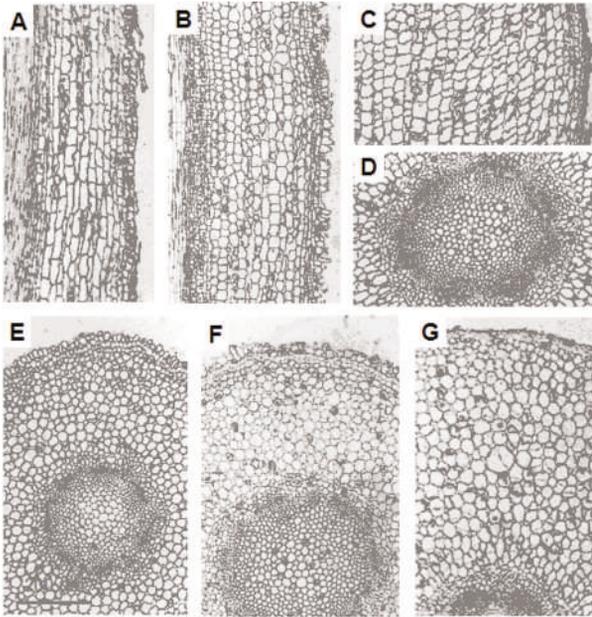


Figura 3.10. Secciones longitudinales (A, B, C) y transversales (D, E, F, G) de la raíz de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) a nivel de la zona de elongación. (A y E) Plantas cultivadas en un medio basal; (B y F) plantas cultivadas en un medio suplementado con ácido indolbutírico; (C, D y G) plantas cultivadas en un medio suplementado con paclobutrazol. Tinción: Azul de toluidina.

Por otra parte, la inhibición del crecimiento longitudinal de la raíz inducida por deficiencia en giberelinas (mediante cultivo en paclobutrazol) no puede revertirse con ácido giberélico (GA_3), aunque la adición de ácido p-clorofenoxi-isobutírico si permite una elongación más activa (Fig. 3.11A). Este proceso está acompañado de una reducción en el diámetro apical de la raíz. La reactivación del patrón normal de crecimiento esta promovida por la restauración tanto del tamaño como de la forma de las células corticales y también por una contención en el crecimiento del sistema vascular de la estela (Fig. 11B).

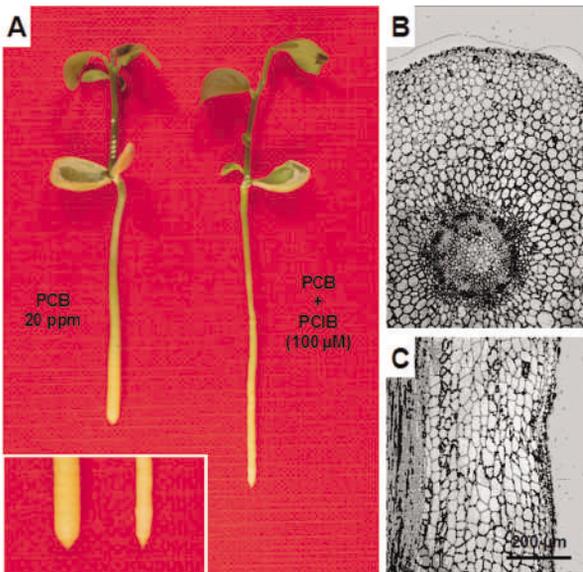


Figura 3.11. (A). Morfología de plántulas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) de 1 mes de edad cultivadas durante 7 días en presencia de paclobutrazol (PCB; un inhibidor de la síntesis de giberelinas) solo o con ácido p-clorofenoxi-isobutírico (PCIB; una antiauxina). En la parte inferior izquierda se muestra un detalle de la porción apical de la raíz de ambas plántulas. Secciones transversal (B) y longitudinal (C) en la zona de elongación de una raíz cultivada en presencia de PCB y PCIB. Tinción: Azul de toluidina.

3.6. FORMACIÓN DE RAÍCES SECUNDARIAS O LATERALES

Las raíces secundarias o laterales se forman a cierta distancia del ápice de la raíz principal, concretamente en la porción más distal de la zona de especialización, entre 8 y 18 mm del ápice radicular. La formación es endógena, a partir de las células del periciclo, en contraposición a la ramificación del tallo que es exógena. Una de las células del periciclo, contigua a un haz vascular xilemático, comienza a dividirse periclinalmente formando las células iniciales. A continuación, por divisiones tanto periclinales como anticlinales, se genera el primordio de la nueva raíz. Este primordio crece por división y elongación celular atravesando la endodermis, el córtex y la epidermis hasta alcanzar el exterior (Fig. 3.12A). Simultáneamente, se organiza la conexión con los tejidos conductores de la raíz principal entre la base del primordio radicular y la estela (Fig. 3.12B).

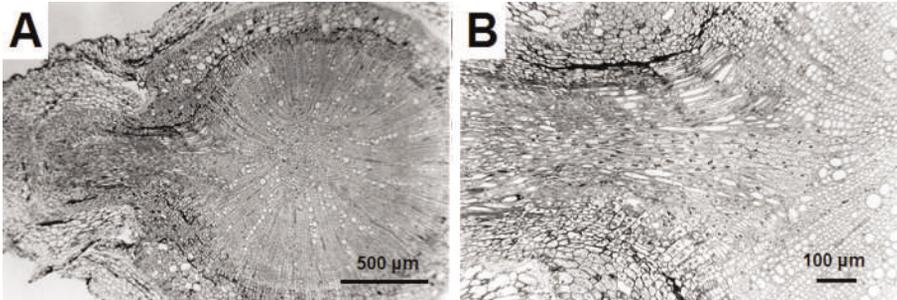


Figura 3.12. Secciones transversales de la raíz de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) mostrando la formación de una raíz secundaria (A) y un detalle de la conexión de los tejidos conductores de la raíz primaria y secundaria. Tinción: Azul de toluidina.

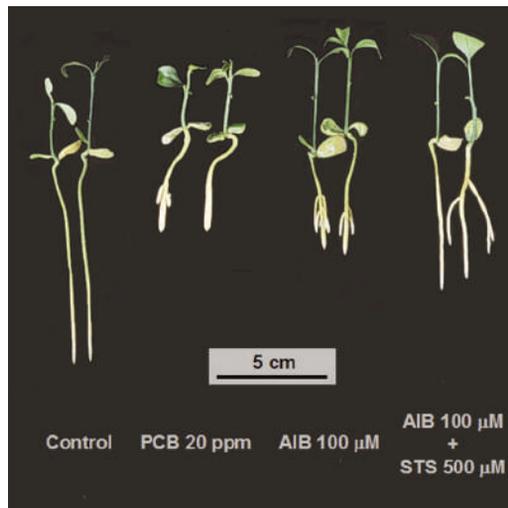


Figura 3.13. Morfología de plántulas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) de 1 mes de edad tratadas con diferentes reguladores del crecimiento (AIB: ácido indolbutírico) e inhibidores de la síntesis (PCB: paclobutrazol) y de la acción hormonal (STS: tiosulfato de plata), solos o en combinación.

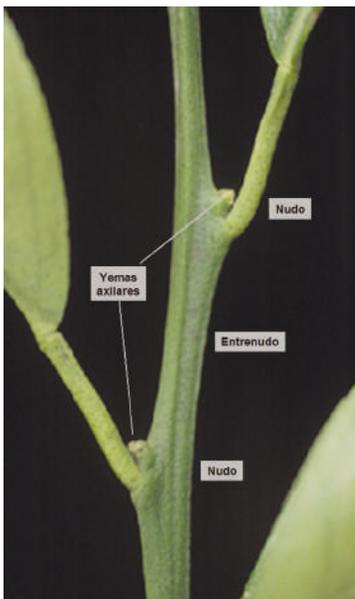
La formación de los primordios de las raíces laterales y su crecimiento está también claramente influenciado por las mismas hormonas que controlan el crecimiento radial: giberelinas, auxinas y etileno (Fig. 3.13). La presencia de niveles de giberelinas inferiores a los basales o de auxinas o de etileno superiores a los basales estimula la diferenciación de nuevos primordios radiculares a partir del periciclo. El exceso de auxinas y etileno es más eficaz que la deficiencia en giberelinas a la hora de promocionar la formación de nuevas raíces (Tadeo y cols. 2000). Además, la combinación del exceso de auxinas con la deficiencia en giberelinas o el exceso de etileno tiene un efecto sinérgico sobre la formación de raíces laterales.

4. EL TALLO Y LA HOJA

4.1. EL TALLO.

El brote vegetativo y el epicotilo, la porción de tallo localizado entre el meristemo vegetativo y los cotiledones, comienzan a elongar una vez la raíz principal de la plántula ha alcanzado varios cm de longitud (ver Fig. 3.1). La función principal del tallo es poner en comunicación dos órganos clave para la nutrición de la planta, la raíz y las hojas. Por el interior del tallo viajan el agua y las sales minerales absorbidas por la raíz y los fotoasimilados producidos por las hojas. Además de esta función de transporte, el tallo realiza una función mecánica ya que mantiene la nueva brotación vegetativa producida por el rebrote de las yemas axilares, formándose así nuevas ramas que soportarán tanto el crecimiento de hojas como de flores y frutos.

La brotación y el crecimiento del tallo son procesos que dependen de las condiciones medioambientales. Estos procesos necesitan una determinada cantidad de luz y de agua, así como un rango de temperatura idóneo para llevarse a cabo. Los cítricos son plantas de día neutro y el máximo de eficacia fotosintética se alcanza aproximadamente entre 700 y 1000 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (Syvertsen, 1984); es decir, un rango de iluminación suficiente para permitir el crecimiento en los cítricos se alcanza en muchas regiones de nuestro planeta. En cuanto al estado hídrico de la planta, los periodos de sequía ralentizan el crecimiento del tallo, aunque una vez superados tras la lluvia o el riego, el crecimiento vuelve a ser enérgico. La temperatura restringe los periodos de brotación en las regiones con clima subtropical como la nuestra. En estas condiciones, en el Hemisferio Norte solamente se producen tres brotaciones importantes; en primavera (durante los meses de Marzo y Abril), en verano (durante los meses de Junio y Julio) y en otoño (durante los meses de Septiembre y Octubre). Sin embargo, las altas temperaturas permiten que en las regiones con clima tropical la brotación sea prácticamente continua. En estas regiones solamente el descenso en el aporte de agua a la planta puede ralentizar o suspender el crecimiento vegetativo.



El meristemo vegetativo de la yema apical produce hojas, yemas axilares y espinas a intervalos regulares. Los puntos de aparición de estas estructuras se denominan nudos. Los nudos se alejan entre sí mediante el crecimiento intercalar y, de esta forma, el tallo elonga, es decir, crece en longitud y en anchura. El meristemo intercalar se localiza en la base de cada nudo y el espacio comprendido entre dos nudos se denomina entrenudo (Fig. 4.1).

Figura 4.1. Detalle del tallo de una plántula de 1 año de edad de mandarino Clementino (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.) donde se observan las yemas axilares, los nudos y un entrenudo.

Las hojas de los cítricos se insertan en el tallo según un esquema geométrico determinado denominado filotaxis, de manera que la sombra producida por las hojas nuevas interfiera lo menos posible con las hojas más viejas y no afecte a la fotosíntesis. En el naranjo dulce, la filotaxis es 3/8 (Schneider, 1968); es decir, la octava hoja emerge sobre la primera hoja siguiendo un patrón en espiral produciéndose tres vueltas de derecha a izquierda del tallo. En el pomelo, sin embargo, la filotaxis es 2/5 (Davies y Albrigo, 1994).

En la axila de cada hoja, dispuesta en un nudo, crece una yema cubierta de varias escamas. Cada yema está compuesta por un meristemo apical y los primordios de las hojas (ver Fig. 2.1). A la derecha de cada yema crece una espina. A partir del meristemo se forma el tallo flexible y verde que morfológicamente varía desde triangular, como en el patrón mandarino Cleopatra (*Citrus res-hni* Hort. ex Tan.), hasta redondeado, como en el citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (Fig. 4.2).

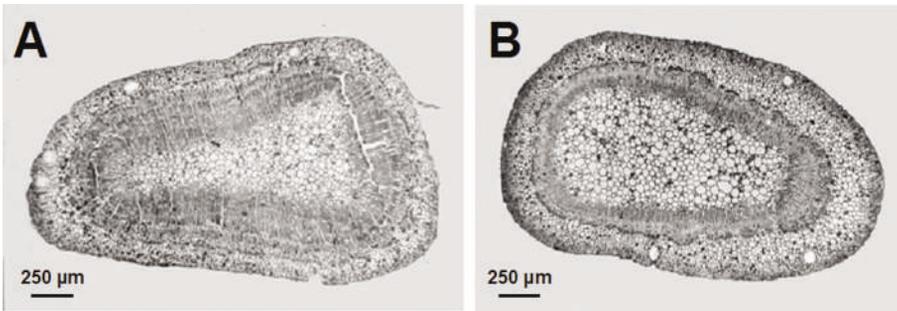


Figura 4.2. Secciones transversales de tallos, a nivel del 5º entrenudo, pertenecientes a plántulas de mandarino Cleopatra (*Citrus res-hni* Hort. ex Tan., A) y de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf., B). Tinción: Azul de toluidina.

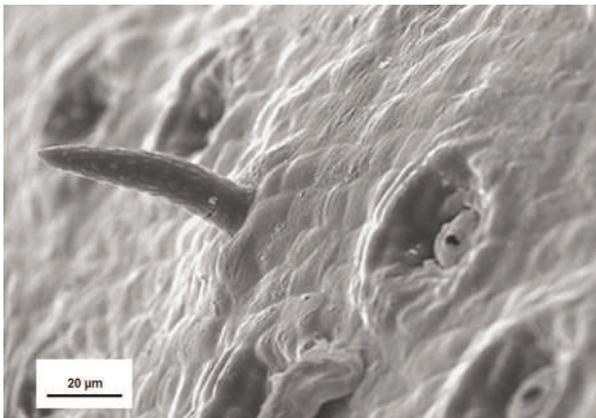


Figura 4.3. Microfotografía, al microscopio electrónico de barrido, de la superficie del tallo de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) mostrando un pelo epidérmico y varios estomas.

La porción más superficial del tallo joven es la epidermis (Fig. 4.4), una monocapa de células parenquimáticas recubiertas en su cara externa por una fina cutícula y que pueden desarrollar pelos epidérmicos (Fig. 4.3). En la epidermis se insertan también algunos estomas irregularmente repartidos. Por debajo de la epidermis se encuentra el córtex cuyo volumen aumenta con la edad del tallo (Fig. 4.4). A continuación del córtex encontramos el cilindro central compuesto por el tejido vascular y la médula. El tejido más importante del tallo, debido a su función, es el vascular, cuya estructura es cilíndrica y está compuesto, del exterior al interior, por floema, cambium y xilema.

En general, la estructura del tallo, fundamentalmente del tejido vascular, cambia en función de su edad. A nivel del meristemo, podemos distinguir, desde el exterior al interior del tallo, una capa protodérmica y una región meristemática de la que derivan el córtex y los elementos provasculares, los tubos cribosos del protofloema y las traqueidas y vasos del protoxilema (Schneider, 1968).

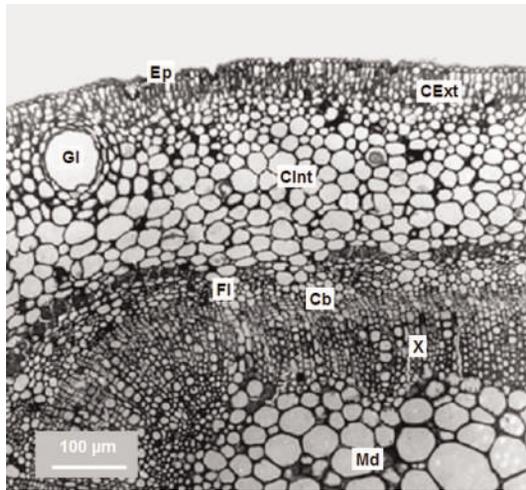


Figura 4.4. Sección transversal del tallo de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) a nivel del 10º entrenudo. Cb = cambium; CExt = córtex externo; CInt = córtex interno; Ep = epidermis; FI = floema; Gl = glándula de aceite; Md = médula; X = xilema. Tinción: Azul de toluidina.

A nivel del 10º entrenudo (Fig. 4.4) el córtex ya se ha diferenciado completamente y podemos distinguir en él dos regiones en función del tamaño de sus células, una externa y otra interna. Las células del córtex externo, cuya porción basal envuelve a las glándulas de aceite, son más pequeñas y están más densamente empaquetadas que las del córtex interno. En el tejido vascular podemos distinguir una estrecha franja de células cambiales que han producido hacia el exterior fibras metafloemáticas insertadas en tejido parenquimático y metaxilema hacia el interior.

La anatomía de los tallos más viejos, con alrededor de un cm de diámetro, muestra una mayor diferenciación en los tejidos que lo componen (Fig. 4.5). La epidermis del tallo comienza a desprenderse y a renovarse por otro tejido más duro derivado de la formación del súber mientras que en el córtex interno aparece ya tejido esclerenquimático. En el floema podemos distinguir tres regiones: una zona con floema funcional, otra menos extensa con fibras metafloemáticas degeneradas y

otra formada por agrupaciones más o menos densas de fibras de floema primario. El xilema, por su parte, ha aumentado tanto en extensión como en número y tamaño de sus vasos. Los tubos cribosos del floema solamente son funcionales durante un periodo vegetativo ya que después son aplastados por el crecimiento vascular del siguiente periodo. En las plantas leñosas como los cítricos, los tejidos conductores se renuevan año tras año para hacer frente a las exigencias conductoras y mecánicas que demanda el continuo crecimiento de la copa. Una vez ha finalizado su desarrollo primario, el anillo cambial continua dividiéndose produciendo floema hacia afuera y xilema hacia adentro. Con cada ciclo de crecimiento se va depositando un anillo vascular fácilmente distinguible compuesto fundamentalmente por vasos xilemáticos.

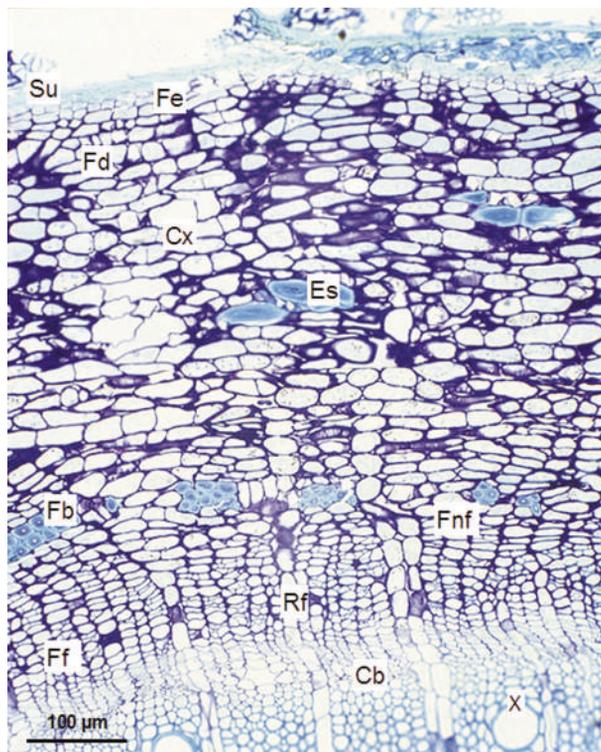


Figura 4.5. Sección transversal de un tallo de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) de alrededor de 1 cm de diámetro. Cb = cambium; Cx = córtex; Es = esclereidas; Fb = fibras; Fd = felodermis; Fe = felógeno; Ff = floema funcional; Fnf = floema no funcional; Rf = radio floemático; Su = súber; X = xilema. Tinción: Azul de toluidina.

El volumen del cilindro central y el grado de diferenciación de los elementos vasculares del tallo también dependen del número de estructuras, tanto vegetativas (hojas) como reproductivas (flores) que contenga. La superficie en sección transversal del cilindro central de tallos que soportan el crecimiento de inflorescencias sin hojas es siempre menor que la de aquellos con inflorescencias con

hojas, mientras que los tallos vegetativos que soportan únicamente el crecimiento de hojas se sitúan entre estos dos extremos (Erner y Shomer, 1996).

