El vuelco en el cultivo de girasol: características anatómicas y mecánicas del sistema radical

Milena E. Manzur, Antonio J. Hall, Claudio A. Chimenti
IFEVA (CONICET/UBA). Av. San Martín 4453, CP1417DSE, Ciudad de Buenos Aires, Argentina.
E-mail: mmanzur@ifeva.edu.ar

ABSTRACT

The objectives of this study were to identify the anatomical, morphological and mechanical properties of the root system of sunflower plants related to their tolerance to root lodging, and to evaluate the effects of increases in crop population density on these properties. An experiment was carried out using crops of two genotypes of susceptibility to lodging (CF29: tolerant and Zenit: sensitive) sown to achieve densities of 5.6, 10 and 16 plants.m^{-2}. At the R6 (end of anthesis) developmental stage plants were artificially lodged and the following response variables assessed: total root biomass in the root plate (hemisphere of roots and soil formed when lodging occurs) and separated by layers (0–5 and > 5 cm depth), root number (classified in three categories [0–1 mm; 1.1–2 mm; >2 mm diameters]), axial tension required to provoke root failure, and the number and cell wall thickness of vascular bundles in root cross-sections. The CF29 genotype had 1.35 fold greater root biomass than Zenit, mainly located in the first layer of soil (0–5 depth). This higher biomass of CF29 reflected a higher root number than Zenit for all three categories of root diameter. Roots of CF29 exhibited higher axial tension failure thresholds than those of Zenit, and these thresholds increased more sharply with root diameter than for Zenit. In addition, CF29 roots had vascular bundles with thicker cell walls (30% greater) with respect to Zenit. In summary, the better anchorage of CF29 with respect to Zenit arises from several mutually reinforcing characteristics at both root-plate and individual root axis morphology and histology levels.

Key words: cell wall thickness – crop population density – root axial tensile strength – root biomass – root lodging – root number

RESUMEN

Este trabajo tuvo como objetivos identificar las propiedades morfo–anatómicas y mecánicas del sistema radical de plantas de girasol que le confieren tolerancia al vuelco, y evaluar los efectos del aumento en la densidad poblacional del cultivo sobre dichas propiedades. Se realizó un experimento utilizando dos genotipos de comportamiento contrastante al vuelco (CF29: tolerante y Zenit: susceptible) sembrados a densidades crecientes (5.6, 10 y 16 plantas.m^{-2}). En la etapa R6 (fin de antesis), las plantas fueron volcadas artificialmente y se midieron las siguientes variables: biomasa radical total y por estrato (0–5 y > 5 cm prof.) en el plato de raíces (hemiesfera de suelo y raíces formado cuando la planta vuelca), número de raíces (en tres categorías diamétricas [0–1 mm; 1.1–2 mm; >2 mm]), tensión axial requerida para la ruptura radical, número de los haces vasculares en la estela radical y espesor de las paredes celulares. Los resultados mostraron que CF29 tuvo 1.35 veces más biomasa radical en el plato que Zenit, concentrada en los primeros centímetros de suelo. La mayor biomasa radical de CF29 estuvo asociada con un mayor número de raíces con respecto a Zenit en las tres clases diamétricas exploradas. Además, las raíces de CF29 fueron más resistentes a la tensión axial que las de Zenit, diferencias que se incrementaron con diámetros radicales crecientes. La mayor resistencia de las raíces de CF29 estuvo relacionada a haces vasculares con paredes secundarias más gruesas (30% mayor respecto a Zenit). Resumiendo, el mejor sistema de anclaje de CF29 frente a Zenit tuvo su origen en varias características, expresada a los niveles de sistema radical total y de la morfo-histología de ejes radicales individuales, que se reforzaban mutuamente.