El análisis de los elementos conductores del xilema muestra que, tal como sucede en las raíces (ver capítulo 3), los tallos de los patrones más vigorosos poseen una mayor capacidad física para el transporte de agua, es decir, presentan unos elementos conductores más desarrollados (Moya 2000). En el citrange Carrizo, tanto las tráqueas (vasos) como las traqueidas tienen un grosor superior a las observadas en el mandarino Cleopatra. Además, Carrizo también presenta una abundancia de vasos por mm^2 mayor (Fig. 4.6).

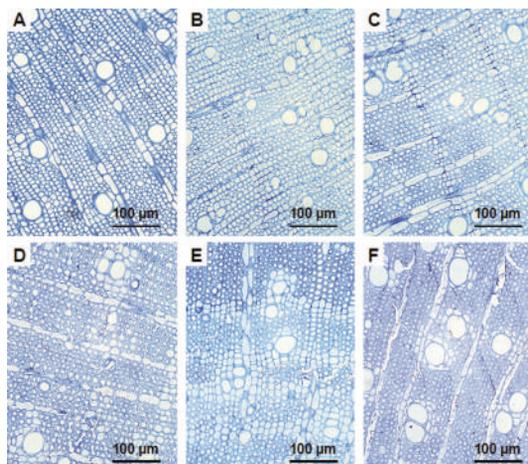


Figura 4.6. Sección transversal de xilema secundario de tallos de plantas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* [L.] Osb. x *Poncirus trifoliata* [L.] Raf.) (A), mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (D) y de plantas de Carrizo injertadas sobre Cleopatra (B, E) y de Cleopatra sobre Carrizo (C, F). En las plantas injertadas, las microfotografías B y C corresponden a la zona de tallo de Carrizo, mientras que E y F corresponden a la de Cleopatra. Tinción: Azul de toluidina.

Cuando injertamos entre si ambos patrones, podemos distinguir dos zonas en el tallo, una inferior correspondiente al patrón y otra superior que corresponde a la planta injertada. El tamaño de los vasos en las dos zonas del tallo de las plantas de Carrizo injertadas sobre Cleopatra es muy similar, y con valores cercanos a los obtenidos en plantas de Cleopatra sin injertar. Cuando Cleopatra crece sobre Carrizo, en la zona de tallo correspondiente a Cleopatra el área de los vasos se duplica respecto a una planta de Cleopatra normal, no variando en la correspondiente a Carrizo (Fig. 4.6). En las plantas injertadas, cada zona del tallo presenta una abundancia de vasos por mm^2 similar a su respectiva especie, excepto en la zona de tallo de Cleopatra de las plantas de Cleopatra injertadas sobre Carrizo, donde la densidad aumenta en un 27%. Por tanto, la capacidad física del tallo para transportar agua está condicionada por el sistema radicular, de forma que las raíces de Carrizo inducen vasos xilemáticos de mayor luz en los tallos, que las raíces de Cleopatra.

4.2. LA HOJA.

Las hojas son estructuras con forma plana que se desarrollan como consecuencia del crecimiento intercalar del ápice vegetativo. Su principal función es la transformación de la energía luminosa en metabólica mediante la fotosíntesis y el desprendimiento de vapor de agua que se pierde por la transpiración. Inicialmente, la hojas son importadoras netas de los fotoasimilados (azúcares) producidos por las estructuras más viejas y, a medida que se desarrollan y aumentan su superficie, pasan a ser exportadoras netas de fotoasimilados. Durante un periodo de tiempo compiten pues por la fuente de energía metabólica con los frutos en desarrollo. El tiempo medio de vida de una hoja de cítricos es de tres años.

La hoja de los cítricos está formada por el peciolo y el limbo (Fig. 4.7). El peciolo es la estructura que une la hoja al tallo, mientras que el limbo desarrolla la función fotosintética. En el limbo podemos distinguir una cara adaxial o haz y una abaxial o envés que está tapizada de estomas.

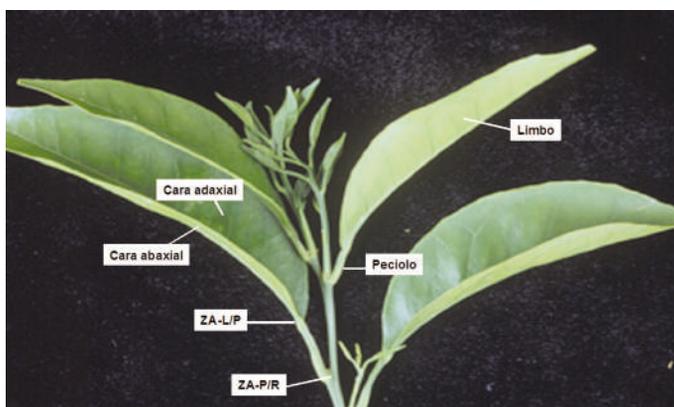


Figura 4.7. Brote vegetativo de mandarina Clementines (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.). ZA-L/P = zona de abscisión limbo/peciolo; ZA-P/R = zona de abscisión peciolo/rama.

4.2.1. Estructura del limbo foliar.

La estructura interna del limbo foliar se ha adaptado espacialmente para realizar la fotosíntesis y controlar la pérdida de agua por transpiración. En el limbo encontramos tres tejidos diferentes (Fig. 4.8): el superficial o epidermis que recubre tanto la cara adaxial como la abaxial, el asimilador o mesófilo que realiza la fotosíntesis y el conductor formado por los haces vasculares.

La epidermis es una monocapa formada por células parenquimáticas y realiza dos funciones a simple vista incompatibles, proteger a la planta de la desecación y permitir el intercambio gaseoso. Para ello, desarrolla una capa semipermeable a los gases denominada cutícula perforada por poros, los estomas, que pueden llegar a cerrarse completamente.

Entre las epidermis de las dos caras del limbo se encuentra el mesófilo, formado también por células de naturaleza parenquimática especializadas en realizar la fotosíntesis. En los cítricos el mesófilo es bifacial. En la hoja joven, el mesófilo es un tejido compacto e indiferenciado, sin apenas espacios intercelulares (ver Fig. 4.11A), en comparación con su apariencia en la hoja madura, cuando ha finalizado su desarrollo. En la parte adaxial se encuentra el parénquima en empalizada,

compuesto por células alargadas dispuestas en columna y orientadas perpendicularmente a la superficie de la hoja. En la capa celular más externa se observan células más voluminosas y redondeadas que las que las rodean que contienen cristales de oxalato cálcico, denominadas idioblastos, y que se encajan entre las células epidérmicas. Debajo del parénquima en empalizada se dispone el parénquima lagunar, compuesto por células redondeadas con amplios espacios intercelulares. Estos espacios vacíos suelen ser especialmente grandes en la proximidad de los estomas y forman las denominadas cámaras subestomáticas.

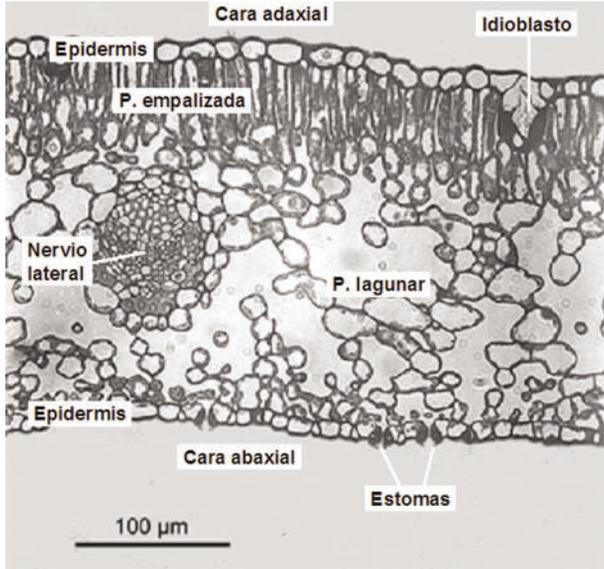


Figura 4.8. Sección transversal de una hoja madura de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.). Tinción: Azul de toluidina.

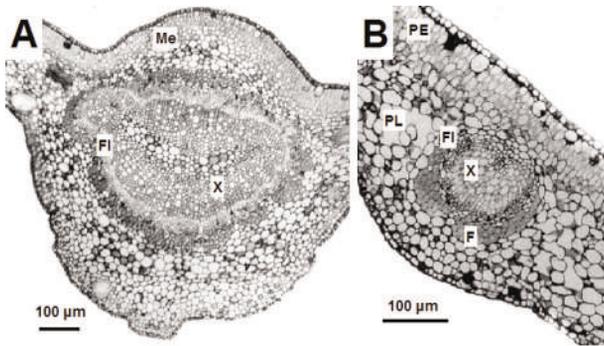


Figura 4.9. Secciones transversales de hojas de naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) mostrando la estructura de los nervios central (A) y laterales (B). F = fibras esclerenquimáticas; FI = floema; Me = mesófilo; PE = parénquima en empalizada; PL = parénquima lagunar; X = xilema. Tinción: Acido periódico - reactivo de Schiff.

El tejido conductor está formado por un haz vascular o nervio principal y varios haces o nervios secundarios o laterales del tipo colateral abierto (Fig. 4.9).

4.2.2. Estructura del peciolo.

El peciolo es la estructura que une la hoja al tallo, y a través de ella circulan tanto el agua y los nutrientes que necesita la hoja, como las sustancias que sintetizadas en la hoja son exportadas al resto de la planta.

Los peciolo pueden ser casi cilíndricos, o presentar zonas laterales aplanadas que asemejan una prolongación del limbo foliar. En estas zonas laterales encontramos los mismos tipos celulares dispuestos de forma similar a la observada en el limbo foliar (Fig. 4.10).

La parte central del peciolo está ocupada por un cilindro de elementos conductores dispuestos de forma concéntrica. El centro de esta estructura está ocupado por la médula, formada por células parenquimáticas muy densamente empaquetadas. Rodeando la médula, se encuentra un anillo de varias capas de células xilemáticas, que a su vez está envuelto por un anillo exterior de células floemáticas. Entre ambos tejidos conductores encontramos una capa de células meristemáticas. Por fuera del floema aparecen grupos de esclereidas, células muertas con paredes muy engrosadas que aportan rigidez al peciolo. La parte más exterior está ocupada por células parenquimáticas, y por último una epidermis rodea todo el peciolo.

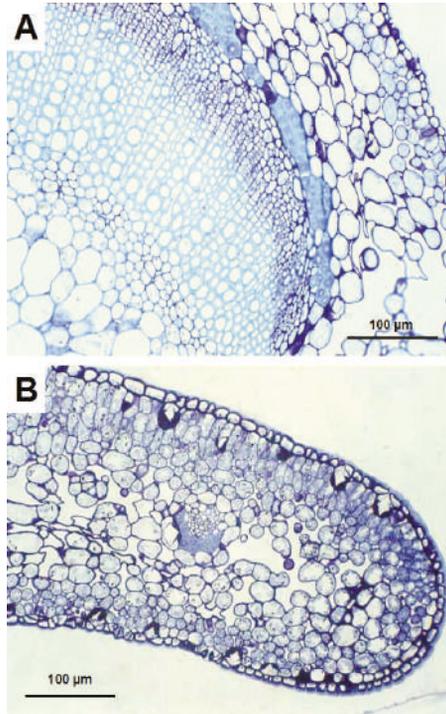


Figura 4.10. Sección transversal del peciolo lobulado de hojas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* [L.] Osb. x *Poncirus trifoliata* [L.] Raf.). (A) Zona central. (B) zona lateral. Tinción: Azul de toluidina.

El tamaño de los elementos conductores del peciolo también está influenciado por el genotipo del sistema radicular sobre el que crecen tanto el tallo como las hojas (Moya 2000). De ese modo, la luz media de los vasos de xilema del peciolo de Carrizo es un 50% superior al de los peciolos de Cleopatra. Cuando injertamos Cleopatra sobre Carrizo el área media de los vasos xilemáticos del peciolo de Cleopatra aumenta 1.4 veces, mientras que cuando Carrizo crece sobre Cleopatra sucede lo contrario y el área se reduce.

4.2.3. Cambios anatómicos relacionados con la abscisión.

Las hojas, dependiendo de las condiciones medioambientales y de la conclusión de su ciclo vital, pueden desprenderse del árbol por dos zonas de abscisión (ZA): limbo-peciolo y peciolorama. Esta última zona de abscisión se activa únicamente cuando la hoja senesce al haber completado su ciclo vital. Por el contrario, la zona de abscisión limbo-peciolo puede activarse por tratamientos químicos con etileno o con la sustancia liberadora de etileno conocida como etefón o también por condiciones medioambientales adversas.

Morfológicamente, la zona de abscisión limbo-peciolo (ZA-L/P) presenta dos superficies, adaxial y abaxial, recorridas por un estrangulamiento o acanaladura. La porción interna del estrangulamiento está rodeada por entre 10 y 15 capas de células corticales de pequeño tamaño y con abundantes depósitos de almidón en su interior que constituyen, anatómicamente hablando, la zona de abscisión (Goren, 1993). Las células corticales situadas en posición distal y proximal a las células de la zona de abscisión están, sin embargo, prácticamente desprovistas de acúmulos de almidón. El primer cambio anatómico en la zona de abscisión, la formación de una capa de separación en las células próximas al estrangulamiento, se produce tras 16-24 h de exposición de las hojas al etileno. El citoplasma de estas células se vuelve más denso que el de las células que las rodean apareciendo en su interior abundantes lisosomas y sus paredes se vuelven más gruesas y se tiñen intensamente por los colorante afines a polisacáridos. A las 50 h después del tratamiento con etileno la intensa coloración para polisacáridos desaparece y las paredes toman una apariencia gelatinosa, síntoma de que se está produciendo su degradación. Finalmente, una vez desintegrado el tejido de la zona de separación y los tejidos conductores por un proceso lisogénico, las hojas se desprenden del árbol.

En el mutante de Washington Navel denominado Ricalate (*Citrus sinensis* L. Osb.), el etileno únicamente es capaz de promocionar la abscisión en explantos de hojas jóvenes (Zacarías y cols., 1993). Aunque las ZA-L/P de los explantos de hojas maduras (12 meses de edad) de Ricalate responden y producen etileno a niveles similares a los del parental Washington Navel y el etileno induce el mismo incremento en las actividades poligalacturonasa y celulasa en ambas variedades (Stead y cols., 1996), no se concluye el proceso de abscisión. La ZA-L/P en Ricalate presenta ciertas modificaciones estructurales que cambian el patrón normal de abscisión. Esta ZA solamente presenta estrangulamiento o acanaladura en la superficie abaxial y es aquí donde el etileno induce la degradación de las paredes de las células que la componen (Stead y cols., 1996). En la porción adaxial, la ZA no está diferenciada y las paredes de las células son sensiblemente más gruesas que sus homólogas en el parental Washington Navel.

4.2.4. Cambios anatómicos inducidos por diferentes condiciones de estrés.

Las hojas de los cítricos experimentan cambios o sufren daños en su anatomía como consecuencia del efecto de diferentes estreses, bióticos, como por ejemplo los causados por el ataque de insectos, o abióticos, como por ejemplo los causados por la salinidad.

El ácaro *Phyllocoptruta oleivora* Ashm. ataca tanto al peciolo como a la cara adaxial de la hoja de cítricos, produciendo la aparición de zonas de coloración oscura como resultado de las múltiples punteaduras producidas por sus estiletes (Achor y cols., 1991). Las células epidérmicas afectadas de la hoja quedan prácticamente vacías de orgánulos, aunque rápidamente se rellenan de un material parecido a la cutina. Estas células se necrosan, apareciendo muy densas a los electrones, y en sus paredes celulares se depositan tanto lignina, como goma y suberina. A continuación, las células necrosadas son reemplazadas por nuevas células como resultado de la activa división que se produce en las células adyacentes. La división celular que se produce en el parénquima en empalizada representa el inicio en la formación de una capa protectora peridérmica. En los tejidos seriamente dañados, la peridermis está compuesta por 5-6 capas de células alargadas, la felodermis, una capa de células colapsadas con paredes gruesas suberizadas, el súber, y las células epidérmicas necrosadas. Ultraestructuralmente, las paredes de las células del súber presentan las láminas típicas de la suberina.

El minador de hojas de cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton) es una plaga de origen asiático cuya presencia se detectó en España a principios de los años 90 (García-Marí y cols., 1997). El minador ataca a las hojas jóvenes en desarrollo procedentes, principalmente, de la brotación de verano. La estimación de daños indica que *P. citrella* destruye entre el 50 y el 60% de la superficie foliar producida entre los meses de Julio y Octubre. El minador pone los huevos en la superficie abaxial de hojas muy jóvenes, de 1 a 2,5 cm de longitud, cerca del nervio central. Una vez eclosionan los huevos, las larvas atacan únicamente la epidermis abaxial y, a medida que se alimentan del contenido de las células, van creciendo y excavando una galería en la hoja (Garrido y cols. 1998). En su recorrido por la hoja, las larvas parecen dejar intactas las paredes periclinales de las células epidérmicas (Fig. 4.11). Las paredes periclinales internas separan a las larvas del mesófilo de la hoja y las externas del medio ambiente adverso. A medida que la hoja crece, las larvas se desarrollan y alcanzan la fase adulta después de haber recorrido la mayor parte de su envés. A pesar de no existir una epidermis activa y funcional, los estratos celulares del parénquima lagunar más cercanos a ella no presentan síntomas aparentes de deterioro, aunque su tamaño es menor y su citoplasma más denso. En las paredes periclinales epidérmicas pueden observarse los restos de las paredes anticlinales destruidas por las larvas.

Las especies de cítricos consideradas como tolerantes y sensibles a la salinidad, como el mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) y el citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.), respectivamente, responden al riego con una solución de NaCl 30 mM ralentizando el desarrollo del tallo y reduciendo el número de hojas que soporta (Romero-Aranda y cols., 1998). Además, el NaCl disminuye también la superficie de las hojas que permanecen en el árbol, aunque éstas se vuelven más carnosas o suculentas. La salinidad incrementa el espesor de la hoja debido, fundamentalmente, a los cambios que induce sobre las características anatómicas y celulares del parénquima lagunar (Fig. 4.12). El NaCl incrementa considerablemente el volumen de las células del parénquima lagunar y reduce, en general, el volumen del mesófilo ocupado por espacios aéreos intercelulares. Por tanto, el mesófilo de la hoja se transforma con la salinidad en un tejido más compacto y grueso que el normal, lo que afecta, entre otras cosas, al intercambio gaseoso fotosintético.

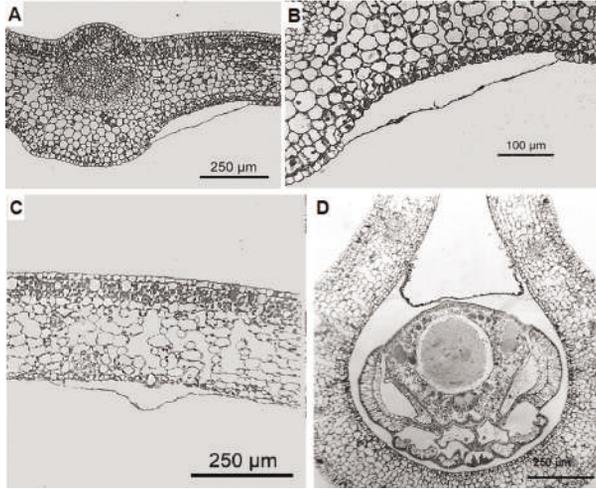


Figura 4.11. Secciones transversales de hojas de naranjo amargo (*Citrus aurantium* L.) parasitadas de minador de los cítricos (*Phyllocnistis citrella* Stainton). Las figuras A y B corresponden a secciones de hojas jóvenes, mientras que las figuras C y D corresponden a secciones de una hoja madura. La figura D muestra como la larva ha aprovechado la curvatura de la hoja para construir el pupario. Tinción: Azul de toluidina.

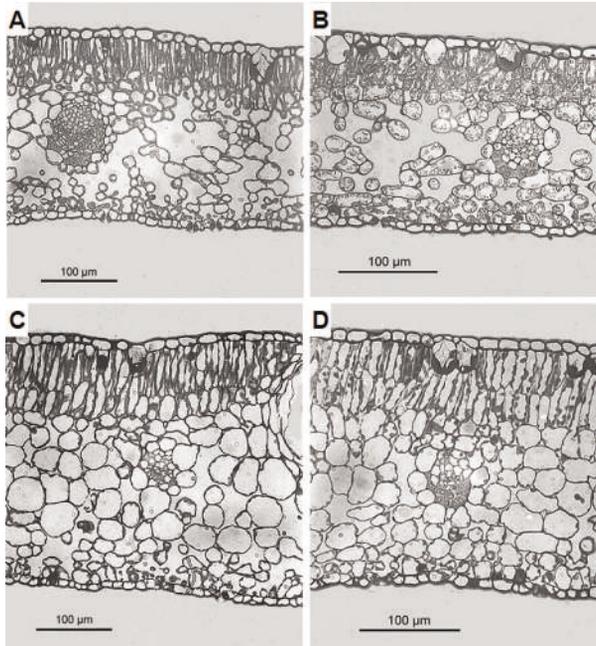


Figura 4.12. Secciones transversales de hojas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (A, C) y de mandarina Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (B, D). Las secciones C y D corresponden a hojas pertenecientes a plantas tratadas durante 3 meses con una solución 30 mM de NaCl. Tinción: Azul de toluidina.

Si nos fijamos en los distintos tipos celulares de las hojas vemos como la exposición a la salinidad provoca la reducción en el tamaño de las células del parénquima en empalizada, que llega a ser del orden de un 30 % menor que en las hojas no salinizadas (Moya 2000). Esta reducción se debe principalmente a una disminución del citoplasma de hasta en un 50 %. El volumen celular ocupado por la vacuola aumenta considerablemente y pasa del 20 % en las células control, al 50 % en las células salinizadas (Fig. 4.13).

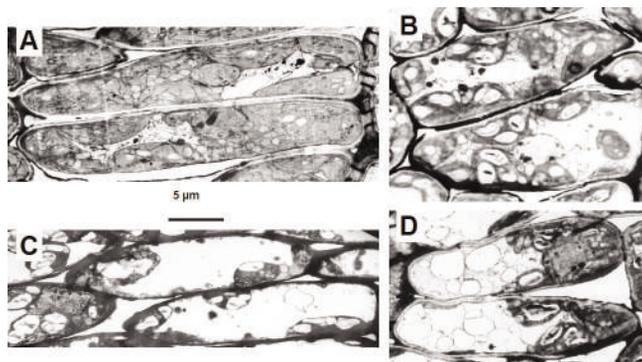


Figura 4.13. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de secciones transversales de células del parénquima en empalizada de hojas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (A, C) y mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (B, D). Plantas control (A, B), plantas tratadas con 60 mM de NaCl durante 120 días (C, D). Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Los cambios más drásticos se observan en las células del parénquima lagunar, y en mayor medida en el patrón citrange Carrizo, sensible a la salinidad. Así, el tratamiento salino casi duplica el tamaño de estas células en Cleopatra y lo triplica en Carrizo. El tamaño del citoplasma no se modifica, pero la vacuola aumenta más de 4 veces, llegando a ocupar más del 75 % del volumen de este tipo celular en ambos patrones (Fig. 4.14).

La salinidad también provoca alteraciones tanto en los orgánulos como en las estructuras subcelulares. Un ejemplo claro lo constituyen los cloroplastos, en los que la salinidad causa un incremento notable en su contenido en almidón, que llega a ocupar el 70 % del volumen del cloroplasto, afectando a las estructuras fotosintéticas (Moya 2000). La salinidad también causa un descenso en el número de cloroplastos por célula.

La exposición a la salinidad provoca un aumento paulatino en los niveles foliares de elementos potencialmente tóxicos como son el sodio y el cloruro. La acumulación de iones, sobre todo el cloruro, se relaciona con la mayoría de las alteraciones fisiológicas y anatómicas causadas por la salinidad (Romero-Aranda y cols. 1998). Mediante el empleo de la microscopía electrónica de barrido acoplada a un detector de rayos X se ha comprobado que la distribución de estos iones en los diferentes compartimentos celulares de la hoja de los patrones citrange Carrizo y mandarino Cleopatra es muy similar, y no parece existir un mecanismo efectivo de compartimentalización de iones tóxicos en la vacuola que posibilite un buen funcionamiento de la maquinaria metabólica citoplasmática (Moya 2000).

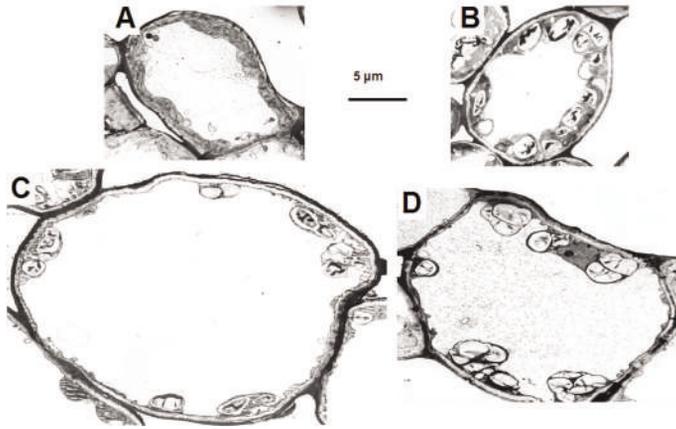


Figura 4.14. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de secciones transversales de células del parénquima lagunar de hojas de citrange Carrizo (*Citrus sinensis* L. Osb. x *Poncirus trifoliata* L. Raf.) (A, C) y mandarino Cleopatra (*Citrus reshni* Hort. ex Tan.) (B, D). Plantas control (A, B), plantas tratadas con 60 mM de NaCl durante 120 días (C, D). Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

5. LA FLOR Y EL FRUTO

La función reproductiva de los cítricos, como ocurre en todas las plantas angiospermas, se localiza en un órgano especial, la flor. En ella se reúnen los elementos sexuales necesarios para llevar a cabo el proceso reproductor.

La floración es la primera fase del proceso reproductivo y culmina con la antesis o apertura de la flor. La floración comienza con la inducción floral, es decir, con la transición o el paso de una yema vegetativa a una yema reproductiva. A continuación se produce la diferenciación y maduración de cada uno de los verticilos o elementos florales. La antesis, como ya hemos dicho, constituye el final de la floración y, al mismo tiempo, marca el inicio de la segunda fase del proceso reproductivo, la fructificación. Durante esta etapa, el ovario crece y se desarrolla hasta convertirse en un fruto maduro, tanto desde el punto de vista fisiológico como comercial.

5.1. MORFOLOGÍA DE LA FLOR

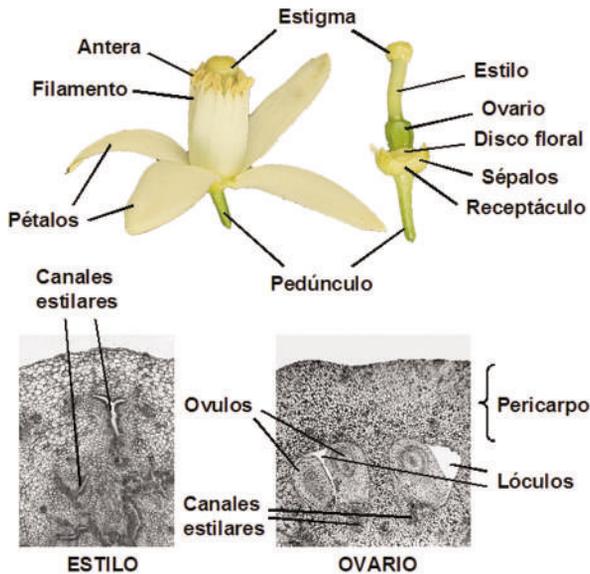


Figura 5.1. Morfología y anatomía de la flor de cítricos en el estadio fenológico de antesis.

En general, la flor de los cítricos está compuesta por unos elementos protectores y unos elementos propiamente reproductivos (Fig. 5.1). La flor presenta 5 sépalos ovales dispuestos en círculo sobre el receptáculo que se localiza en la porción apical del pedúnculo. El conjunto de sépalos forma el cáliz. Dispuestos en posición alterna a los sépalos se encuentran 5 pétalos que forman la corola. El cáliz y la corola forma el perianto. Los pétalos envuelven directamente a los órganos propiamente reproductivos, el androceo y el gineceo. El androceo está compuesto por entre 20 y 40 estambres, dependiendo de la variedad, que están formados por un filamento y por una antera tetralobular. Los filamentos suelen estar unidos parcialmente por su porción basal y soldados a la base

del disco floral, una estructura de origen carpelar (Schneider, 1968) localizada en el receptáculo. Los estambres rodean al gineceo, que está compuesto por el ovario, el estilo y el estigma. El ovario contiene un número variable de carpelos fusionados o lóculos que son los precursores de los segmentos en el fruto. Por ejemplo, en el género *Fortunella* el ovario puede contener entre 3 y 7 carpelos, mientras que en los géneros *Citrus* o *Poncirus*, más de 7 carpelos. Cada lóculo contiene entre 4 y 5 óvulos que podrán transformarse o no en semillas. Al exterior de los lóculos encontramos el pericarpo o pared del ovario. En él podemos distinguir tres regiones; una externa denominada exocarpo, una intermedia, el mesocarpo, y la más interna denominada endocarpo. En la porción distal del ovario encontramos el estilo, que presenta una estructura cilíndrica y está atravesado por tantos canales como lóculos tiene el ovario. Estos canales, denominados canales estilares, constituyen el tejido de transmisión por el que viajarán los tubos polínicos y desembocan en los lóculos del ovario. En el extremo superior del estilo encontramos un estigma globular que recibirá, durante su periodo receptivo, a los granos de polen. El periodo receptivo del estigma, dependiendo de la especie y de la variedad de cítricos, puede extenderse desde 3 días antes de la antesis o apertura de la flor hasta 8 días después.

5.2. VASCULARIZACIÓN DE LA FLOR

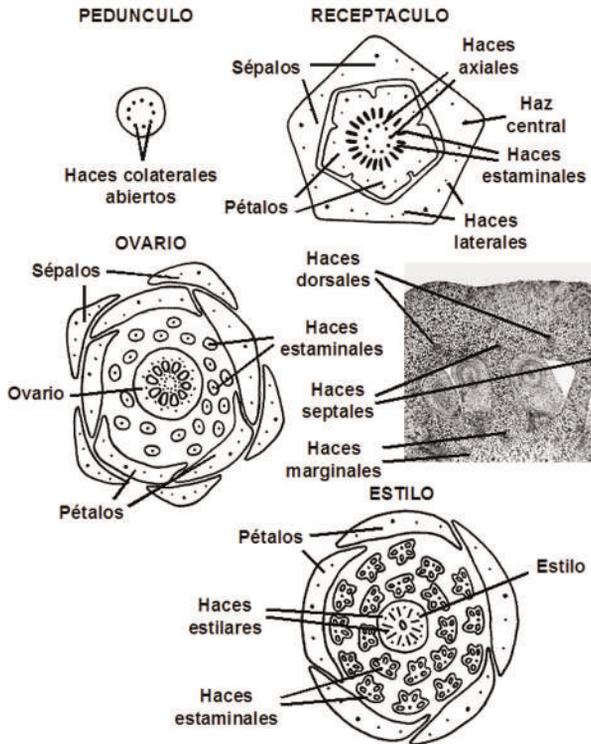


Figura 5.2. Representación esquemática de la vascularización de la flor de los cítricos a nivel del pedúnculo, del receptáculo, del ovario y del estilo.

El sistema vascular de la flor de los cítricos representa una red muy ramificada de haces primarios y secundarios (Fig. 5.2). Toda la red vascular deriva del sistema formado por 7 a 9 haces colaterales abiertos que transitan por el pedúnculo. Al llegar a la base del receptáculo los haces que llegarán hasta las estructuras del perianto, sépalos y pétalos, se separan formándose los haces centrales y los laterales. En el centro del receptáculo se mantiene el sistema de haces vasculares axiales. Los haces vasculares de los estambres, llamados haces estaminales, entre 20 y 40 dependiendo de la variedad, se ramifican a partir del sistema axial una vez lo han hecho los haces que van a los pétalos. En el ovario, el sistema vascular se ramifica considerablemente. Los haces axiales forman un cilindro discontinuo en el eje central del ovario. De ellos divergen los haces ovulares y los haces marginales. En la porción más interna de la pared del ovario, entre el mesocarpo interno y el endocarpo, se localizan los haces septales, enfrentados a los septos de los lóculos, y los haces dorsales, situados hacia el centro de los lóculos. Los haces septales, los dorsales y los marginales se unen en la parte superior de los lóculos transformándose en los haces estilares.

5.3. MORFOLOGÍA DEL FRUTO

El fruto de los cítricos es un tipo de baya, denominado botánicamente hesperidio, cuya parte externa es relativamente rígida y la interna, la parte comestible, está dividida en segmentos o gajos (Fig. 5.3). Las capas externas del fruto se denominan, colectivamente, piel o corteza. La porción más externa de la piel, coloreada, se denomina flavedo y la interna, incolora excepto en algunas variedades de pomelo (*Citrus paradisi* Macf.), se denomina albedo. La piel de la mayoría de los frutos cítricos se considera no comestible debido a la gran cantidad de glándulas de aceite que contiene el flavedo, aunque en los kumquats (*Fortunella crassifolia* Swingle) es dulce y puede comerse junto con la pulpa. El flavedo está formado por células de naturaleza parenquimática densamente empaquetadas en el tejido. En la parte más externa del flavedo encontramos una fina cutícula. El albedo está compuesto también por células parenquimáticas aunque débilmente empaquetadas y con grandes espacios intercelulares entre ellas que confieren a este tejido su apariencia esponjosa característica. La porción interna del fruto se denomina pulpa y está compuesta por segmentos o gajos, con forma de media luna en sección longitudinal, que rodean al eje central del fruto. El número y tamaño de los segmentos es característico de cada especie y variedad. Los segmentos están compuestos por septas que envuelven a las vesículas, en donde se almacena el zumo, y a las semillas que puedan haberse formado por fecundación de los óvulos. Las vesículas derivan de la superficie adaxial del endocarpo de la pared del ovario y son sáculos multicelulares con una diminuta glándula de aceites esenciales en el centro. Las vesículas tienen forma de huso y están unidas al septo por un corto pedúnculo filiforme. El sistema vascular del fruto conserva la misma estructura ya descrita en el ovario de la flor.

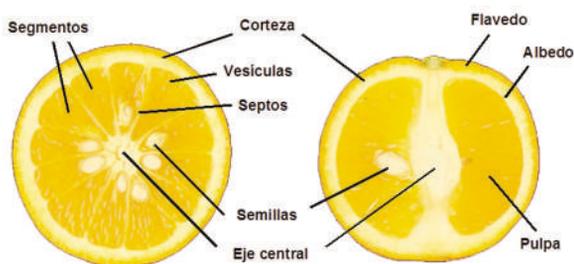


Figura 5.3. Secciones transversal (izquierda) y longitudinal (derecha) de un fruto maduro de naranjo dulce Blanca común (*Citrus sinensis* L. Osb.).

En algunas ocasiones, en el extremo estilar del fruto aparece un fruto secundario, de pequeño tamaño, que se denomina comúnmente navel (Fig. 5.4). El primordio de este carpelo secundario se diferencia en la yema floral una vez lo ha hecho el principal (Lima y Davies, 1984) y su presencia es característica de las naranjas pertenecientes al grupo Navel, aunque también aparece en algunas mandarinas (Spiegel-Roy y Goldschmidt, 1996).



Figura 5.4. Sección longitudinal de un fruto maduro de navelina (*Citrus sinensis* L. Osb.) en donde puede observarse el fruto secundario o navel en su extremo estilar.

5.4. LA FLORACIÓN.

La floración tiene lugar tras un prolongado periodo juvenil de la planta de cítricos cuya duración depende tanto de las condiciones medioambientales como de la especie y la variedad. Las especies vigorosas, como por ejemplo la lima (*Citrus aurantifolia* Christm. Swing.) y el limón (*Citrus limon* L. Burm.), presentan en condiciones de cultivo subtropicales periodos juveniles de aproximadamente 2 años, mientras que en los mandarinos (*Citrus* sp.), los naranjos dulces (*Citrus sinensis* L. Osb.) y los pomelos (*Citrus paradisi* Macf.) este periodo puede prolongarse entre 5 y 10 años.

En condiciones climáticas subtropicales como la nuestra, los cítricos producen 3 brotaciones al año, aunque la brotación de primavera es la que, en general, desarrolla la floración más intensa y abundante. Sin embargo, en condiciones climáticas tropicales, con una alta temperatura media a lo largo del año, las brotaciones y el crecimiento es casi continuo, siempre y cuando la disponibilidad de agua no suponga un problema.

Las condiciones medioambientales, principalmente la temperatura y el aporte hídrico, regulan la inducción floral en los cítricos. En las regiones con clima subtropical, el frío es el factor medioambiental más importante en el control de la floración. Sin embargo, en las regiones con clima tropical es el estrés hídrico. En general, son necesarios alrededor de 30 días de estrés hídrico en condiciones de campo para inducir la diferenciación de un número significativo de yemas florales. Estas yemas comenzarán su desarrollo entre 3 y 4 semanas después de la lluvia o el riego (Davies y Albrigo, 1994).

La diferenciación de la yema floral implica una serie de cambios morfológicos en la anatomía del meristemo vegetativo que consisten en el ensanchamiento y alisamiento de su porción apical

(Lord y Eckard, 1985). La organogénesis floral tiene lugar de forma acropétala, es decir, desde los órganos más externos a los más internos, y comienza con la formación de los verticilos o elementos protectores, los sépalos y los pétalos. A continuación se produce la diferenciación de las estructuras propiamente reproductivas, los estambres y los carpelos. Estos cambios en el meristemo floral se producen, en las regiones con clima subtropical localizadas en el Hemisferio Norte, entre los meses de Diciembre y Enero. En el mes de Febrero pueden reconocerse ya fácilmente las yemas florales y, entre dos y tres meses después, los elementos de la flor ya han madurado y se producirá la antesis o apertura de la flor.

La floración puede subdividirse en una serie de estadios fenológicos atendiendo a las características tanto externas como internas del brote floral (Fig. 5.5). En el estadio floral A los pétalos comienzan a ser visibles, aunque los sépalos los recubren casi completamente. Los extremos apicales de las anteras se localizan a nivel del estigma. En el estadio floral B los pétalos han alcanzado casi la mitad de su tamaño final y los extremos apicales de los sépalos se encuentran a mitad de camino entre la base y el ápice de los pétalos. El estigma en este estadio sobresale de las anteras. En el estadio floral C los pétalos casi han alcanzado su tamaño definitivo, aunque se solapan aún unos con otros. Los filamentos de los estambres han elongado ya considerablemente. En el estadio floral D los pétalos están a punto de abrirse y, en realidad, pueden hacerlo al aplicar una leve presión sobre ellos. En este estadio, dependiendo de la variedad, pueden encontrarse ya algunas anteras dehiscentes. El siguiente estadio floral corresponde a la antesis o apertura de la flor.



Figura 5.5. Estadios fenológicos de la flor de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.).

5.5. LA FRUCTIFICACIÓN

La fructificación, es decir, el proceso mediante el cual el ovario crece y se desarrolla hasta convertirse en un fruto maduro tanto fisiológica como comercialmente, comienza tras la antesis y se prolonga entre 6 y 16 meses, en función de la especie y la variedad. En el momento de la antesis, el estigma es receptivo a los granos de polen que han madurado ya en las anteras y puede comenzar la polinización. En las variedades de cítricos autocompatibles, la autopolinización puede producirse por contacto directo de las anteras con el estigma o por medio de insectos polinizadores. En el primer caso, las anteras se rompen o alcanzan la dehiscencia antes de la antesis. A este proceso de polinización antes de la apertura de la flor se le denomina cleistogamia. Las abejas, sin embargo, son los principales agentes responsables de la polinización cruzada en las variedades autoincompatibles de los cítricos. Una vez el grano de polen ha alcanzado el estigma, se hidrata gracias a las secreciones estigmáticas y germina emitiendo una prolongación del citoplasma denominada tubo polínico (Fig. 5.6A). En el ápice del tubo polínico se encuentran 3 núcleos: el núcleo vegetativo que gobierna las funciones tróficas del tubo polínico y dos núcleos generativos que se fusionarán, respectivamente, con la oosfera para formar el cigoto y con los dos núcleos polares para formar el endospermo. El tubo polínico penetra en el estigma y desciende por el estilo hasta alcanzar los lóculos del ovario siguiendo el camino marcado por los canales estilares (Fig. 5.6B). Sin embargo, los tubos polínicos pueden seguir también un camino más tortuoso por el estilo a través de los espacios intercelulares de sus células corticales. Este camino a través del córtex exige constantes cambios en la dirección de crecimiento del tubo polínico que están marcados por una fuerte deposición de calosa. Ya en los lóculos, los tubos polínicos alcanzan la nucela del óvulo a través del micropilo y contactan con el saco embrionario produciéndose la fecundación. A este tipo de fecundación se la denomina porogámica.