INTRODUCCIÓN

El fenómeno de vuelco de las plantas es un factor abiótico importante que limita la producción en el cultivo de girasol, y en éste, como en otros cultivos (*Triticum aestivum*, *Hordeum vulgare* y *Avena sativa*), provoca no solo reducciones significativas del rendimiento en grano, sino también de su calidad (Kelbert et al., 2004). Para Argentina, se ha estimado que un 10% del área se vuelca cada año, causando pérdidas estimadas en 40 millones de U$D por año (Bragachini et al., 2001). La probabilidad de ocurrencia de vuelco depende tanto de cuestiones ambientales (p.ej., velocidad del viento, resistencia al

cizallamiento del suelo mojado), como intrínsecos de la planta (p.ej., rigidez del tallo, propiedades del sistema radical en las inmediaciones de la base del tallo) (Pinthus, 1973; Berry et al., 2000; Cleugh et al., 1998). El vuelco se asocia principalmente con la lluvia (Baker et al., 1998) que debilita el sistema de anclaje de la planta, combinada con la fuerza que ejerce el viento y que actúa sobre la parte aérea de de la planta, dando como resultado un momento de palanca en la base del tallo que excede el momento de quiebre de las raíces (Berry et al., 2004).

Recientemente se ha demostrado que el cultivo de girasol tiene el potencial de incrementar su rendimiento ante aumentos considerables en la densidad poblacional del cultivo por arriba de las densidades comerciales usuales en Argentina (López Pereira et al., 2004). Sin embargo la implementación de esta práctica se ve limitada por la mayor probabilidad de ocurrencia de vuelco. Por otro lado, es sabido que existe una amplia variabilidad en la tolerancia a este fenómeno entre distintos genotipos, habiéndose evaluado al momento dos genotipos de comportamiento contrastante: CF29 (tolerante) y Zenit (susceptible) (Sposaro et al., 2008). Analizar los efectos que tiene el aumento de la densidad poblacional sobre las características del sistema radical de las plantas en genotipos de tolerancia contrastante al vuelco, resulta un paso importante para aumentar el conocimiento de las bases de este proceso. Los objetivos de este trabajo fueron: (i) identificar las propiedades morfo–anatómicas y mecánicas del sistema radical asociadas con la tolerancia al vuelco en dos genotipos de comportamiento contrastante y (ii) evaluar los efectos de la densidad poblacional del cultivo sobre dichas propiedades.

MATERIALES Y MÉTODOS

*Genotipos y diseño experimental:*Se utilizaron dos genotipos de comportamiento contrastante frente al vuelco: uno tolerante (en adelante CF29) y uno susceptible (en adelante Zenit). Los genotipos fueron sembrados a densidades poblacionales crecientes de 5.6, 10 y 16 plantas.m^{-2} en el campo experimental de la Facultad de Agronomía–UBA sobre un suelo argiudol típico. El experimento consistió en un arreglo factorial con "genotipo" (2 niveles: CF29 y Zenit) y "densidad poblacional del cultivo" (3 niveles: 5.6, 10 y 16 pl.m^{-2}) como factores principales en un diseño en bloques aleatorizados (DBCA) con tres repeticiones. Las plantas crecieron durante todo su ciclo bien provistas de agua a través de un sistema de riego por goteo. Se aplicó fertilización en dos momentos del ciclo con 60 kg N.ha^{-1}. Se realizaron aplicaciones con insecticidas y fungicidas para mantener el cultivo libre de enfermedades y plagas.

Variables de respuesta y análisis estadístico: Las plantas fueron volcadas de forma artificial en fin de antesis (R6, Schneiter y Miller, 1981) utilizando la metodología descripta en Sposaro et al. (2008). Brevemente, la técnica involucra aplicar fuerzas crecientes a los tallos de plantas que crecen en subparcelas cuyo suelo ha sido previamente llevado a capacidad de campo hasta producir el vuelco de las mismas. La hemiesfera (o plato) de raíces (masa de suelo y raíces formada cuando se vuelca una planta) así obtenida fue dividida en dos estratos de acuerdo a su profundidad (0–5 cm y >5 cm), luego de lavadas las raíces, éstas se clasificaron en tres clases diamétricas (0–1 mm; 1.1–2 mm; >2 mm). Se obtuvo la biomasa de las raíces de cada estrato a través de su secado en estufa hasta peso constante (72 hs a 80°C) y se contó el número de raíces en cada una de las categorías previamente definidas. Para determinar la tensión axial requerida para la ruptura de los ejes radicales individuales (vivos) se adaptó la metodología descripta por Striker et al. (2006). Las raíces se sometieron a tensiones axiales crecientes causadas por el desplazamiento del pistón de un minicilindro neumático conectado a un circuito de aire presurizado con un regulador de flujo. Dicho sistema estaba conectado a un transductor de presión (ADZ Nagano S–010bar) y a un datalogger para registrar la tensión axial que provocó la ruptura de las raíces. La fuerza de ruptura se midió en raíces de diferentes diámetros en los rangos de las tres categorías definidas con el propósito de estudiar la posible existencia de un efecto del tamaño de las raíces sobre esta variable. Se realizaron cortes transversales de muestras de ejes radicales, tiñendo los mismos con una tinción doble (Safranina y Fast Green) para distinguir las paredes secundarias. El número de haces vasculares y el grosor de sus paredes se determinó mediante microscopía óptica y digitalización de imágenes, utilizando el software ImageTool 3.0 para Windows (University of San Antonio, Texas).

Los datos de biomasa por estrato y número de raíces por categoría se analizaron a través de ANOVAs de dos vías, con "genotipo" y "densidad poblacional de plantas" como factores principales. La relación entre la tensión axial de ruptura de las raíces y el diámetro radical se evaluó por medio de análisis de correlación de Pearson (Steel y Torrie, 1988). La significancia de las diferencias entre genotipos para dicha relación se evaluó con un test de pendientes para las ecuaciones ajustadas. Los datos correspondientes al número de haces vasculares y al grosor de sus paredes se analizaron a través de test de Student. La homogeneidad de varianzas y normalidad de los datos se verificó para todo el conjunto de

datos. Los análisis se realizaron con el software estadístico InfoStat versión 2007 (Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). Los resultados son presentados cómo valores promedios ± el error estándar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios previos han demostrado que se requiere una fuerza significativamente mayor para volcar en forma artificial las plantas del genotipo tolerante CF29 que para volcar las del genotipo susceptible Zenit (67.3 vs. 27.4 N m, respectivamente, ver Sposaro et al., 2008). En el presente estudio se halló que el diámetro del plato de raíces fue significativamente mayor en CF29 que en Zenit (23.7 y 22.5 cm respectivamente). El mayor diámetro del plato de raíces de CF29 se relacionó con una mayor biomasa radical total que en Zenit, para las tres densidades evaluadas (genotipo= $p<0.0001$, genotipo × densidad poblacional: $p=0.53$, Fig. 1). Esto coincide con la idea de que en plantas de girasol una mayor biomasa radical se asocia a una mayor eficiencia en el anclaje de la planta (Ennos, 1993). Para CF29, la biomasa radical total en el plato fue similar para las tres densidades poblacionales ($p=0.20$) mientras que para Zenit se detectó un efecto negativo de la densidad poblacional sobre dicha variable ($p<0.01$, Fig. 1). Por lo tanto, Zenit no solo presentó una biomasa de raíces en el plato equivalente al 42% de la registrada para CF29, sino que el aumento de la densidad poblacional debilitó aún más su sistema de anclaje.

En ambos genotipos la mayor biomasa de raíces se concentró en el primer estrato (0–5 cm de profundidad, Fig. 1) sin detectarse diferencias en la proporción del total de raíces presentes en ese estrato entre las densidades poblacionales: 78% CF29 y 70% Zenit ($p=0.88$, genotipo × densidad poblacional: $p=0.99$). Estudios previos en girasol (Ennos, 1989) han demostrado que la biomasa de raíces en los primeros centímetros de suelo, es la más importante para determinar un óptimo anclaje de la planta. Por otro lado, en el estrato más profundo (> 5 cm) el aumento de la densidad poblacional de plantas determinó una disminución en la biomasa radical en ambos genotipos (densidad poblacional = $p<0.0001$, genotipo × densidad poblacional: $p=0.18$, Fig. 1). De esta manera, ante el aumento de la densidad poblacional ambos genotipos parecieran haber priorizado el mantenimiento de la biomasa radical en el estrato superior del suelo en detrimento de la producción de raíces en el estrato inferior, lo que redundaría en un mejor anclaje de las plantas (Ennos, 1989).