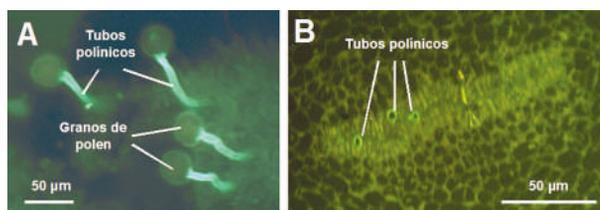


Figura 5.6. Germinación del grano de polen en el estigma (A) y sección transversal del estilo (B) de la flor del híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.) mostrando varios tubos polínicos en su tránsito, por uno de los canales estilares, hacia los lóculos del ovario. Tinción: Azul de anilina.

La fertilización conduce a la formación de la semilla que, en general, puede considerarse como un requisito para que el fruto de algunas variedades de cítricos cuaje y se desarrolle. La ausencia de fertilización y, por tanto, de crecimiento de la semilla, conduce irreversiblemente en estas variedades a la caída o abscisión precoz del ovario. Por ejemplo, las flores del naranjo dulce Pineapple (*Citrus sinensis* L. Osb.) abscinden en tres días si no se polinizan o no son tratadas con ácido giberélico (Ben-Cheick y cols., 1997). Sin embargo, existen otras variedades capaces de producir frutos sin semillas, es decir, son variedades partenocárpicas. El hecho de que el ovario de estas variedades partenocárpicas pueda continuar su crecimiento sin que para-

lamente se desarrollen las semillas no quiere decir que estén exentas de experimentar el proceso de abscisión. La capacidad partenocárpica de las variedades para producir frutos sin semillas está relacionada con los diferentes tipos de esterilidad gamética que pueden producirse. La esterilidad gamética puede ser relativa o absoluta. La esterilidad gamética relativa representa tanto la autoincompatibilidad gamética o incapacidad de producir embriones por autopolinización, aunque los gametos sean perfectamente viables, como la incompatibilidad cruzada o incapacidad para formar gametos por polinización cruzada. En cualquiera de estos casos, el grano de polen germina al entrar en contacto con el exudado del estigma y comienza el crecimiento del tubo polínico; sin embargo, éste no progresa más allá de las papilas estigmáticas y, morfológicamente, presenta deposiciones irregulares de calosa (Kahn y DeMason, 1986; 1988). Por ejemplo, en el mandarino Clemenules (*Citrus clementina* Hort. ex Tan.) y en el híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.), el crecimiento de los tubos polínicos no progresa más allá del extremo apical del estilo cuando se fuerza la autopolinización en el estadio fenológico de flor abierta o antesis (Perez-Botella y cols., 1997). Sin embargo, cuando la autopolinización se fuerza en el estadio de flor cerrada, solamente en el híbrido Fortune pueden encontrarse tubos polínicos a nivel de los lóculos del ovario. Así, mientras Clemenules es una variedad completamente autoincompatible, Fortune, sin embargo, no lo es. Por otra parte, la polinización cruzada recíproca entre Clemenules y Fortune es muy efectiva, tanto cuando se realiza en flor cerrada como en antesis, y pueden encontrarse tubos polínicos en los lóculos del ovario. La esterilidad gamética absoluta puede ser masculina (incapacidad para producir polen funcional) o femenina (incapacidad para producir sacos embrionarios). Dos buenos ejemplos de esterilidad gamética masculina son el naranjo dulce Washington Navel (*Citrus sinensis* L. Osbeck) y el mandarino Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.). En la variedad Washington Navel sí se diferencian las células madre del polen, aunque degeneran antes de dividirse y, por tanto, no se produce polen maduro y viable en las anteras (Frost y Soost, 1968). La esterilidad gamética femenina absoluta no es, sin embargo, muy frecuente en los cítricos, aunque existen variedades en las que la mayoría de los óvulos que producen están desprovistos de saco embrionario. Este es el caso, por ejemplo, del mandarino Satsuma (*Citrus unshiu* Marc.), los naranjos dulces Washington navel y Valencia (*Citrus sinensis* L. Osbeck), los pomelos Ruby y Duncan (*Citrus paradisi* Macf.) y los limones Lisbon y Eureka (*Citrus limon* L. Burm.). En todos ellos, excepto en el limón Lisbon, el grado de formación de embriones no sexuales en los óvulos, denominado embriogénesis adventicia o nucelar, es elevado (Wakana y Uemoto, 1987).

El patrón de crecimiento y desarrollo del fruto de los cítricos, medido en tamaño (diámetro, longitud o volumen) o en peso, sigue una curva en el tiempo de tipo sigmoide que puede dividirse en tres estadios o fases que presentan puntos de solapamiento (Bain, 1958).

La **fase I** corresponde a un periodo de crecimiento lento en el que predomina la división celular en todos los tejidos del ovario. Durante esta fase se produce la diferenciación de todos los tejidos que compondrán el fruto. El incremento en tamaño se debe principalmente al crecimiento de los tejidos de la pared del ovario que formarán la corteza o piel del fruto de forma que, al final de esta fase, la corteza alcanza su espesor máximo. Los frutos durante esta fase soportan dos periodos de abscisión. El primero implica a flores y a frutos en el estadio fenológico de caída de pétalos y tiene lugar una vez concluida la polinización. El desprendimiento de las estructuras reproductivas se produce por la zona de abscisión A, situada entre el pedúnculo y el tallo (Schneider, 1968). La segunda fase, llamada "caída de Junio" en el Hemisferio Norte, comienza entre 2 y 3 semanas des-

pués de la primera. En este momento, los ovarios abscinden por la zona de abscisión C, situada en la región de unión entre el disco floral y el ovario. En general, la mayor parte de los frutos que sobrepasan este segundo periodo de abscisión permanecen en el árbol hasta la recolección.

La **fase II** corresponde a un periodo de crecimiento rápido del fruto en el que predomina la elongación celular. El incremento en tamaño del fruto se debe al crecimiento de la pulpa. En esta fase las vesículas de zumo crecen considerablemente y llenan los segmentos o gajos ejerciendo una fuerte presión sobre la corteza del fruto. Cuando concluya esta fase el fruto habrá alcanzado su máximo tamaño.

La **fase III** corresponde a un periodo en el cual el fruto puede incrementar ligeramente su tamaño debido a la elongación celular remanente. En esta fase el fruto madura, aunque el proceso de maduración en los frutos cítricos no sigue un ciclo bien definido en términos fisiológicos. Es decir, el fruto no experimenta cambios notables ni en su capacidad para producir etileno ni en la tasa respiratoria de sus tejidos. El fruto sigue, por tanto, un patrón no climatérico de maduración. La apariencia externa del fruto y las preferencias de los consumidores con respecto al sabor y textura de su parte comestible, de la pulpa, definen el momento de la recolección. Si por diversos motivos la recolección no se produce y el fruto se mantiene en el árbol, éste entra en una etapa senescente durante la cual pierde calidad progresivamente. La calidad para la comercialización en fresco de los frutos cítricos, aunque varía con el mercado de destino de la fruta, debe cumplir unos mínimos en cuanto a la apariencia externa (tamaño, forma, coloración y ausencia de defectos en la superficie) e interna (sabor y textura). Las mermas en la calidad del fruto de origen abiótico se denominan desórdenes fisiológicos y, aunque pueden originarse antes de la maduración, es en esta fase cuando suelen ser muy evidentes.

5.6. ESTRUCTURAS REPRODUCTIVAS.

5.6.1. El pedúnculo.

El pedúnculo de la flor de cítricos es una estructura cilíndrica, de alrededor de 1 cm de longitud y 1 mm de diámetro, que une la estructura reproductiva con el tallo. Anatómicamente podemos distinguir cuatro tejidos diferentes en el pedúnculo: la epidermis, el córtex, los haces o cordones vasculares y la médula. La epidermis es una monocapa de células parenquimáticas que envuelve al córtex, que está constituido por 8-10 capas celulares, también de naturaleza parenquimática. A continuación del córtex encontramos los haces vasculares que rodean al tejido medular parenquimático. En el estadio fenológico de anthesis, el pedúnculo contiene entre 7 y 9 haces vasculares del tipo colateral abierto (Schneider, 1968; Bustan y cols., 1995). En la porción más externa del haz vascular encontramos el protofloema, mientras que en la porción más interna se sitúa el protoxilema. Entre ambos se observan varias capas de células procambiales. El tejido vascular del pedúnculo es anatómicamente muy importante ya que el fruto en desarrollo es un órgano con una fuerte demanda de fotoasimilados sintetizados por las hojas.

La dinámica de crecimiento en grosor del pedúnculo es paralela a la del fruto durante la fase I de crecimiento (Bustan y cols., 1995; Erner y Shomer, 1996). A los 30 días después de la anthesis, el sistema vascular del pedúnculo se ha expandido considerablemente formándose un anillo vascular completo debido a la actividad del cambium. En la porción interior del anillo

encontramos el xilema secundario, rodeado por 5 a 7 capas de células cambiales. En la porción exterior se encuentra el floema secundario que está separado del protofloema por cordones de células esclerenquimatosas. El sistema vascular continúa creciendo hasta los 60 días después de la antesis debido fundamentalmente al intenso desarrollo que experimenta el tejido esclerenquimatoso del floema

Existen diferentes tratamientos exógenos que pueden emplearse para aumentar el tamaño del fruto de los cítricos. Estos tratamientos están orientados tanto a la eliminación de la competencia entre órganos por aclareo manual y químico de flores o frutos como al incremento de la capacidad de crecimiento del fruto por rayado, anillado o incisión anular completa de 1 mm de anchura alrededor de las ramas secundarias o por aplicación de auxinas de síntesis. Estos últimos tratamientos son eficaces cuando se realizan al final de la caída fisiológica de frutos denominada “caída de Junio” en el Hemisferio Norte.

El tratamiento conjunto de rayado y aclareo de frutos puede duplicar el peso fresco que alcanzan los frutos de pomelo Marsh (*Citrus paradisi* Macf.) tras 5,5 meses de tratamiento (Bustan y cols., 1995). Así mismo, el diámetro del pedúnculo también aumenta en el mismo orden de magnitud que lo hace el fruto. Los efectos anatómicos se manifiestan en el pedúnculo solamente 1 mes después del doble tratamiento. La actividad cambial es más intensa que en los pedúnculos de los frutos procedentes de los árboles no tratados y produce tanto floema como xilema secundario. Ambos tejidos parecen funcionales ya que la mayor actividad del cambium no produce el aplastamiento del protofloema y el protoxilema que si se observa en los pedúnculos de los frutos control no tratados. A los 5,5 meses después del tratamiento, el incremento en el diámetro del pedúnculo se debe, fundamentalmente, al aumento en el espesor del floema secundario y del tejido esclerenquimatoso del floema.

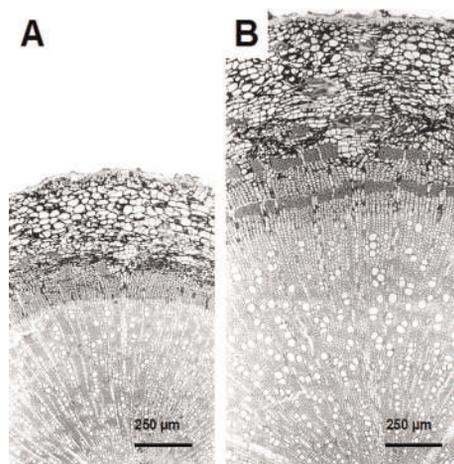


Figura 5.7. Secciones transversales de pedúnculos de frutos del híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.). Anatomía de un pedúnculo control (A) y de otro después de 6 meses del tratamiento, al final de la caída fisiológica, con 50 ppm del éster del 2,4-DP (B). Tinción: Azul de toluidina.

El tratamiento con auxinas sintéticas al árbol completo del mandarino Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.) al final de la caída fisiológica de frutos también incrementa significativamente tanto el tamaño del fruto maduro (15%) como el diámetro de los pedúnculos (40%) después de 6 meses de tratamiento (Fig. 5.7). Este efecto sobre el diámetro del pedúnculo se debe, al igual que en el caso anterior, al incremento en el tamaño de su sistema vascular (Agustí y Tadeo, datos no publicados). El cambium de los pedúnculos de los frutos tratados con auxinas es más activo y éste incremento en la actividad cambial se traduce en un mayor espesor tanto del xilema secundario y de sus vasos como del floema secundario y de las fibras esclerenquimatosas. Por tanto, parece existir una estrecha relación entre el engrosamiento secundario del pedúnculo y el incremento en el tamaño del fruto. Es decir, podría existir una fuerte dependencia entre la tasa de crecimiento del fruto y la capacidad de transporte del pedúnculo.

5.6.2. El estigma y el estilo.

El estigma, el estilo y el ovario comienzan su desarrollo como una unidad. Sin embargo, el conjunto formado por el estigma y el estilo difiere del modelo de desarrollo del ovario debido, probablemente, a que desempeñan funciones diferentes. El estigma y el estilo son las estructuras de la flor de los cítricos específicamente preparadas para la polinización y germinación del grano de polen (estigma) y la conducción del tubo polínico hasta los lóculos del ovario (estilo).



Figura 5.8. Inflorescencia del mandarino Clementino (*Citrus clementina* Hort.) en donde se observa la zona de abscisión estilo/ovario.

Durante la antesis, el ovario atraviesa un periodo de ralentización del crecimiento, mientras que el estigma y el estilo experimentan, al mismo tiempo, su más rápido aumento en peso. El crecimiento de estas dos estructuras cesa prácticamente al mismo tiempo que se produce la caída de los estambres y los pétalos de la flor, mientras que el ovario continúa aumentando en peso. El primer síntoma externo de senescencia del conjunto estigma-estilo es la aparición de un ani-

llo de tonalidad más clara que se localiza por encima de la zona de unión entre el estilo y el ovario, la denominada zona de abscisión estilo/ovario (Fig. 5.8). Este anillo adquiere con el tiempo una coloración marrón, a la vez que el estilo cambia su color verde claro a amarillento, hasta que finalmente se separa del ovario (Zacharia, 1951; Einset y cols., 1980). En los naranjos del grupo Navel (*Citrus sinensis* L. Osbeck), por ejemplo en la variedad Navelate, la abscisión de estas estructuras se produce aproximadamente dos semanas después del estadio fenológico de caída de pétalos (Tadeo, 1988). En otras especies como el limón (*Citrus limon* L. Burm.), la abscisión se produce dos semanas más tarde, mientras que en el cidro (*Citrus medica* L.), un porcentaje considerable de estilos permanece unido al fruto durante todo su ciclo de vida en el árbol (Goldschmidt y Leshem, 1971).

Los cítricos poseen un estigma del tipo húmedo, debido al exudado que lo recubre durante el período receptivo, y un estilo del tipo hueco, ya que los tubos polínicos crecen, mayoritariamente, a través de canales rellenos de un material mucilaginoso (Fig. 5.9).

El estigma puede dividirse en dos zonas (Figs. 5.9A y C; Cresti y cols., 1982; Tadeo, 1988):

- a) Una superficial, de tipo glandular, formada por papilas y denominada zona estigmática.
- b) Una interior, no glandular, denominada zona estigmatoide, formada por células parenquimáticas, la cual envuelve el tejido de transmisión, los canales estilares, y que se continúa en el estilo constituyendo el córtex.

El estilo, por su parte, se divide en tres zonas (Figs. 5.9B y D; Ciampolini y cols., 1981; Tadeo, 1988):

- a) Epidermis; una monocapa compuesta por células parenquimáticas de estructura rectangular, con una pared periclinal externa recubierta de una gruesa cutícula.
- b) Córtex; formado por varias capas de células, también de naturaleza parenquimática, que envuelven los haces vasculares y los canales estilares.
- c) Células de los canales estilares; de naturaleza glandular y que producen y liberan una secreción al canal.

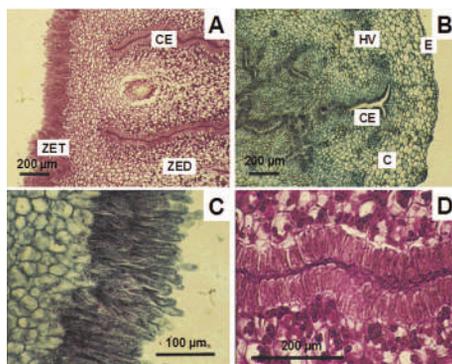


Figura 5.9. Secciones transversales del estigma y del estilo de la flor del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). (A) Vista general del estigma. CE = canal estilar; ZED = zona estigmatoide; ZET = zona estigmática. (B) Vista general del estilo. C = córtex; CE = canal estilar; E = epidermis; HV = haz vascular. (C) Detalle de las papilas de la zona estigmática del estilo. (D) Detalle de un canal estilar en el estilo. Tinciones = Acido periódico-reactivo de Schiff (PAS; A y D) y Safranina-verde rápido (B y C).

Las regiones glandulares del estigma y del estilo producen y secretan al exterior un exudado compuesto por azúcares, lípidos y proteínas que el grano de polen utiliza para hidratarse y germinar y, también, como medio nutritivo para poder mantener el crecimiento longitudinal del tubo polínico. La secreción de exudado comienza, al menos en la variedad de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osbeck), en el estadio floral D, antes de que se produzca la antesis o apertura de la flor, y se prolonga hasta que se produce la caída de los pétalos (Tadeo, 1988). En el estadio de antesis se secreta el mayor volumen de exudado. La porción azucarada de la secreción se produce a expensas de la desintegración del almidón almacenado en los amiloplastos. Aunque las papilas contienen en el estadio de antesis cierto número de amiloplastos, el mayor reservorio de almidón se localiza en las células estigmatoides situadas inmediatamente por debajo de las papilas del estigma y en las células corticales que rodean los canales estilares (Figs. 5.9A y D). Los depósitos de almidón desaparecen completamente de las células al inicio de la senescencia del estigma y del estilo, unas dos semanas después de la antesis (Tadeo, 1988).

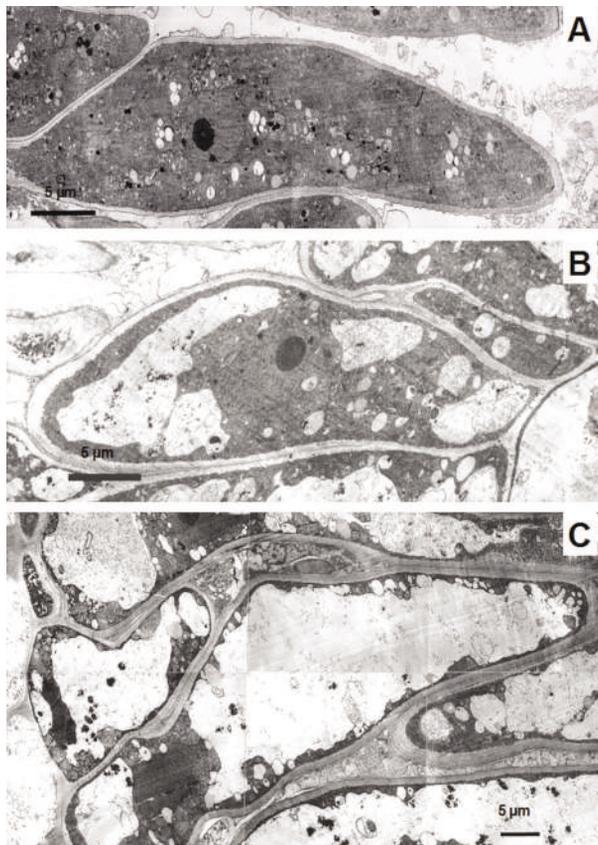


Figura 5.10. Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión de las papilas de la zona estigmática del estigma de la flor del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). Estigmas procedentes de flores en los estadios fenológicos de flor cerrada (A), “caída de pétalos” (B) y 15 días después de la antesis de la flor (C). Contraste: Acetato de uranio y citrato de plomo.