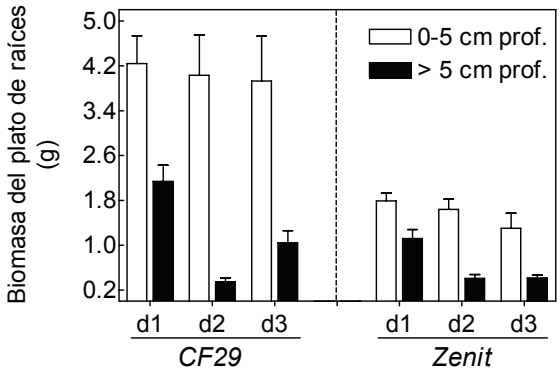


Fig. 1. Biomasa de raíces en el plato (g.planta^{-1}) para los dos genotipos en los dos estratos del plato para tres densidades poblacionales del cultivo (d1: 5.6; d2: 10; y d3: 16 pl.m^{-2}).

Fig. 1. Root plate biomass (g.plant^{-1}) for both genotypes in the two layers of the root plate for three crop population densities (d1: 5.6; d2: 10; y d3: 16 pl.m^{-2}).

El número total de raíces en el plato fue mayor en el genotipo CF29 que en Zenit ($p<0.05$), siendo este atributo uno de los que podría explicar la mayor tolerancia al vuelco que tiene CF29 respecto a Zenit. Al agrupar las raíces por su diámetro, se observó en ambos genotipos que las raíces más finas (0–1mm) fueron significativamente más abundantes que el resto de las categorías diamétricas ($p<0.0001$, Fig. 2, notar cambio de escalas entre el primer panel y los restantes). Otros trabajos han demostrado la importancia de las raíces finas en el conferimiento de la resistencia al vuelco de las plantas (Ennos, 1989; Reubens et al., 2007). El aumento de la densidad poblacional del cultivo produjo un incremento significativo en el número de raíces finas en el plato (0–1mm) sólo para Zenit ($p=0.009$, Fig. 2). Esta podría ser una respuesta del genotipo frente al incremento de la densidad poblacional, dado que una

mayor cantidad de raíces finas proveería una mayor fijación de la planta al suelo (Wu et al., 1988; Wu, 1995) en situaciones adversas donde el riesgo de vuelco se incrementa (Sposaro et al., 2008).

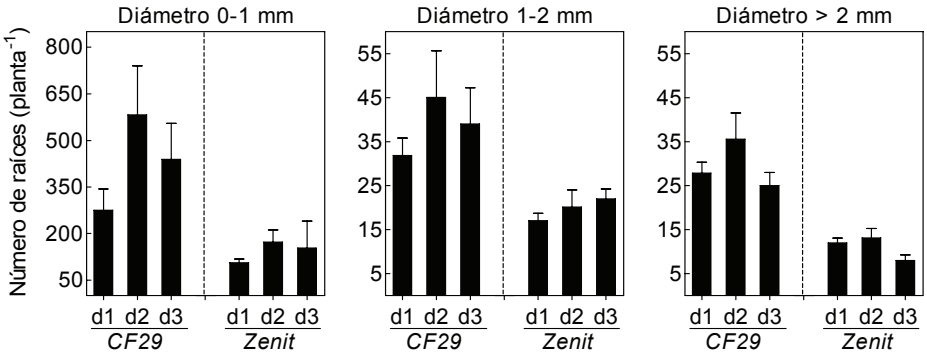


Fig. 2. Número de raíces por plato agrupadas por categorías diamétricas, para los genotipos CF29 y Zenit en tres densidades poblacionales de cultivo (d1: 5.6; d2: 10 y d3: 16 pl.m^{-2}). Notar el cambio de escala entre el primer panel y los restantes.

Fig. 2. Root number per root plate grouped by size category, for genotypes CF29 and Zenit grown at three crop population densities (d1: 5.6; d2: 10; y d3: 16 pl.m^{-2}). Note the change on scale between the left and remaining panels.

La fuerza de tensión axial requerida para provocar la ruptura de las raíces (como sucede durante el vuelco de la planta), fue mayor en CF29 que en Zenit (p=0.003, Fig. 3). Esta propiedad mecánica de las raíces no fue afectada por el aumento de la densidad poblacional de plantas (genotipo × densidad poblacional: p=0.16), por lo tanto, las mediciones hechas para las distintas densidades poblacionales fueron agrupadas, y el análisis se enfocó en las diferencias entre genotipos. En ambos genotipos la fuerza de tensión axial para provocar la ruptura de las raíces se correlacionó positivamente con el diámetro de las mismas (Fig. 3). CF29 presentó una pendiente mayor que Zenit para esta relación (test de pendientes: p< 0.0001, Fig. 3), indicando una mayor resistencia mecánica de sus raíces. El efecto del tamaño de las raíces ("*size effect*") sobre sus propiedades mecánicas ha sido recientemente estudiado en especies leñosas por Genet et al. (2005) y Bischetti et al. (2005). Estos autores demostraron la existencia de una correlación positiva entre el diámetro y la fuerza de ruptura de las raíces. Nuestros datos son consistentes con esos resultados y nuestro trabajo es el primero, para una especie herbácea anual de interés económico, en informar acerca de los efectos del tamaño de las raíces sobre sus propiedades mecánicas.

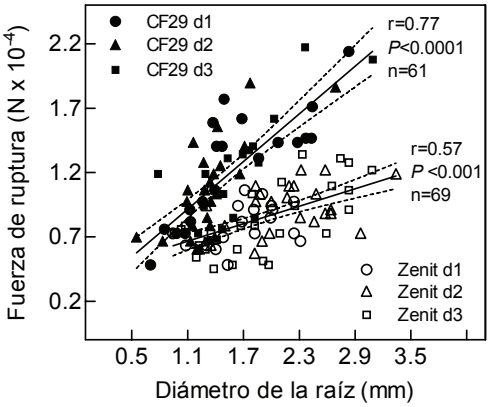
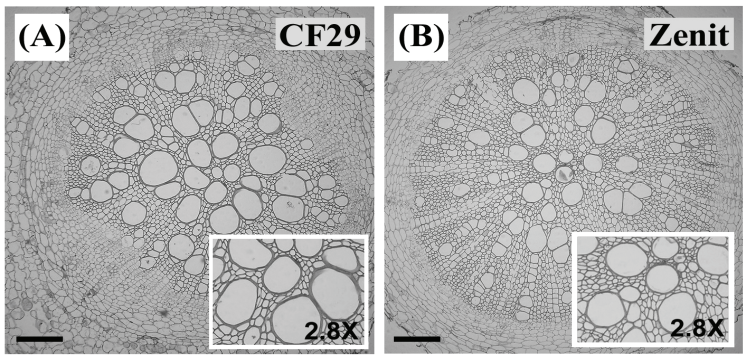


Fig. 3. Relación entre fuerza de ruptura (N) de las raíces y el diámetro para los genotipos CF29 y Zenit sembrados en tres densidades poblacionales de cultivo (d1: 5.6; d2: 10 y d3: 16 pl.m^{-2}). Las ecuaciones para cada genotipo son y= 0.61x + 0.24 para CF29, y= 0.23x + 0.41 para Zenit. Las líneas punteadas indican el intervalo de confianza del 95% para las ecuaciones ajustadas.

Fig. 3. Root failure threshold (N)/root diameter relationship for genotypes CF29 and Zenit, grown at three crop population densities (d1: 5.6; d2: 10; y d3: 16 pl.m^{-2}). Equations for each genotype are y= 0.61x + 0.24 for CF29, y= 0.23x + 0.41 for Zenit. Dashed lines indicate the 95% confidence intervals for the fitted equations.