La estructura fina de las células del estigma y del estilo presenta características diferenciales. Las papilas de la zona estigmática varían tanto en el tamaño como en el número de células de que constan. Podemos encontrar desde pequeñas papilas unicelulares hasta grandes papilas multicelulares (Cresti y cols., 1982; Tadeo, 1988). En el estadio floral D, las células de las papilas presentan un citoplasma denso, con pequeñas vacuolas en su interior (Fig. 5.10A). Además, el citoplasma posee abundantes perfiles de RE, ribosomas y dictiosomas muy activos con un abundante número de vesículas tanto rodeándolos como en contacto con el plasmalema o cerca de él. Las papilas contienen también amiloplastos y mitocondrias, aunque no son muy abundantes. El núcleo se sitúa generalmente en el centro de las células, es de apariencia redondeada y contiene un único nucleolo. La cromatina se localiza dispersa en el interior del núcleo, con pocas zonas de condensación. En los estadios senescentes, el grado de vacuolación de las papilas aumenta considerablemente y aparecen invaginaciones del plasmalema y del tonoplasto, así como vesículas intravacuolares con material citoplásmico en su interior (Figs. 5.10B y C). Antes de que se produzca la abscisión, las papilas están altamente vacuoladas, quedando el citoplasma reducido a estrechas bandas junto a la pared celular y rodeando al núcleo, el cual suele ocupar una posición basal. El tonoplasto pierde su integridad, los plastos han perdido el almidón y contienen abundantes plastoglóbulos y los perfiles de RE están dilatados en alguna de sus zonas. Sin embargo, continúan observándose dictiosomas y mitocondrias aparentemente activos.

La epidermis del estilo es una capa uniseriada, compuesta por células parenquimáticas (Ciampolini y cols., 1981; Tadeo, 1988). Las paredes periclinales externas son relativamente gruesas y están recubiertas por una espesa cutícula de apariencia ondulada (Fig. 5.11). Las células están altamente vacuoladas y el citoplasma contiene amiloplastos, mitocondrias y perfiles de RE. El núcleo, con un único nucleolo y pocos acúmulos de cromatina condensada, presenta forma elipsoidal y se localiza, preferentemente, junto a la pared periclinal interna.

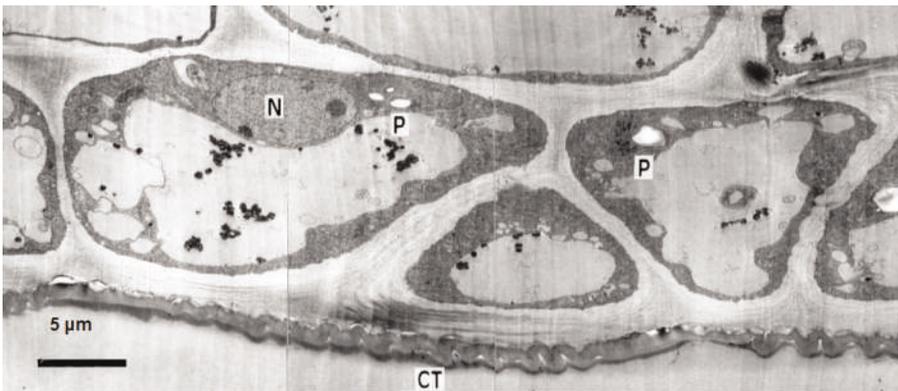


Figura 5.11. Microfotografía, al microscopio electrónico de transmisión, de la epidermis del estilo de la flor del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en el estadio fenológico de "caída de pétalos". CT = cutícula; N = núcleo; P = plasto. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

La zona estigmatoide del estigma y el córtex del estilo está formada por células de naturaleza parenquimática. En estos tejidos podemos encontrar dos tipos celulares que se distinguen tanto por su localización tisular como por su contenido en amiloplastos (Ciampolini y cols., 1981; Cresti y cols., 1982; Tadeo, 1988). Uno de los dos tipos celulares se localiza lejos de las regiones glandulares, las papilas y los canales estilares, y el citoplasma presenta pocos amiloplastos. Sus células están empaquetadas de manera laxa, con amplios espacios intercelulares entre ellas, y presentan una relación citoplasma/vacuola baja. Las células del segundo tipo se localizan junto a las regiones glandulares y contienen abundantes reservas de almidón en sus plastos (Fig. 5.12A). El grado de vacuolación de estas células también es alto, aunque menor que las anteriores, y el citoplasma contiene, además de amiloplastos, mitocondrias, dictiosomas y RE muy activos. La relación de estas células con sus vecinas de naturaleza glandular es estrecha dado que se observa un gran número de plasmodesmos, en muchas ocasiones ramificados. A medida que progresa el crecimiento del estigma y del estilo estas células pierden gradualmente el almidón de sus plastos y aparecen síntomas de degeneración celular como invaginaciones del plasmalema y del tonoplasto y material citoplásmico en el interior de la vacuola (Figs. 5.12B y C).

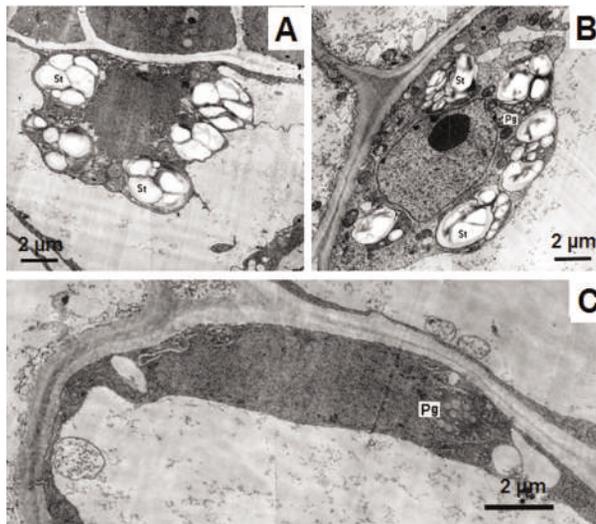


Figura 5.12. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de las células de la zona estigmática del estigma de la flor del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) localizadas inmediatamente por debajo de las papilas en los estadios fenológicos de flor cerrada (A), “caída de pétalos” (B) y 15 días después de la antesis de la flor (C). Pg = plastoglóbulos; St = almidón. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Las células glandulares que recubren los canales estilares presentan una forma elipsoidal, con su eje mayor orientado perpendicularmente al canal (Ciampolini y cols., 1981; Tadeo, 1988). En el estadio floral D y en antesis, las paredes que rodean el protoplasto de estas células son delgadas y de espesor uniforme (Figs. 5.13A y B). El núcleo, de apariencia redondeada, ocupa una posición central y contiene un nucleolo y cromatina condensada en contacto con la membrana nuclear interna. Las células contienen un reducido número de pequeñas vacuolas y el citoplas-

ma está ocupado por abundantes orgánulos (amiloplastos, dictiosomas, RE y mitocondrias). En el estadio fenológico de caída de pétalos, la pared periclinal en contacto con el canal y las paredes anticlinales aumentan en grosor (Fig. 5.13C). Como consecuencia de ello, el volumen del citoplasma se reduce considerablemente, quedando sus componentes densamente empaquetados y perdiendo sus características funcionales. La senescencia del estigma y del estilo acentúa aún más estas características celulares.

La pared de las células que constituyen las papilas del estigma, así como las paredes de la células epidérmicas y los estratos más superficiales del córtex del estilo, experimentan una progresiva deposición de lignina a medida que avanza la senescencia del estigma y del estilo (Fig. 5.14; Tadeo, 1988; Tadeo y Primo-Millo, 1990). La deposición de lignina está precedida por la acumulación de sustancias fenólicas, autofluorescentes, en las paredes. La autofluorescencia comienza a observarse en el estadio fenológico de caída de pétalos, en las secciones de pared que delimitan los espacios intercelulares, y más tarde, cuando ya se ha entrado en el periodo senescente, la autofluorescencia se localiza en regiones más extensas de la pared celular y es concomitante con la presencia de lignina. La lignificación está asociada al aumento en peroxidasa con actividad siringaldazina-oxidasa (Tadeo y Primo-Millo, 1990) que se localizan tanto en la zona estigmática como en las paredes de las células epidérmicas y corticales del estilo (Tadeo, 1988).

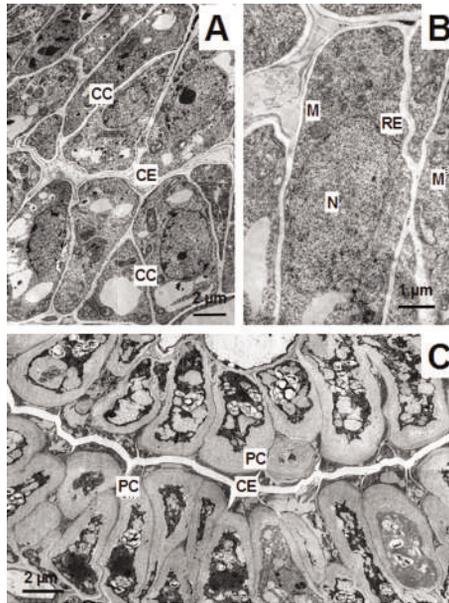


Figura 5.13. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de las células de los canales estilares del estilo de la flor del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en los estadios fenológicos de flor cerrada (A y B) y "caída de pétalos" (C). CC = células del canal; CE = canal estilar; M = mitocondria; N = núcleo; PC = pared celular; RE = retículo endoplásmico. Contraste: Acetato de uranio y citrato de plomo.

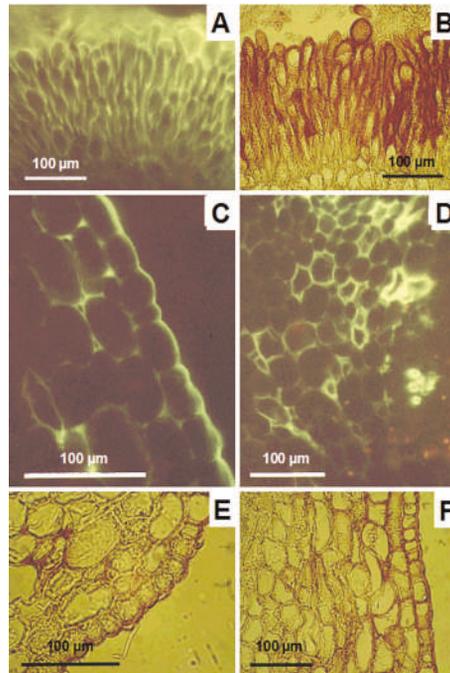


Figura 5.14. Secciones transversales (A, B, D, E) y longitudinales (C, F) del estigma y del estilo de la flor del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). (A y B) Papilas de la zona estigmática del estigma de una flor a los 15 días después de la antesis. (C y D) Epidermis y córtex del estilo de una flor a los 11 y 15 días, respectivamente, después de la antesis. (E) Epidermis y córtex del estilo de una flor a los 11 días después de la antesis. (F) Epidermis y córtex del estilo de una flor a los 15 días después de la antesis. Tinción: Autofluorescencia (criosecciones; A, C y D); Test de Wiesner (B, E y F).

5.6.3. Los estambres.

Los estambres constituyen el aparato sexual masculino de la flor y se diferencian en el meristemo floral una vez lo han hecho los sépalos y los pétalos. Cada estambre consta de dos partes: un filamento alargado de color blanquecino y una antera (Fig. 5.1). La antera es la parte fértil del estambre y consta de dos tecas bilobulares separadas por un cordón o haz vascular que proviene del filamento y que se encuentra englobado por tejido conectivo (Fig. 5.15). En cada lóbulo de las tecas jóvenes aparece una cavidad denominada lóculo o saco polínico que contiene las microsporas, los primordios de los granos de polen. La monocapa de células exteriores de la antera se denomina exotecio. Por debajo de él se encuentra una monocapa de células denominada endotecio y rodeando los lóculos se encuentra el tapetum.

En el estadio floral A, el interior del saco polínico está relleno de las células madre de las microsporas (Frost y Soost, 1968; Koltunow y cols., 1995). Estas células son poligonales, están densamente empaquetadas y comprimidas por el tapetum y presentan una alta relación citoplasma/vacuola. Contienen un gran núcleo y abundantes ribosomas libres. Cada célula madre de las microsporas es

diploide y realiza dos divisiones meióticas que rinden una tétrada de microsporas haploides que se convertirán en cuatro granos de polen. Cada antera de cítricos producirá de media 16.000 granos de polen. En el estadio floral B las microsporas se han individualizado quedando envueltas por la membrana y la pared celular. Cada microspora contiene un único núcleo que experimentará una mitosis normal, rindiendo dos núcleos, uno vegetativo, grande y de contenido poco denso, que desempeña funciones tróficas, y otro generativo, también llamado espermático o germinativo. Una vez formados ambos núcleos queda constituido el grano de polen. Posteriormente, el núcleo generativo se divide mitóticamente generando dos núcleos que se fusionarán, uno de ellos con la oosfera y el otro con los dos núcleos polares del saco embrionario del óvulo. En el estadio floral C los granos de polen están maduros y el tapetum comienza a degenerar. Los granos de polen han generado ya sus dos cubiertas, la intina y la exina. En algunas variedades, se produce la ruptura o dehiscencia de las anteras ya en el estadio floral D, liberándose los granos de polen. Los granos de polen deshidratados presentan morfologías diversas y adquieren una forma globular cuando se hidratan (Crescimanno y cols., 1988a y b). En algunas variedades de cítricos, como por ejemplo en el naranjo dulce Valencia (*Citrus sinensis* L. Osb.), los granos de polen presentan anomalías, en cuanto a su tamaño y su forma, que sugieren que la gametogénesis masculina ha sido defectuosa (Koltunow y cols., 1995).

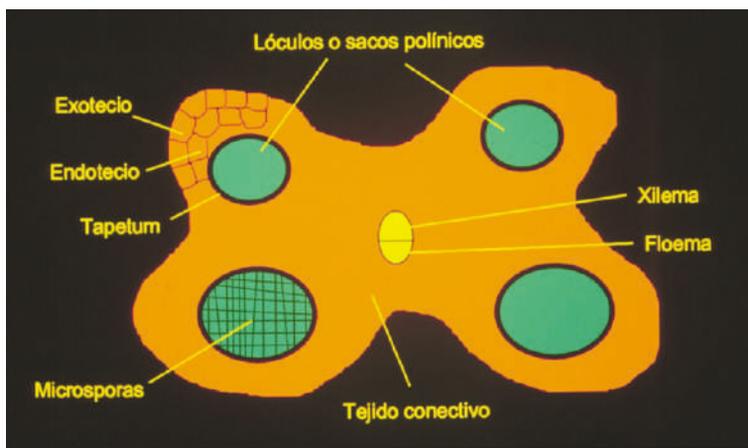


Figura 5.15. Representación esquemática de una sección transversal de una antera de una flor de cítricos.

5.6.4. El ovario y el fruto.

El ovario está compuesto por un número variable de carpelos fusionados o lóculos que rodean al eje central, con el pericarpo o pared del ovario situado al exterior de los lóculos (Fig. 5.1). El pericarpo está compuesto en su gran mayoría por células de naturaleza parenquimática y se divide en tres regiones: exocarpo, mesocarpo y endocarpo (Fig. 5.16). El límite entre cada una de estas regiones no puede establecerse con precisión, aunque las células de cada región presentan algunas características diferenciales (Ben-Cheikh y cols., 1997). Sin embargo, podemos considerar al exocarpo como la fracción del pericarpo localizada entre su superficie externa y el extremo basal de las glándulas de aceite. El endocarpo es la fracción del pericarpo comprendida entre los haces vasculares dorsales y la superficie interna del pericarpo, que mira a los lóculos, mientras que la fracción

intermedia del pericarpo es el mesocarpo. Con el desarrollo del fruto, a partir del endocarpo se diferencian las emergencias carpelares y las vesículas de zumo.

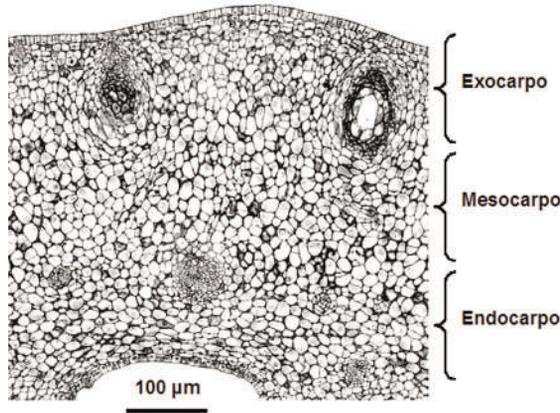


Figura 5.16. Sección transversal del pericarpo en el ovario del naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en donde se definen las tres regiones en que puede subdividirse: exocarpo, mesocarpo y endocarpo. Tinción: Azul de toluidina.

El exocarpo está formado por la epidermis, la monocapa celular más externa, que contiene un número variable de estomas (Fig. 5.17). La porción superficial de su pared periclinal externa está recubierta por una fina cutícula en la que se depositan ceras epicuticulares. La epidermis está compuesta por células de apariencia rectangular cuyo eje mayor está orientado perpendicularmente a la superficie del fruto. Su relación citoplasma/vacuola es baja y suelen contener miembros de toda la gama de orgánulos celulares, así como plasmodesmos que las conectan entre sí y con las células hipodérmicas. Por debajo de la epidermis encontramos un número variable de capas de células hipodérmicas que envuelven las glándulas de aceites esenciales. Estas células poseen las mismas características citológicas que las de la epidermis y están densamente empaquetadas sin apenas espacios intercelulares entre ellas.

El mesocarpo es la porción del pericarpo que más se expande con el crecimiento del ovario durante la fase I de la fructificación (Tadeo y Primo-Millo 1988a). En él podemos distinguir perfectamente dos regiones, al menos durante las primeras etapas de la fase I de crecimiento: el mesocarpo externo y el interno (Figs. 5.18 y 5.19). El mesocarpo externo es una estrecha franja de células que conserva rasgos meristemáticos (Fig. 5.18). Podría considerarse pues como un meristemo secundario. Sus células están estrechamente empaquetadas y su relación citoplasma/vacuola es alta. Estas células poseen abundantes ribosomas libres, mitocondrias, plastos y áreas de Golgi dispersas por el citoplasma. A medida que avanza el crecimiento del ovario, la relación citoplasma/vacuola desciende y adquieren preponderancia los plastos sobre los demás orgánulos celulares. En el mesocarpo interno, por el contrario, la relación citoplasma/vacuola siempre es baja y con el tiempo, el empaquetamiento celular se vuelve más laxo, haciéndose más evidentes los espacios intercelulares, y las paredes celulares son más gruesas (Fig. 5.19). Los cambios más importantes, a nivel de los orgánulos celulares, que se producen en el mesocarpo corresponden a los plastos (Fig. 5.20). Inicialmente encontramos amiloplastos en el mesocarpo interno y cloroplastos fotosintéticamente activos con acúmulos discretos de almidón en el mesocarpo externo

(Tadeo y Primo-Millo 1988a). Tanto los amiloplastos como los cloroplastos van perdiendo progresivamente los pocos acúmulos de almidón que contienen. Sin embargo, el sistema endomembranoso de los cloroplastos del mesocarpo externo crece en extensión y complejidad mientras que en el mesocarpo interno disminuye su estructura interna a medida que las células alcanzan porciones más profundas del tejido. Al final de la fase I de crecimiento, el mesocarpo interno se convierte en el tejido esponjoso y laxo característico del albedo y sus células aparecen profundamente vacuoladas y con protuberancias tubulares que representan los puntos de unión entre células vecinas.

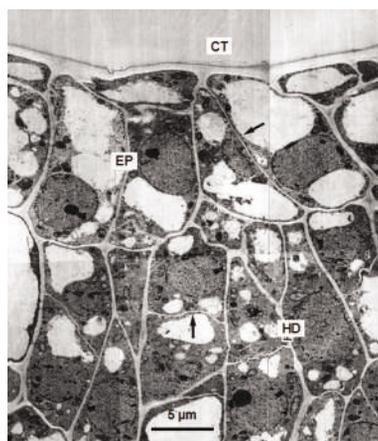


Figura 5.17. Microfotografía al microscopio electrónico de transmisión del exocarpo del ovario de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) de 5 mm de diámetro. Las flechas indican las paredes nuevas formadas por división celular. CT = cutícula; HD = hipodermis. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

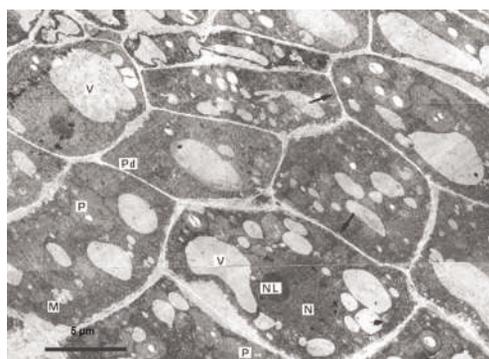


Figura 5.18. Microfotografía al microscopio electrónico de transmisión del mesocarpo externo de un ovario de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en el estadio fenológico de "caída de pétalos". Las flechas indican las paredes nuevas formadas por división celular. M = mitocondria; N = núcleo; NL = nucleolo; P = plasto; Pd = plasmodesmo; V = vacuola. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

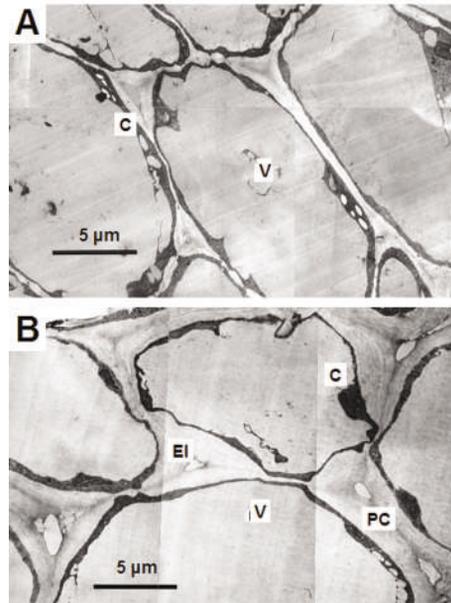


Figura 5.19. Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión del mesocarpo interno de ovarios de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en el estadio fenológico de “caída de pétalos” (A) y con 5 mm de diámetro (B). C = citoplasma; EI = espacio intercelular; PC = pared celular; V = vacuola. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

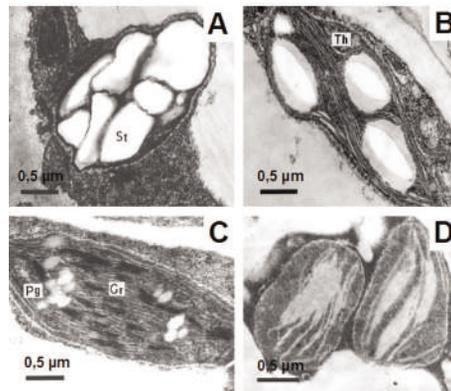


Figura 5.20. Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión de plastos del pericarpo del ovario de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.). (A) Amiloplasto en el mesocarpo interno de un ovario en el estadio fenológico de flor cerrada. (B) Cloroplasto con acúmulos de almidón en el mesocarpo externo de un ovario en el estadio fenológico de “caída de pétalos”. (C) Cloroplasto en el mesocarpo externo de un ovario de 15 mm de diámetro. (D) Plastos en degeneración en el mesocarpo interno de un ovario de 15 mm de diámetro. Gr = grana; Pg = plastoglobulos; St = almidón; Th = tilacoides. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

A lo largo de la fase I de crecimiento se producen dos oleadas de abscisión que implican a flores y a ovarios. Los ovarios que van a abscindir pueden diferenciarse de los que van a permanecer en el árbol por su coloración verde pálida (Fig. 5.21A). Las células del pericarpo de estos ovarios con síntomas de abscisión se caracterizan por la presencia de invaginaciones del tonoplasto y del plasmalema y porque en sus paredes, más electrodensas que las de las células pertenecientes a ovarios sin síntomas de abscisión, se acumula material granular (Figs. 5.21B y C; Tadeo 1988). El citoplasma posee una apariencia diluida y se observan secciones hinchadas de RER. Las mitocondrias poseen pocos perfiles de crestas mitocondriales y su matriz es muy poco electrodensa (Fig. 5.21D). Los plastos, por su parte, comienzan a perder su sistema endomembranoso (Fig. 5.21E).

La región más profunda del pericarpo, el endocarpo, no experimenta profundas modificaciones en su espesor a lo largo de la fase I de crecimiento. Sin embargo, los cambios más notables en esta región provienen de los elementos que se diferencian a partir de las células epidérmicas y subepidérmicas de la superficie adaxial del carpelo y cuyo crecimiento se dirige hacia el interior de los lóculos. Estos elementos son las emergencias carpelares y las vesículas de zumo (Fig. 5.22).

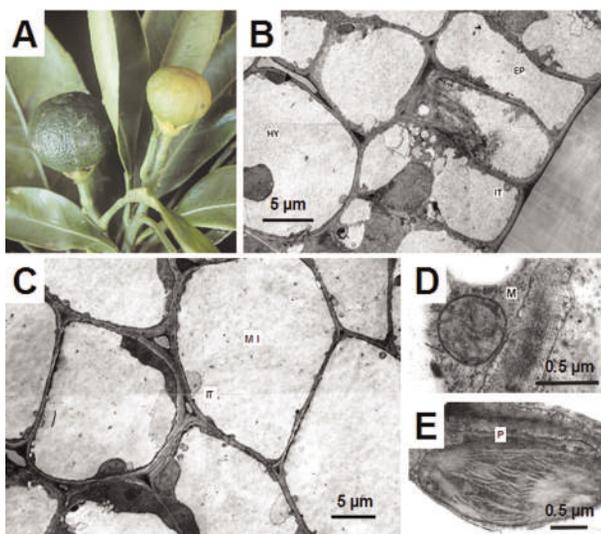


Figura 5.21. (A) Morfología de ovarios de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) que continúan su desarrollo normal (izquierda) o que presentan síntomas de degeneración-abscisión (derecha). (B-E) Microfotografías al microscopio electrónico de transmisión del pericarpo de ovarios con síntomas de degeneración-abscisión en el estadio fenológico de “caída de pétalos”. EP = epidermis; HY = hipodermis; IT = invaginación del tonoplasto; M = mitocondria; MI = mesocarpo interno; P = plasto. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

Las **emergencias carpelares** comienzan a formarse en el estadio floral D, aproximadamente 3 días antes de la antesis (Fig. 5.22A), a partir de las células iniciales, las cuales son claramente diferentes al resto de células superficiales (Burns y cols., 1994). A los 7 días después de la antesis, las emergencias carpelares están compuestas por agrupaciones de células globulares que se dividen activamente y se disponen desordenadamente en su región terminal junto con otras células, de menor tamaño, situadas en la porción basal. En los espacios intercelulares

que se localizan entre determinadas células globulares se observa la presencia de material que se tiñe intensamente con azul de toluidina. El crecimiento de las emergencias carpelares es más rápido que el de las vesículas de zumo aunque se ralentiza considerablemente y acaba deteniéndose a los 35 días después de la antesis. El citoplasma de las células globulares contiene numerosas áreas de Golgi y vesículas, mitocondrias, cuerpos lipídicos y extensas zonas de RE. Las vesículas están rellenas de material fibrilar, compuesto por polisacáridos con residuos de galactosa y arabinosa, y se fusionan con el plasmalema vertiendo su contenido a la pared celular. A los 60 días después de la antesis, el citoplasma de las células que se localizan en el centro de la región terminal es muy electrodenso, lo que refleja que ha comenzado a degenerar. Al igual que ocurría con las células que tapizan los canales estilares, las paredes de las células globosas situadas en la superficie aumentan considerablemente en grosor. Las emergencias carpelares son, por tanto, estructuras de naturaleza secretora que podrían participar en el desarrollo de las vesículas de zumo, al menos durante sus primeras etapas.

El crecimiento y desarrollo de las **vesículas de zumo** (Fig. 5.22B) puede dividirse en tres etapas (división, elongación y maduración celular) que se corresponden con las fases de crecimiento del fruto (Burns y cols., 1992). La etapa de división celular se prolonga desde 2 días antes de antesis hasta 10 semanas después de ocurrida ésta. Su diferenciación comienza a partir de determinadas células epidérmicas y subepidérmicas con características meristemáticas. A los 10 días después de la antesis podemos distinguir en los primordios de las vesículas dos tipos celulares: las meristemáticas, que se localizan en la región terminal, y las pedunculares, en la región basal. Las células meristemáticas contienen núcleos activos y abundantes mitocondrias, plastos y extensas zonas de RE.

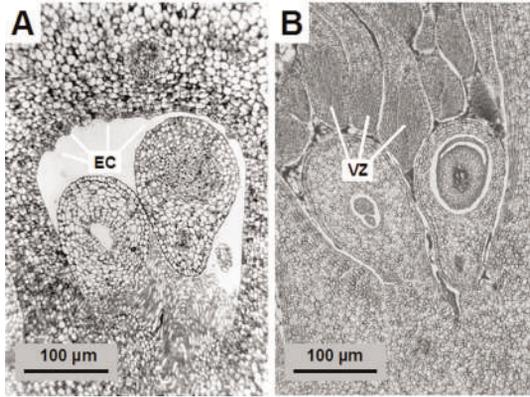


Figura 5.22. Secciones transversales de ovarios de navelate dulce (Citrus sinensis L. Osb.) en las que se observan el desarrollo de las emergencias carpelares (A) y de las vesículas de zumo (B) a partir del endocarpo. EC = emergencias carpelares; VZ = vesículas de zumo. Tinción: Azul de toluidina (A) y safranina-verde rápido (B).

Entre 4 y 10 semanas después de la antesis la porción externa de las vesículas presenta una capa de células epidérmicas con una fina cutícula y entre 3 y 8 capas de células hipodérmicas, mientras que la porción central está ocupada por las células de la denominada cavidad central. En

los tipos celulares localizados al exterior de la vesícula la relación citoplasma/vacuola es baja, aunque el citoplasma contiene mitocondrias, áreas de Golgi, plastos y secciones de RE liso y rugoso. En las células de la cavidad central, sin embargo, la relación citoplasma/vacuola es alta. A medida que nos acercamos al centro de la cavidad central, la densidad de los electrones de las células aumenta. Es decir, parece existir una zona de transición entre las células hipodérmicas y las células que ocupan el centro de la cavidad. El citoplasma de las células centrales contiene cuerpos lipídicos, en algunos casos englobados por el tonoplasto, mitocondrias y material osmiofílico asociado al espacio periplásmico celular. Los plastos en estas células centrales están muy reticulados y contienen abundantes plastoglobulos e inclusiones lipídicas. Entre las paredes de las células electrodensas centrales de la cavidad comienzan a formarse espacios globulares de origen esquizógeno y lisígeno que van aumentando en tamaño. A las 10 semanas después de la anthesis comienza la etapa de elongación celular en todos los tejidos de la vesícula, que se prolonga hasta 12 semanas después. Las células que conformaban la zona de transición en la cavidad central aumentan considerablemente de tamaño, la relación citoplasma/vacuola también aumenta y solamente presentan una estrecha franja de citoplasma situado en una posición parietal. El proceso de lisis celular continua desarrollándose en las células de la cavidad central. A las 22 semanas después de la anthesis, la estructura que presentan las vesículas es la típica del tejido maduro con células epidérmicas, subepidérmicas o hipodérmicas, elongadas y contenedoras del zumo.

5.6.4.1. Desordenes fisiológicos precosecha.

Una vez el fruto ha comenzado la fase III de maduración pueden observarse, tanto en su superficie externa como en su porción interna, daños de origen no parasitario o abiótico que deprecian su valor comercial. Estos daños se conocen genéricamente como desordenes fisiológicos y pueden tener su origen tanto en esta fase como en la anterior. Los desordenes fisiológicos que afectan a la pulpa producen mermas tanto en el sabor, ya que afectan al contenido en azúcares y ácidos, como en la textura del zumo almacenado en las vesículas. Sin embargo, son los desordenes que afectan a la corteza los más importantes en las variedades cultivadas en España. Los daños en la corteza pueden afectar tanto al flavedo como al albedo, aunque son más numerosos y variados los que deterioran la calidad del flavedo (Agustí y Almela, 1991; Talón y cols., 1995). La manifestación de los desordenes en el flavedo se produce en forma de manchas, grietas o depresiones en su porción externa que, con el tiempo, facilitan la aparición de daños de origen biótico por ataque de hongos y bacterias. Entre las alteraciones que afectan al flavedo, las que en la actualidad concentran una mayor atención y esfuerzos para reducir su incidencia son el picado y el colapso de la corteza.

5.6.4.1.1. El picado de la corteza.

Este desorden ha sido considerado hasta hace pocos años como exclusivamente postcosecha y se ha asociado a las bajas temperaturas utilizadas normalmente para la conservación de los frutos cítricos (Grierson, 1986). Sin embargo, el picado puede detectarse al inicio de la fase III de la fructificación, en los meses de Diciembre y Enero, en el flavedo de la mandarina Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.) (Almela y cols., 1992). Las causas y el mecanismo de acción del picado se desconocen por ahora, aunque su aparición coincide con bajos registros de la temperatura y la humedad relativa. El picado afecta predominantemente a la cara externa de los frutos situados en el cuadrante noroeste del árbol y se caracteriza por la aparición de manchas de coloración marrón a negra. Las manchas son, al principio, de pequeño tamaño e histológicamente se caracteri-

zan por la presencia de zonas discretas de la epidermis dañadas (Figs. 5.23A y B; Vercher y cols., 1995). A medida que progresa el desorden, las manchas crecen en extensión y también aparecen dañados estratos celulares más profundos del exocarpo (Fig. 5.23C). En los frutos severamente afectados de picado las manchas acaban agregándose y la superficie del fruto adopta una apariencia ondulada. Las irregularidades en la superficie están relacionadas con el plegamiento que experimentan las paredes de las células epidérmicas e hipodérmicas afectadas. En los pliegues de las paredes se observa, además, la presencia de depósitos anómalos de material de naturaleza pectínica (Figs. 5.23D).

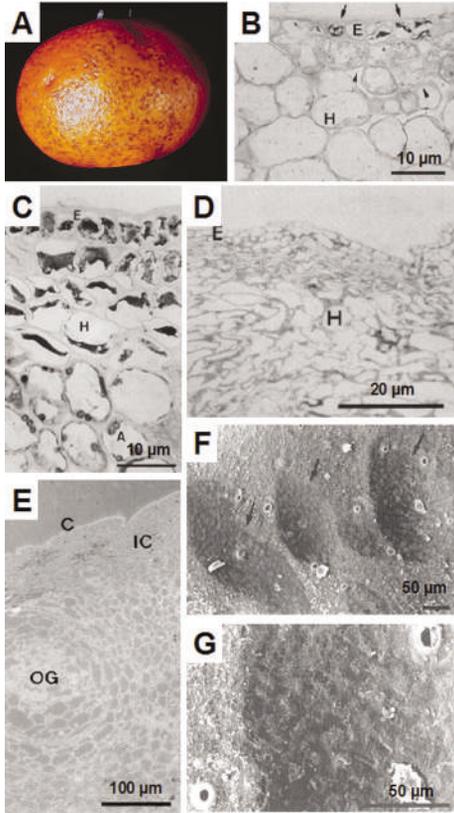


Figura 5.23. Caracterización morfológica, histológica y ultraestructural del flavedo del fruto picado del híbrido Fortune (*Citrus clementina* Hort. ex Tan. x *Citrus tangerina* Hort. ex Tan.). (A) Fruto con síntomas severos de picado (50% de la superficie del fruto afectada). (B) Sección transversal del flavedo de un fruto con síntomas ligeros de picado (10% de la superficie del fruto afectada). (C-E) Secciones transversales del flavedo de un fruto con síntomas severos de picado. (F-G) Microfotografías al microscopio electrónico de barrido de la superficie de un fruto con síntomas severos de picado. A = amiloplasto; C = cutícula; E = células epidérmicas; H = células hipodérmicas; IC = células epidérmicas e hipodérmicas dañadas; OG = glándula de aceites esenciales. Tinciones: Acido periódico-reactivo de Schiff (PAS; B, C); rojo de rutenio (D); auramina O (E).

A pesar de todos estos cambios celulares tan drásticos, la cutícula mantiene su estructura continua, aunque ésta se adapta a la superficie ondulada de la corteza (Fig. 5.23E). La superficie de los frutos severamente afectados muestra también al microscopio electrónico de barrido una apariencia ondulada (Fig. 5.23F). Las depresiones han perdido las ceras epicuticulares de estructura cristalina características de las zonas sanas y la morfología de las ceras restantes toma una apariencia rugosa (Figs. 5.23G). Estos cambios morfológicos y anatómicos coinciden con aumentos importantes en la permeabilidad al agua de las cutículas (Vercher y cols., 1995). Por tanto, parece que las bajas temperaturas inducen la degeneración de los estratos celulares más externos de la corteza del fruto de Fortune. En ellos tiene lugar el metabolismo y la secreción de las ceras que embeben la cutícula y que se depositan en su cara externa. La ausencia de ceras modifica la función fisiológica de las cutículas, es decir, hace más fácil el tránsito de agua y gases hacia el exterior del fruto, lo cual induce estrés hídrico en su superficie.

5.6.4.1.2. El colapso de la corteza.

Esta alteración, conocida comúnmente como “pateta de rata”, se presenta en todas las variedades de naranja del grupo Navel (*Citrus sinensis* L. Osbeck), aunque la mayor incidencia se observa en las variedades Navelina y Navelate. En éstas variedades, el colapso de la corteza puede llegar a afectar hasta al 50% de la cosecha (Zaragoza y Alonso, 1975). Los síntomas iniciales de la alteración consisten en la depresión de zonas concretas del flavedo en las que puede apreciarse perfectamente cómo sobresalen las glándulas de aceites esenciales (Fig. 5.24A). Con el paso del tiempo, la superficie afectada aumenta en extensión y las depresiones toman una coloración oscura (Fig. 5.24B). El origen de esta alteración parece radicar en cambios bruscos en la humedad relativa entre el final de la fase II y el inicio de la fase III de la fructificación (Agustí y Zaragoza, 2000). A nivel anatómico, los daños que este desorden produce en el flavedo son similares a los descritos para el picado. El colapso comienza en la zona de transición flavedo/albedo y rápidamente se expande hacia la epidermis (Figs. 5.24C-E; Agustí y cols., 2001). Con el progreso del desorden, las células colapsadas rodean y comprimen la porción apical de las glándulas de aceites esenciales hasta llegar a deformarlas (Fig. 5.24F). Cuando el fruto presenta síntomas severos de colapso, el grado de deformación de las glándulas es máximo. A pesar de ello, las glándulas en el fruto de Navelate continúan mostrando una estructura, tanto interna como externa, continua. En otras variedades, como por ejemplo Navelina, se ha descrito que el colapso induce la ruptura de las glándulas de aceite y se han asociado los daños a un proceso de tipo oleocelosis (Du Plessis, 1978; Casas y García-Bataller, 1986). Sin embargo, esta correlación parece descartarse en la variedad Navelate. Al microscopio electrónico de barrido se observa perfectamente la depresión que experimenta la superficie colapsada, que está salpicada por los perfiles de las glándulas (Fig. 5.24G). El recubrimiento de ceras epicuticulares en la zona dañada ha perdido estructuras cristalinas en forma de placas y las ceras restantes presentan una estructura rugosa (Figs. 5.24H).

5.6.5. El óvulo y la semilla.

Los óvulos se asientan en el interior de los lóculos del ovario. La placentación o disposición de los primordios ovulares en el ovario de los cítricos es de tipo axial (Fig. 5.25). Es decir, los carpelos, que se originan a partir de los primordios curvados situados alrededor del eje meristemático se doblan sobre sí mismos formando una cavidad cerrada o lóculo y se disponen rodeando al eje central. La fusión de las paredes de los carpelos adyacentes formará los septos. La unión de los bordes de los carpelos forma la placenta que presenta dos filas de primordios ovulares por lóculo.