El análisis anatómico mostró que los genotipos CF29 y Zenit no difirieron en la proporción de estela en la sección transversal de raíz (datos no mostrados), ni en el número de haces vasculares presentes en la sección (Fig. 4). Sin embargo, en el genotipo CF29, cuyas raíces tuvieron una mayor resistencia a la tensión axial, el grosor de la pared de los haces vasculares fue un 30% mayor al encontrado en el genotipo Zenit (Fig. 4c). Trabajos previos realizados sobre cultivos de trigo, cebada y arroz, han demostrado que tanto el número de haces vasculares como el grosor de sus paredes son parámetros altamente correlacionados con la tolerancia a las fuerzas de tensión axial, como las generadas durante el fenómeno de vuelco (Pinthus, 1973; Chatuverdi et al., 1995 citado por Oladokun y Ennos, 2006). Se sabe que el contenido de celulosa y lignina están positivamente correlacionados con la fuerza de tensión axial de las raíces (Hathaway y Penny, 1975; Kokubo et al., 1989; Genet et al., 2005). Por lo tanto, raíces del mismo diámetro y con similar número de haces vasculares, pero con mayor proporción de lignina y celulosa en sus paredes secundarias, brindan una mayor resistencia mecánica a la raíz. En este sentido, la mayor proporción de pared secundaria constitutiva de CF29 sería responsable, al menos en parte, de la mayor resistencia de sus raíces ante fuerzas de tensión axial.



(C)	CF29	Zenit
Nro de haces vasculares	115±14	112±10 NS
Grosor de pared (µm)	8.9±0.4	6.8±0.3 *

NS diferencia no significativa (P>0.05)

* diferencia significativa (P<0.01) basada en test de Student.

Figura 4. Cortes transversales de raíces de diámetro similar de los genotipos CF29 (A) y Zenit (B). La barra de escala es equivalente a 150 µm. En el cuadro (C) se muestra el número de haces vasculares y el grosor de la pared de dichos haces para cada genotipo. En la parte inferior derecha de (A) y (B) se muestran en detalle los haces vasculares para cada genotipo.

Figure 4. Transverse sections of roots of similar diameter of genotypes CF29 (A) and Zenit (B). Scale bar represents 150 µm. In the table (C) the number and cell wall thickness of vascular bundles are shown for each genotype. Inset photos (A) and (B) shown magnified (2.8X) sections of the stele centered on vascular bundles.

En síntesis, se detectaron diferencias importantes tanto a nivel de sistema radical de la planta como a nivel de raíz individual entre los genotipos que explicarían su tolerancia diferencial al vuelco. A nivel de planta el genotipo tolerante CF29 tuvo una mayor biomasa total en el plato de raíces que el susceptible Zenit. Dicha biomasa estuvo especialmente concentrada en los primeros centímetros del suelo, estrato donde se define gran parte del anclaje de las plantas. A su vez, la mayor biomasa radical registrada para CF29 estuvo asociada con un mayor número de raíces que en Zenit para todos los rangos diamétricos explorados. A nivel de raíz individual, CF29 tuvo raíces más resistentes a las fuerzas de tensión axial que las del genotipo Zenit, detectándose un mayor efecto positivo del diámetro de las raíces sobre dicha variable a favor de CF29. A su vez, la mayor resistencia de las raíces de CF29 estuvo relacionada con la presencia de haces vasculares con paredes secundarias considerablemente más gruesas que en Zenit. De esta manera, estas características diferenciales a nivel anatómico, morfológico y de biomasa radical entre CF29 y Zenit definirían en conjunto un sistema de anclaje más eficiente en el primer genotipo que reducen las probabilidades de ocurrencia de vuelco de sus plantas.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece a Gustavo Striker por su constructivo aporte en el análisis de los resultados y edición del manuscrito. Este trabajo se llevó a cabo con fondos del subsidio ANPCyT-ASAGIR PICTO 13159.

REFERENCIAS

Baker, C.J., P.M. Berry, J.H. Spink, R. Sylvester-Bradley, R.K. Scott, and R.W. Clare. 1998. A method for the assessment of the risk of wheat lodging. J. Theor. Biol. 194:587–603.