Los primordios están unidos a la placenta por el funículo. A cada lóculo llega un canal estilar que se abre entre las filas de los primordios ovulares.

El óvulo de los cítricos es de tipo anátropo (Fig. 5.26A). Es decir, el primordio ovular se curva a medida que crece hasta quedar su eje mayor paralelo a la placenta. Anatómicamente, el óvulo está compuesto por la nucela, los tegumentos, la chalaza y el funículo (Fig. 5.26A-B). La nucela constituye el tejido más voluminoso del óvulo y contiene el megagametofito o saco embrionario. La nucela está envuelta por dos tegumentos, externo e interno. Por tanto, el óvulo de los cítricos es bitégmico. La porción apical de los tegumentos está abierta formando el micropilo, un orificio por el que pasarán los tubos polínicos en busca del saco embrionario. La chalaza es la región basal del óvulo en la que se insertan los tegumentos y de la que emerge el funículo, una especie de pedúnculo que une el óvulo a la placenta. Por la parte central del funículo discurre un haz vascular colateral que llega hasta la chalaza del óvulo y se encarga de nutrir a la nucela. Este haz colateral representa una ramificación de uno de los haces axiales localizados en el eje central del ovario.

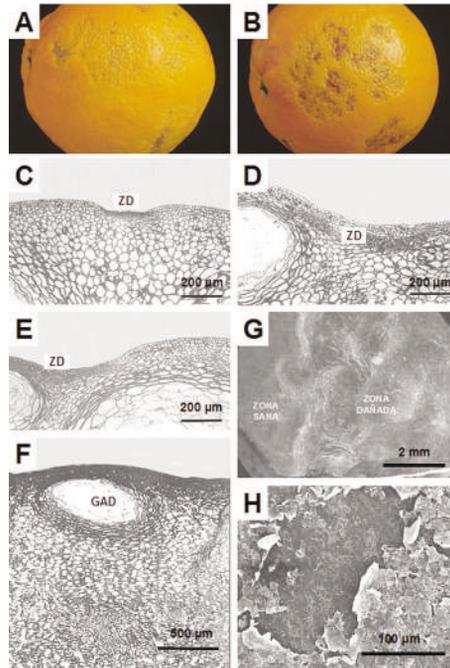


Figura 5.24. Caracterización morfológica, histológica y ultraestructural del fruto del naranjo dulce Navelina (*Citrus sinensis* L. Osb.) afectado de colapso de la corteza. (A) Fruto con síntomas ligeros de colapso (10% de la superficie del fruto afectada). (B) Fruto con síntomas severos de colapso (30% de la superficie del fruto afectada). (C) Sección transversal del flavedo de un fruto con síntomas ligeros de colapso. (D-E) Secciones transversales del flavedo de frutos con síntomas moderados de colapso. (F) Sección transversal del flavedo de un fruto con síntomas severos de colapso. (G-H) Microfotografías al microscopio electrónico de barrido de la superficie de un fruto con síntomas severos de colapso. GAD = glándula de aceites esenciales deformada; ZD = zona dañada del flavedo. Tinción: Azul de toluidina.

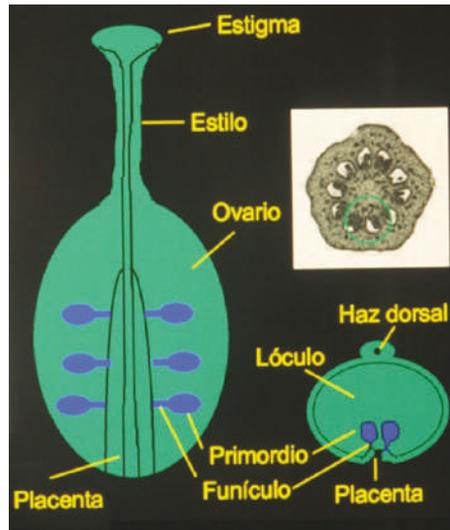


Figura 5.25. Representación esquemática de la placentación en el ovario de los cítricos.

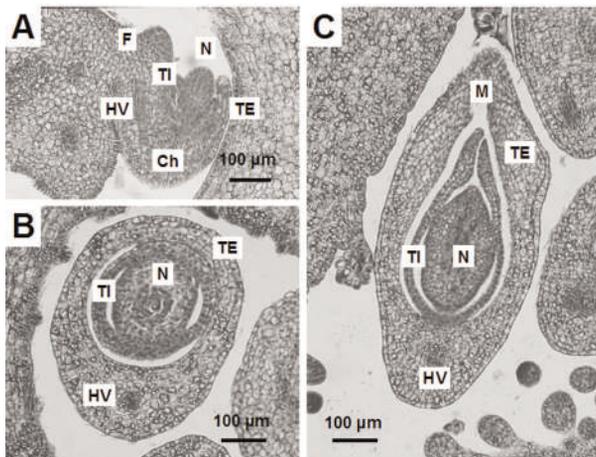


Figura 5.26. Secciones longitudinales (A) y transversales (B y C) de ovarios de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en donde se observan los diferentes elementos y tejidos que componen el óvulo. Ch = chalaza; F = funículo; HV = haz vascular; M = micropilo; N = nucela; TE = tegumento externo; TI = tegumento interno. Tinción: Safranina-verde rápido.

La nucela y los tegumentos que la rodean están formados por células de naturaleza parenquimática (Tadeo y Primo-Millo, 1988b). En general, la forma de las células que componen ambos tejidos del óvulo es elipsoidal o rectangular en sección transversal, siendo el tamaño de las células de la nucela algo menor que las de los tegumentos (Fig. 5.27A). Además del tamaño, las células de la nucela y los tegumentos varían en su relación citoplasma/vacuola. Así, las células de la nucela presentan una relación citoplasma/vacuola alta, mientras que en las células de los tegumentos esta rela-

ción es baja. Es decir, las células de los tegumentos están altamente vacuoladas y las de la nucela no lo están. Las paredes que delimitan el protoplasto de las células que componen ambos tejidos son ,en general, bastante finas (0,04-0,06 μm) y están atravesadas por un escaso número de plasmodesmos. Embebido en el citoplasma encontramos el núcleo, de apariencia redondeada, con un único nucleolo, y conteniendo escasos acúmulos de cromatina condensada localizados junto a su envoltura interna. En el citoplasma pueden observarse ribosomas, libres o formando parte del retículo endoplásmico, áreas de Golgi con escasos sáculos asociados, mitocondrias con pocos perfiles de crestas mitocondriales y amiloplastos con grandes acúmulos de almidón en su interior.

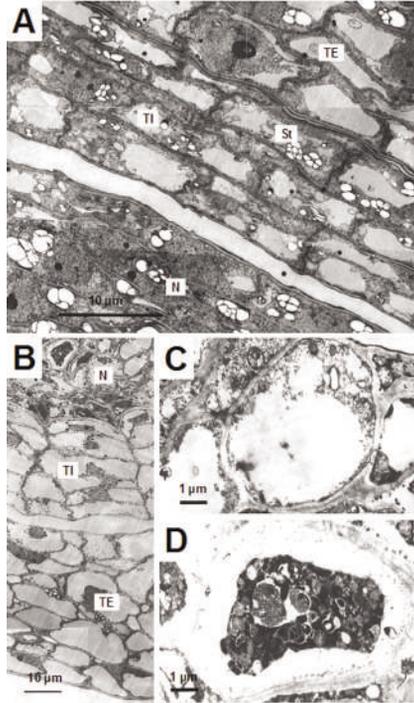


Figura 5.27. Microfotografías, al microscopio electrónico de transmisión, de óvulos de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en diferentes momentos de la floración y de la fructificación. (A) Características celulares de los tegumentos externo e interno y de la nucela de un óvulo en el estadio fenológico de flor cerrada y (B) 15 días después de la antesis. (C) Célula de la nucela con apariencia normal y (D) con síntomas de degeneración. N = nucela; St = almidón; TE = tegumento externo; TI = tegumento interno. Contraste: Acetato de uranilo y citrato de plomo.

La morfología, así como las características de las células que constituyen los tegumentos y la nucela varían a medida que el óvulo envejece (Fig. 5.28). En la variedad de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osbeck), los tegumentos empaquetan perfectamente a la nucela en el estadio fenológico de antesis (Fig. 5.28A). Quince días después, el empaquetamiento de la nucela es mas laxo (Figs. 5.27B y 5.28B) y a los 25 días después de la antesis pueden observarse síntomas de

degeneración tisular tanto en los tegumentos como en la nucela (Fig.5.28C). Alrededor de un mes después de la antesis el proceso de degeneración de estos tejidos está muy avanzado (Fig. 5.28D). Las células de la nucela comienzan a mostrar síntomas de degeneración cuando los ovarios alcanzan entre 5 y 6 mm de diámetro (Fig. 5.27B). Estas células en degeneración coexisten con otras de apariencia normal (Fig. 5.27C) y se caracterizan por la contracción de su protoplasto, apareciendo una zona vacía de contenido entre la pared celular y el plasmalema (Fig. 5.27D). Su citoplasma presenta un apariencia desorganizada y es muy difícil reconocer a la mayoría de orgánulos celulares. El núcleo es picnótico y la vacuola central ha desaparecido encontrándose gran cantidad de vacuolas multivesiculares libres.

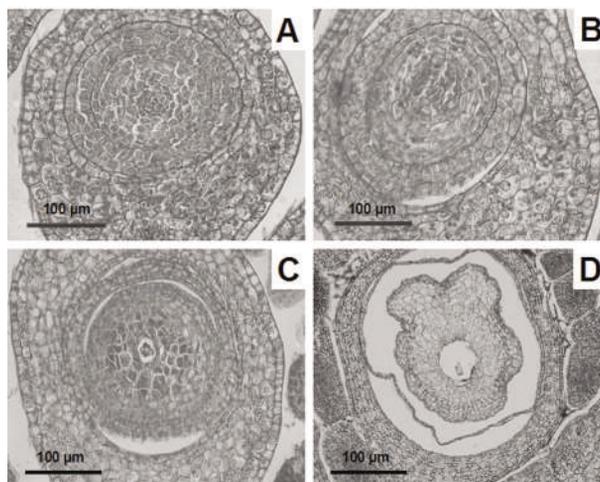


Figura 5.28. Secciones transversales de óvulos pertenecientes a ovarios de naranjo dulce Navelate (*Citrus sinensis* L. Osb.) en diferentes momentos de la floración y la fructificación. (A) Estadio fenológico de antesis, (B) 15 días después de antesis, (C) 25 días después de antesis y (D) 1 mes y medio después de antesis. Tinción: Safranina-verde rápido.

Los primordios ovulares emergen en zonas discretas de la placenta y se forman a partir de divisiones periclinales de las células epidérmicas y las dos primeras capas de células subepidérmicas; por esta razón, se dice que los primordios ovulares de los cítricos son del tipo tri-zonal. Estos primordios ovulares son ya visibles en los lóculos del ovario en el estadio floral A en la variedad de naranjo dulce Valencia (Koltunow y cols., 1995). El tegumento interno se diferencia y comienza su desarrollo antes que el externo y en el estadio floral B ya se reconocen cubriendo la mitad de la nucela. En la región micropilar de la nucela puede distinguirse ya en este estadio una célula de considerable tamaño en relación a las que la rodean; es la célula madre de la megaspora. Esta célula se localiza varias capas celulares por debajo de la epidermis de la nucela por lo que el óvulo de los cítricos es de tipo crasinucelado. La megasporogénesis comienza con dos ciclos de división meiótica, formándose cuatro megasporas. La megaspora que ocupa la posición más basal es la que persiste mientras que las otras degeneran. A este tipo de megasporogénesis se la denomina monospórica. En el estadio floral C, el tegumento externo rodea completamente a la nucela, mientras que el interno aún no ha alcanzado su máximo grado de desarrollo. La megagametogénesis o formación del saco embrionario ya ha comenzado en este estadio pudiendo observarse dos núcleos en el megagametofito. Este hecho significa que ya se ha producido la primera

división mitótica. En el estadio D el tegumento interno ha completado su desarrollo y el micropilo está perfectamente formado. En el megagametofito encontramos cuatro núcleos por lo que ya ha concluido la segunda división mitótica. Inmediatamente después de la antesis se produce en el megagametofito la tercera división mitótica y se organiza el saco embrionario maduro. En los cítricos, el saco embrionario es del tipo polygonium y está formado por una oosfera y dos sinérgidas en la zona micropilar, dos núcleos polares que ocupan la porción central y tres antípodas que se sitúan en la zona chalazal.

Mediante la fertilización del saco embrionario, al unirse los núcleos generativos transportados por el tubo polínico con la oosfera y los núcleos polares, se formará el embrión sexual ($2n$) y el endospermo ($3n$), comenzando así el desarrollo de la semilla. A medida que crece y se desarrolla el embrión sexual, el endospermo y la nucela desaparecen mientras que los tegumentos, externo e interno, comienzan a formar las dos cubiertas de la semilla madura, la testa y el tegmen, respectivamente (Frost y Soost, 1968). La parte externa de la testa, con una estructura de tipo en empalizada, se denomina exotesta, mientras que la parte interna se denomina mesotesta. El embrión sexual pasará sucesivamente por los estadios de corazón, torpedo y cotiledonar hasta su completa maduración.

En los cítricos, la formación de embriones no sexuales a partir de células de la nucela es un fenómeno bastante frecuente. Este tipo de embriogénesis se denomina adventicia o nucelar (Wakana y Uemoto, 1987; 1988; Koltunow y cols., 1995). Los embriones nucelares pueden formarse tanto en los óvulos no fertilizados, contengan o no saco embrionario, como en los fertilizados. Estos embriones se forman a partir de las denominadas células iniciales nucelares y se localizan en el extremo micropilar de la nucela, en los alrededores del lugar que debería ocupar u ocupa el saco embrionario. Estas células presentan forma rectangular en sección transversal, poseen un núcleo prominente y conforman una masa elíptica. No todas las células iniciales continúan su desarrollo. Las células que progresan pronto forman pequeños grupos de embriones globulares con una red vascular que los conecta con la chalaza de los óvulos. Estos embriones se localizan rodeando al saco embrionario tanto en los óvulos fertilizados como en los no fertilizados.

BIBLIOGRAFÍA.

- Achor, D.S., Albrigo, L.G. y McCoy, C.W. (1991). Developmental anatomy of lesions on 'sunburt' mandarin leaves initiated by citrus rust mite feeding. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 116, 663-668.
- Agustí, M. y Almela, V. (1991). Aplicación de Fitorreguladores en Citricultura. 261 pp. Editorial AEDOS.
- Agustí, M., Almela, V., Juan, M., Alferez, F., Tadeo, F.R. y Zacarias, L. (2001). Histological and physiological characterization of rind breakdown of 'Navelate' sweet orange. *Ann. Bot.* 88, 415-422.
- Agustí, M. y Zaragoza, S. (2000). Desórdenes fisiológicos. En: Enfermedades de los Cítricos, Durán-Vila, N. y Moreno, P. (Eds), pp 111-114. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Almela, V., Agustí, M. y Pons, J. (1992). Rind spots in Fortune mandarin. Origin and control. *Physiol. Plant.* 85, A60 (abstract).
- Bain, J.M. (1958). Morphological, anatomical and physiological changes in the developing fruit of the Valencia orange, *Citrus sinensis* (L.) Osbeck. *Aust. J. Bot.* 6, 1-24.
- Ben Cheikh, W., Pérez-Botella, J., Tadeo, F.R., Primo-Millo, E. y Talon, M. (1997). Pollination increases gibberellin levels in developing ovaries of seeded varieties of citrus. *Plant Physiol.* 114, 557-564.
- Bevington, K.B. y Castle, W.S. (1985). Annual root growth pattern of young citrus trees in relation to shoot growth, soil temperature and soil water content. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 110, 840-845.
- Burns, J.K., Achor, D.S. y Echeverría, E. (1992). Ultrastructural studies on the ontogeny of grapefruit juice vesicles (*Citrus paradisi* Macf. Cv Star Ruby). *Int. J. Plant Sci.* 153, 14-25.
- Burns, J.K., Achor, D.S. y Echeverría, E. (1994). Carpellary outgrowth development in the endocarp of grapefruit, *Citrus paradisi* (Rutaceae). *Amer. J. Bot.* 81, 760-769.
- Bustan, A., Erner, Y. y Goldschmidt, E.E. (1995). Interactions between developing Citrus fruits and their supportive vascular system. *Ann. Bot.* 76, 657-666.
- Casas, A. y García-Bataller, L. (1986). Manchas en las naranjas Navelina. *Rev. Agroquím. Tecnol. Aliment.* 26, 309-317.
- Castle, W.S. (1987). Citrus rootstocks. En: Rootstocks in Fruit Crops. Rom, R.C. y Carlson, R.F. (Eds.), pp. 361-399. John Wiley and Sons, New York.
- Ciampolini, F., Cresti, M., Sarfatti, G. y Tiezzi, A. (1981). Ultrastructure of the stylar canal cells of *Citrus limon* (Rutaceae). *Pl. Syst. Evol.* 138, 263-274.
- Crescimanno, F.G., De-Pasquale, F., Germana, M.A., Ciampolini, F. y Cresti, M. (1988a). Ultrastructural and physiological observations on pollen of five clementine (*C. clementina* Hort. ex Tan.) cultivars. Citriculture. Sixth international citrus congress, Middle-East, Tel Aviv, Israel. Volume 1, pp. 443-450. Balaban Publishers, Israel/Rehovot.

- Crescimanno, F.G., De-Pasquale, F., Germana, M.A., Ciampolini, F. y Cresti, M. (1988b). Ultrastructural and physiological observations on the pollen of six lemon cultivars (*C. limon* [L.] Burm. f.). *Citriculture*. Sixth international citrus congress, Middle-East, Tel Aviv, Israel. Volume 1, pp. 451-457. Balaban Publishers, Israel/Rehovot.
- Cresti, M., Ciampolini, F., van Went, J.L. y Wilms, H.J. (1982). Ultrastructure and histochemistry of *Citrus limon* (L.) stigma. *Planta* 156, 1-9.
- Davies, F.S. y Albrigo, L.G. (1994). *Citrus*. 254 pp. CAB International, Wallingford, U.K.
- DuPlessis, S.F. (1978). Rind defects of citrus: oleocellosis and rind pitting. *Citrus Subtrop. Fruit J.* 534, 12-16.
- Einset, J.W., Cheng, A. y Elhag, H. (1980). Citrus tissue culture: Regulation of stylar abscission in excised pistils. *Can. J. Bot.* 58, 1257-1261.
- Erner, Y. y Shomer, I. (1996). Morphology and anatomy of stems and pedicels of spring flush shoots associated with citrus fruit set. *Ann. Bot.* 77, 537-545.
- Forner, J.B. (1984). Interacciones entre el injerto y el patrón en los agrios. 20 pp. Hoja divulgadora del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Neografis S. L. Madrid.
- Frost, H.B. y Soost, R.K. (1968). Seed reproduction: Development of gametes and embryos. En: *The Citrus Industry*, Vol. II. Reuther, W., Batchelor, L.D. y Webber, H.J. (Eds.), pp. 290-324. University of California Press, California. U.S.A.
- García-Agustín, P. y Primo-Millo, E. (1989). Ultrastructural and biochemical changes in cotyledon reserve tissues during germination of citrus seeds. *J. Exp. Bot.* 40, 383-390.
- García-Marí, F., Costa-Comelles, J., Vercher, R. y Granda, C. (1997). El minador de hojas de cítricos: Presente y futuro de una plaga importada. *Phytoma* 92, 94-102.
- Garrido, A., Jacas, J., Margaix, C. y Tadeo, F.R. (1998). Biología del minador de las hojas de los cítricos. *Levante Agrícola* 343, 167-171.
- Goldschmidt, E.E. y Leshem, B. (1971). Style abscission in the citron (*Citrus medica* L.) and other citrus species: Morphology, physiology, and chemical control with picloran. *Amer. J. Bot.* 58, 14-23.
- Goren, R. (1993). Anatomical, physiological, and hormonal aspects of abscission in citrus. *Hort. Rev.* 15, 145-181.
- Grierson, W. (1986). Physiological disorders. En: *Fresh Citrus Fruits*. Wardowski, W.F., Nagy, S. Y Grierson, W. (Eds.). The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut, U.S.A.
- Kahn, T.L. y DeMason, D.A. (1986). A quantitative and structural comparison of Citrus pollen tube development in cross-compatible and self-incompatible gynoecia. *Can. J. Bot.* 64, 2548-2555.
- Kahn, T.L. y DeMason, D.A. (1988). Citrus pollen tube development in cross-compatible gynoecia, self-incompatible gynoecia, and in vitro. *Can. J. Bot.* 66, 2527-2532.

- Koltunow, A.M., Soltys, K., Nito, N. y McClure, S. (1995). Anther, ovule, seed, and nucellar embryo development in *Citrus sinensis* cv. Valencia. *Can. J. Bot.* 73, 1567-1582.
- Lord, E.M. y Eckard, K.J. (1985). Shoot development in *Citrus sinensis* L. (Washington Navel orange). I. Floral and inflorescence ontogeny. *Bot. Gaz.* 146, 320-326.
- Lima, J.F.O. y Davies, F.S. (1984). Secondary-fruit ontogeny in Navel orange. *Amer. J. Bot.* 71, 532-541.
- Moya, J.L. (2000). Procesos y factores que determinan la tolerancia a la salinidad en los cítricos. Absorción y distribución de iones cloruro en los patrones mandarino Cleopatra y citrange Carrizo. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Valencia.
- Pérez-Botella, J., Tadeo, F.R., Primo-Millo, E. y Talón, M. (1997). Influencia de la polinización en el crecimiento y abscisión del fruto de los cítricos. Relación entre giberelinas y partenocarpia en el híbrido "Fortune". XII Reunión Nacional de la SEFV - V Congreso Hispano-Luso de Fisiología Vegetal, C4-5. Córdoba.
- Romero-Aranda, R., Moya, J.L., Tadeo, F.R., Legaz, F., Primo-Millo, E. y Talon, M. (1998). Physiological and anatomical disturbances induced by chloride salts in sensitive and tolerant citrus: Beneficial and detrimental effects of the cations. *Plant, Cell Environm.* 21, 1243-1253.
- Schneider, H. (1968). The anatomy of citrus. En: *The Citrus Industry*, Vol. II. Reuther, W., Batchelor, L.D. y Webber, H.J. (Eds.), pp. 1-85. University of California Press, California. U.S.A.
- Spiegel-Roy, P. y Goldschmidt, E.E. (1996). Reproductive physiology: flowering and fruiting. En: *Biology of Citrus*, pp. 70-125. Cambridge University Press, U.K.
- Stead, A.D., Page, A.M. y Zacarias, L. (1996). Ultrastructural and physiological aspects of the abscission of leaves from wild type and a non-abscising mutant ("Ricalate") of oranges. Annual Meeting of the Society for Experimental Biology. Lancaster.
- Syvertsen, J.P. (1984). Light acclimation in citrus leaves. II. CO₂ assimilation and light, water and nitrogen use efficiency. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 109, 812-817.
- Tadeo, F.R. (1988). Cambios ultraestructurales y bioquímicos que ocurren en el gineceo de los cítricos durante los periodos de floración y cuajado. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Valencia.
- Tadeo, F.R., Gómez-Cadenas, A., Ben-Cheikh, W., Primo-Millo, E. y Talon, M. (1996). Giberelinas y crecimiento de la raíz de cítricos: Cambios anatómicos inducidos por inhibidores de la síntesis de giberelinas y ácido giberélico. *Metabolismo y Modo de Acción de Fitohormonas*, V Simposio. Tiburcio AF, Bastida J, Altabella T (Eds), pp 86-90. Barcelona.
- Tadeo, F.R., Gómez-Cadenas, A., Ben-Cheikh, W., Primo-Millo, E. y Talon, M. (1997). Gibberellin-ethylene interaction controls radial expansion in citrus roots. *Planta* 202, 370-378.
- Tadeo, F.R., Gómez-Cadenas, A., Primo-Millo, E. y Talon, M. (1998). La interacción entre las giberelinas, las auxinas y el etileno modula el crecimiento radial de la raíz de los cítricos. *Metabolismo y Modo de Acción de Fitohormonas VI Simposio*, Sánchez-Tamés R (Ed), pp 99-107. Oviedo.

- Tadeo, F.R., Iglesias, D.J., Gómez-Cadenas, A., Primo-Millo, E. y Talon, M. (2000). Las giberelinas y el etileno modulan la formación de raíces laterales inducida por auxinas en los cítricos. *Metabolismo y Modo de Acción de Fitohormonas VII Simposio*, Matilla, A. (Ed), pp 48-53. Santiago de Compostela.
- Tadeo, F.R. y Primo-Millo, E. (1988). Ultrastructural changes in the developing ovaries of Citrus. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress*. Goren R, Mendel K (Eds.), pp 417-429. Balaban Publishers, Philadelphia/Rehovot.
- Tadeo, F.R. y Primo-Millo, E. (1988). An ultrastructural study on development and degeneration of unfertilized Citrus ovules. *Proceedings of the Sixth International Citrus Congress*. Goren R, Mendel K (Eds.), pp 431-441. Balaban Publishers, Philadelphia/Rehovot.
- Tadeo, F.R. y Primo-Milo, E. (1990). Peroxidase activity changes and lignin deposition during the senescence process in Citrus stigmas and styles. *Plant Sci.* 68, 47-56.
- Talon, M., Agustí, M., Almela, V., Tadeo, F.R. y Primo-Millo, E. (1995). Aplicaciones hormonales en el cultivo de los agrios. *Cursos de Formación de Agricultores Cualificados*, 26 pp. Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació, Generalitat Valenciana.
- Vansell, G.H., Watkins, W.G. y Bishop, R.K. (1942). Orange nectar and pollen in relation to bee activity. *J. Econ. Ent.* 35, 321-323.
- Vercher, R., Tadeo, F.R., Almela, V., Zaragoza, S., Primo-Millo, E. y Agustí, M. (1994). Rind structure, epicuticular wax morphology and water permeability of 'Fortune' mandarin fruits affected by peel pitting. *Ann. Bot.* 74, 619-625.
- Walker, R.R., Sedgley, M., Blesing, M.A. y Douglas, T.J. (1984). Anatomy, ultrastructure and assimilate concentrations of roots of citrus genotypes differing in ability for salt exclusion. *J. Exp. Bot.* 35, 1481-1492.
- Wanaka, A. y Uemoto, S. (1987). Adventive embryogenesis in citrus. I. The occurrence of adventive embryos without pollination or fertilization. *Amer. J. Bot.* 74, 517-530.
- Wanaka, A. y Uemoto, S. (1988). Adventive embryogenesis in citrus (Rutaceae). II. Fertilization development. *Amer. J. Bot.* 75, 1033-1047.
- Zacarias, L., Tadeo, F.R., Bono, R. y Primo-Millo, E. (1993). Abscission studies in a new mutant of Navel oranges. En: *Cellular and Molecular Aspects of the Plant Hormone Ethylene*. Pech JC, Latché A, Balaguer C (Eds.), pp 284-290. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Zacharia, D.B. (1951). Flowering and fruit setting of 'Shamouti' orange trees. *Palest. J. Rehovot Ser.* 8, 84-94.
- Zaragoza, S. y Alonso, E. (1975). El manchado de la corteza de los agrios. Estudio preliminar en la variedad Navelate. *Manchas pre-recolección*. *Comun. INIA, Serv. Prot. Veg.* 4: 32pp.

ÍNDICE ANALÍTICO

A

Ácido nucleico	16, 18, 19, 23
Aclareo de frutos	69
Albedo	(ver Corteza del fruto)
Amiloplastos	(ver Plastos)
Androceo	61
Antera	16, 61, 65, 66, 67, 76, 77
Endotecio	76
Exotecio	76
Antesis	15, 33, 61, 62, 65, 66, 67, 68, 69, 70 72, 74, 76, 81, 82, 83, 84, 89, 90
Antípodas	(ver Saco embrionario)
Area de Golgi	13, 23, 25, 30, 33, 78, 82, 83, 88
Aparato reticular interno	22
Apoplasto	13, 22
ATPasas	16
Autodigestión	24
Autofluorescencia	75, 76
Autoincompatibilidad gamética	67
Autólisis celular	24
Autopolinización	66, 67

B

Banda de Caspary	39
Baya	63
Brotación	37, 47, 56, 64
Brote vegetativo	25, 35, 47, 52

C

Caída de pétalos	67, 71, 72, 73, 74, 75, 79, 80, 81
Caliptra	25, 26, 38
Cáliz	61
Calosa	66, 67
Cámara	
subestomática	31, 53
de origen esquizógeno	28
de origen lisígeno	28
Cambium	
suberoso	27
vascular	26, 27, 32, 33, 40, 42
Canales estilares	22, 33, 62, 66, 71, 72 74, 75, 85
Capa protodérmica	49

Carotenoides	22
Carpelo	62, 64, 65, 77, 81, 85
Células	
albuminíferas	(ver Floema)
anexas	(ver Floema)
corticales	27, 43, 55, 66, 72, 75
de los canales estilares	22, 75, 85
de paso	39
derivadas de las iniciales	25
esclerenquimatosas	69
estigmáticas	22
estomáticas	30, 31
globosas de las	
emergencias carpelares	22
iniciales	25, 26, 38, 44, 81
iniciales nucelares	90
madre de la megaspora	19, 89
madre de las microsporas	19, 76
nucelares	35
parenquimáticas	27, 29, 33, 34, 40 49, 52, 54, 63, 68, 71, 73
secretoras	22
Celulosa	14, 29
Centro quiescente	(ver Raíz)
Ceras epicuticulares	30, 78, 85
Cisterna perinuclear	19
Citoesqueleto	17
Citoplasma	13, 14, 17-19, 21, 24, 25, 30 33-35, 55, 56, 58, 66, 73-76, 78, 80-83, 87-89
Citosol	13, 17, 24
Citosomas	23
Chalaza	86, 87, 90
Cleistogamia	66
Clorofila	21, 22
Cloroplasto	(ver Plastos)
Cofia	25, 26, 38
Colapso de la corteza	(ver Desordenes fisiológicos)
Compartimentos lisosómicos	24
Corola	61
Corpus	25, 26
Córtex	14, 15, 16, 19, 20, 23, 26, 29, 31 32, 38, 39, 42, 44, 49, 50, 66, 68 71, 73, 75, 76

Corteza del fruto
 Albedo 63, 79, 83, 85
 Flavedo 22, 63, 83, 84, 85, 86
 Crecimiento intercalar 47, 82
 Cromatina 19, 20, 73, 74, 88
 Eucromatina 19, 20
 Heterocromatina 19, 20
 Cromoplastos (ver Plastos)
 Cutícula 30, 49, 52, 63, 71, 73
 78, 79, 82, 84, 85
 Cutina 14, 30, 56

D

Dehiscencia del fruto 66, 77
 Depósitos lipídicos 39
 Dermatógono 26, 38
 Desordenes fisiológicos 68, 83
 Colapso de la corteza 83, 85, 86
 Picado 83, 84, 85
 Dictiosomas 22, 30, 73, 74, 75
 Disco floral 22, 33, 62, 68
 Dotación genética 19
 Diplode 19, 77
 Haploide 19, 77

E

Elementos de la flor 65
 Protectores 61, 65
 Reproductivos 61
 Embriogénesis 67, 88
 Adventicia 67, 88
 Nucelar 33, 67, 88
 Embrión sexual 88
 Embriones no sexuales 67, 88
 Emergencias carpelares 22, 78, 81
 Endocarpo (ver Fruto)
 Endocitosis 16
 Endodermis 14, 19, 31, 39, 44
 Endotecio (ver Antera)
 Entrenado 25, 32, 47, 48, 49
 Envoltura 19, 22, 88
 del cloroplasto 22
 nuclear 19
 Epicotilo 35, 47
 Epidermis 14, 18, 26, 28, 29, 30, 31, 34
 38, 44, 49, 52, 54, 56, 68, 71
 73, 76, 78, 79, 81, 84, 85, 89

Esclereidas 29, 50, 54
 Esclerénquima 29, 41
 Espacio 13, 15, 16, 20, 47, 80, 83
 interlamelar 20
 periplásmico 15, 16, 83
 Espinas 47
 Estambres 16, 33, 61, 62, 63, 65, 70, 76
 Estela 26, 29, 38, 39, 41, 42, 43, 44
 Esterilidad gamética 67
 Estigma 22, 33, 62, 65, 66, 67, 70-76
 Papilas estigmáticas 67
 Zona estigmática 71-76
 Zona estigmoide 71
 Estilo 14, 16, 19, 20, 23, 33, 62, 66
 67, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76
 Estomas 30, 31, 33, 48, 49, 52, 53, 78
 Estroma 22
 Exina (ver Grano de polen)
 Exocarpo (ver Fruto)
 Excitosis 16
 Exotecio (ver Antera)

F

Fecundación 63, 66
 Felodermis 27, 29, 50, 56
 Felógeno 27, 29, 31, 50
 Fibras de esclerénquima 32, 33, 53, 70
 Filotaxis 48
 Flavedo (ver Corteza del fruto)
 Floema 26
 Células albumíferas 32
 Células anexas 31, 32
 Fibras esclerenquimatosas 32, 33, 53, 70
 Metafloema 32
 Parénquima axial y radiomedular 32, 33
 Protofloema 32, 39, 42, 49, 68, 69
 Tubos y células cribosas 32
 Flor 11, 14, 19, 20, 23, 25, 31, 61-63
 65-68, 70-77, 80, 88
 Haces 39, 40-42, 52, 63, 68, 71, 77, 86
 centrales 63
 dorsales 63
 estaminales 63
 estilares 63
 laterales 63
 marginales 63
 ovulares 63

septales	63
vasculares axiales	63
Verticilos o elementos florales	29, 61, 65
Floración	11, 61, 64, 65, 88, 89
Fotosíntesis	22, 27, 28, 32, 48, 52
Eficacia fotosintética	47
Fructificación	11, 61, 66, 78, 83, 85, 88, 89
Fruto	11, 21, 22, 25, 29, 30, 32-34, 47
52, 61-64, 66-70, 77, 78, 82-86	
Endocarpo	21, 62, 63, 77, 78, 81, 82
Exocarpo	21, 62, 77-79, 84
Mesocarpo	17, 18, 23, 62, 63, 77-81
Pericarpo	62, 77, 78, 80, 81
secundario o navel	64
Funículo	86, 87

G

Gineceo	33, 61, 62
Glándulas de aceite	34, 49, 63, 77, 85
Glicolisis	17
Glicoproteínas	14, 17, 22
Glioxisomas	23, 24, 35
Grana	21, 22, 80
Grano de polen	33, 66, 67, 70, 72, 77
Exina	77
Intina	77
Gránulos	21, 30
de almidón	22, 31
osmiofílicos	21

H

Hemicelulosa	14
Hesperidio	63
Hidroxiprolina	14
Hipocotilo	35
Hipodermis	14, 26, 29, 31, 38, 39, 79, 81
Histógenos	26, 38
Dermatógeno	26, 38
Periblema	26, 38
Pleroma	26, 38
Hoja	11, 18, 21, 25, 28-31, 34, 41, 47
48, 50-59, 68	
Envés (cara abaxial)	30, 52, 56
Haz (cara adaxial)	52, 55, 56
Nervio	56
principal	54
secundarios o laterales	54

I

Idioblastos	53
Intina	(ver Grano de polen)
Imbibición	35, 36
Incompatibilidad cruzada	67
Inducción floral	61, 64
Interfase	18, 19, 20, 37

J

Jugo vacuolar	18
-------------------------	----

L

Lamelas	22
Lámina	56
media	14, 25, 27, 30
nuclear	19
Leucoplasto	(ver Plastos)
Lignina	14, 28, 29, 31, 39, 56, 75
Limbo	52, 54, 55
Lisosoma	22, 23, 24, 55
Lóculos	62, 63, 66, 67, 70, 76, 77, 81, 85, 89

M

Maduración	22, 61, 68, 82, 83, 90
Megagametofito	86, 89, 90
Megasporas	19, 89
Megasporogénesis	89
Meiosis	19
Membrana plasmática	13, 15
Meristemos	25, 26
Apicales	25, 26, 29
Caulinares	25
Intercalares	25
Primarios	25
Radicales	25, 26
Mesocarpo	(ver Fruto)
Mesófilo	52, 53, 56
Metafloema	(ver Floema)
Metaxilema	(ver Xilema)
Microcuerpos	13, 23
Microfilamentos	17
Micropilo	66, 86, 87, 90
Microspora	19, 76, 77

Microtúbulos17
 Mitocondria .. 13, 14, 16, 17, 20, 21, 22, 24
 25, 30, 35, 73-75, 78-83, 88
 Mitosis 18, 19, 77

N

Nectarios (ver Disco floral)
 Nucela 66, 86, 87, 88, 89, 90
 Núcleo 13, 18, 19, 20, 22, 28, 30, 66
 73, 74, 75, 76, 77, 79, 88, 89, 90
 generativo 77
 picnótico 89
 polares (ver Saco embrionario)
 Nucleoides 22
 Nucleolo 18, 19, 20, 73, 74, 79, 88
 Nucleoplasma 19
 Nudo 47, 48

O

Oosfera 35, 77, 90
 Organogénesis floral 65
 Ostiolo 30
 Ovario .. 18, 19, 22, 28, 33, 34, 61, 62, 63, 66
 67, 68, 70, 71, 77, 78, 79, 80, 85, 86, 87, 89
 Óvulo 35, 66, 77, 85, 86, 87, 88, 89
 Anátropo 86

P

Papilas estigmáticas (ver Estigma)
 Pared celular 13, 14, 15, 17, 22, 23, 35
 73, 75, 77, 80, 82, 89
 primaria 14, 25, 27, 29, 30
 secundaria 14, 27, 29
 Parénquima 27, 28, 32, 33, 53, 56
 asimilador o clorofílico 28
 axial o radiomedular (ver Floema
 y Xilema)
 de reserva 28
 en empalizada . 21, 28, 52, 53, 56, 58
 lagunar 53, 56, 58
 Pecíolo 52, 54, 55, 56
 Pectinas 14
 Pedúnculo . 29, 32, 61, 62, 63, 67, 68, 69, 70, 86

Pelos
 epidérmicos 49
 radiculares 38
 Perianto 61, 63
 Periblema (ver Histógenos)
 Periciclo 25, 28, 39, 41, 44, 45
 Peridermis 29, 56
 Peroxidasas 75
 Pétalos 34, 61, 63, 65, 67, 70-76, 79-81
 Picado (ver Desordenes fisiológicos)
 Placenta 85, 86, 89
 Placentación axial 85
 Plasmalema (ver Membrana plasmática)
 Plasmodermos 30
 ramificados 14, 15, 74
 Plastoglobulos 21, 22, 73, 74, 80, 83
 Plastos ... 13, 20, 21, 25, 31, 74, 78, 80-83
 Amiloplastos .. 21, 30, 35, 36, 72-75
 78, 79, 88
 Cloroplastos .. 21, 22, 28, 58, 78, 79
 Cromoplastos 21, 22
 Leucoplastos 21
 Pleroma (ver Histógenos)
 Polirribosomas (polisomas) 17
 Poros nucleares 19
 Primordios 26, 45, 48, 76, 82, 86
 de las raíces secundarias 39
 ovulares 85, 89
 Procambium 27, 32, 33
 Proteínas de membrana 15
 Protofloema (ver Floema)
 Protoplasto 13, 15, 74, 88, 89
 Protoxilema (ver Xilema)

R

Radícula 35
 Raíz ... 18, 25-29, 31, 33, 35-40, 42-44, 47
 Centro quiescente 38
 Médula 28, 29, 32, 38, 40,
 41, 49, 54, 68
 Raíces laterales
 o secundarias 25, 37, 45
 Zona
 de elongación . 37, 39, 42, 43
 de especialización 37, 39, 42, 43
 meristemática 37

Sèrie Divulgació Tècnica n° 54

Histología y Citología de Cítricos

Conselleria d'Agricultura, Peixca i Alimentació

2 0 0 3

ISBN 84-482-3436-7



Se autoriza la reproducción íntegra de esta publicación,
mencionando su origen.