Berry, P.M., J.M. Griffin, R. Sylvester-Bradley, R.K. Scott, J.H. Spink, C.J. Baker, and R.W. Clare. 2000. Controlling plant form through husbandry to minimize lodging in wheat. Field Crops Res. 67:59–81.

Berry, P.M., M. Sterling, J.H. Spink, C.J. Baker, R. Sylvester-Bradley, S.J. Mooney, A.R. Tams, and A.R. Ennos. 2004. Understanding and reducing lodging in cereals. Adv. Agron. 84:217–271.

Bischetti, G.B., E.A. Chiaradia, T. Simonato, B. Speziali, B. Vitali, P. Vullo, and A. Zocco. 2005. Root strength and root area ratio of forest species in Lombardy (Northem Italy). Plant Soil 278:11-22.

Bragachini, M., A. von Martini, and A. Mendez. 2001. Pérdidas de cosecha. Evaluación y tolerancias en cosecha de Soja, Maíz, Girasol y Trigo. Proyecto agricultura de precisión. INTA E.E.A. Manfredi. Córdoba, Argentina.

Cleugh, H.A., J.M. Millar, and M. Böhm. 1998. Direct mechanical effects of winds on crops. Agroforest Syst. 41:85-112.

Ennos, A.R. 1989. The mechanics of anchorage in seedlings of sunflowers *Helianthus annuus*. New Phytol. 113:185-192.

Ennos, A.R. 1993. The scaling of root anchorage. J. Theor. Biol. 161:61-75.

Genet, M., A. Stokes, F. Salin, S.B. Mickovski, T. Fourçaud, J.F. Dumail, and R. Van Beek. 2005. The influence of cellulose content on tensile strength in tree roots. Plant Soil 278:1-9.

Hathaway, R.L., and D. Penny. 1975. Root strength in some *Populus* and *Salix* clones. New Zeal. J. Bot. 13:333-343.

Kelbert, A.J., D. Spaner, K.G. Briggs, and J.R. King. 2004. The association of culm anatomy with lodging susceptibility in modern spring wheat genotypes. Euphytica 136:211–221.

Kokubo, A., S. Kuraishi, and N. Sakurai. 1989. Culm strength of Barley. Correlation among maximum bending stress, cell wall dimensions, and cellulose content. Plant Phys. 91:876-882.

López Pereira, M., N. Trápani, G. Piñeiro, and A.J. Hall. 2004. Responses of sunflower to stand structure and crop population density: effects on leaf area and yield. In: 16th International Sunflower Conference, Fargo North Dakota.

Oladokun, M.A.O., and A.R. Ennos. 2006. Structural development and stability of rice *Oryza sativa* L. var. Nerica 1. J. Exp. Bot. 57:3123-3130.

Pinthus, M.J. 1973. Lodging in wheat, barley, and oats: The phenomenon, its causes, and preventive measures. Adv. Agron. 25:209-263.

Reubens, B., J. Poesen, F. Danjon, G. Geudens, and B. Muys. 2007. The role and coarse roots in shallow slope stability and soil erosion control with a focus on root system architecture: a review. Trees 21:385-402.

Schneiter, A.A., and J.F. Miller. 1981. Description of sunflower growth stages. Crop Sci. 21:901-903.

Sposaro, M.M., C. Chimenti, and A.J. Hall. 2008. Root lodging in sunflower. Variations in anchorage strength across genotypes, soil types, crop population densities and crop developmental stages. Field Crops Res. 106:179-186.

Steel, R.G.D., and J.H. Torrie. 1988. Bioestadística. Principios y procedimientos. McGraw–Hill, México.

Striker, G.G., P. Insausti, A.A. Grimoldi, and R.J.C. León. 2006. Root strength and trampling tolerance in the grass Paspalum dilatatum and the dicot Lotus *glaber* in flooded soil. Funct. Ecol. 20:4-10.

Wu, T.H. 1995. Slope stabilization. p. 221-264. In: Slope stabilization and erosion control, a bioengineering approach. E&FN Spon, London.

Wu, T.H., R.M. McOmber, R.T. Erb, and P.E. Beal. 1988. Study of soil-root interactions. J. Geotech Eng. 114:1351-1375.