

Cambios celulares en hojas de aguacate con deficiencias de calcio

Ranferi Maldonado-Torres^{1§}
Ma. Edna Álvarez-Sánchez¹
Alma Delia Abarca-Cervantes¹
Almaguer Vargas Gustavo²

¹Posgrado en Agroforestería para el desarrollo sostenible-Universidad autónoma Chapingo. ²Posgrado en Horticultura-Universidad Autónoma Chapingo. Carretera México-Texcoco km 38.5, Chapingo, Texcoco, Estado de México. CP. 56230.

Autor para correspondencia: ranferimt@yahoo.com.mx.

Resumen

La deficiencia de calcio origina susceptibilidad a enfermedades fisiológicas en frutos y reducción de rendimiento, además de generar enroscamiento, clorosis y disminución en el crecimiento de hojas jóvenes. En el presente trabajo fue realizado en el año 2017, donde se obtuvieron medidas estructurales y ultraestructurales celulares de hojas de aguacate, mediante un microscopio electrónico de barrido y transmisión respectivamente y se correlacionaron con la concentración nutrimental foliar. Se observó que el grosor de la hoja, el largo del parénquima esponjoso más epidermis y el largo y ancho de parénquima en empalizado no tuvieron afectación significativa con la concentración de calcio solo, pero sí con las relaciones nutrimentales: BxCa, KxCa, ZnxCa, Mn/Ca y Ca/Mn. El ancho de la pared celular fue afectado por las relaciones con magnesio: Mn/Ca y Ca/Mn.

Palabras clave: celular y ultracelular, microscopía electrónica, relaciones nutrimentales.

Recibido: noviembre de 2019

Aceptado: febrero de 2020

Introducción

El calcio como un catión divalente (Ca^{2+}) es requerido para varios roles estructurales en las paredes celulares y en las membranas, es un contra catión para aniones orgánicos e inorgánicos en la vacuola, y la concentración de Ca^{2+} citosólico funciona como mensajero intracelular coordinando respuestas a numerosas señales de desarrollo y a cambios ambientales (White y Broadley, 2003) y sirve como un factor metabólico o cofactor en varias actividades celulares (Ge *et al.*, 2007).

De acuerdo con Ge *et al.* (2007), el calcio también participa en la regulación de la reproducción sexual en las flores, en la germinación y elongación de los tubos de polen así como en la expansión celular durante el proceso de maduración de frutos (Hocking *et al.*, 2016). Se ha reportado que cambios físicos y químicos en las paredes celulares están asociados a la modificación de pectinas.

Por su parte, Hocking *et al.* (2016) indican que los cambios químicos incluyen la despolimerización de pectinas y la degradación de xiloglucano, que están relacionados con el mecanismo de maduración de los frutos. Estos cambios físicos se asocian a la continua modificación y solubilización de las pectinas, determinada por los enlaces calcio-pectina. Además, en ausencia de la red celulosa-xiloglucano los enlaces de pectatos tienen mayor participación en el intercambio celular (Peaucelle *et al.*, 2012).

Según Montanaro *et al.* (2006) en poscosecha, el calcio apoplástico es importante debido a su participación en las paredes celulares de los frutos, que representa entre 60-75% del calcio total del fruto y que contribuye a su vida postcosecha (Montanaro *et al.*, 2014). Se ha reportado que la deficiencia de calcio está relacionada con el suministro requerido y adecuado en la etapa de crecimiento (Álvarez *et al.*, 2008). También se sabe que aplicaciones de CaCl_2 en postcosecha aumenta la concentración de calcio en frutos y demora la maduración (Rivera *et al.*, 2017).

De acuerdo con White *et al.* (2013) la deficiencia de calcio en hojas jóvenes, tejidos de almacenamiento y frutos puede originarse por baja transpiración y distribución de calcio transportado por flujo de masas entre los tejidos, ya que entre 85-93% del suministro total de calcio a la planta, va directamente a las hojas maduras y muy poco calcio al fruto y otros tejidos (Álvarez *et al.*, 2008; Montanaro *et al.*, 2014).

En general, según White *et al.* (2006) los desórdenes de deficiencias se atribuyen a la insuficiente movilización de calcio apoplástico en tejidos viejos y su baja redistribución vía floema, en tejidos donde el suministro de calcio es más por vía floema que por vía xilema. Además, una baja transpiración por humedad no adecuada y pobre crecimiento de raíces refleja insuficiente absorción de calcio (Bouzo y Cortez, 2012).

Materiales y métodos

Análisis morfométrico de la hoja de aguacate

Se colectaron muestras de hojas en árboles de una huerta de aguacate Hass en el municipio Tetela del Volcán, estado de Morelos, considerando como patrones de deficiencia el grado de enroscamiento, la presencia de clorosis y la disminución en el crecimiento de las hojas. Las

muestras de hojas fueron colectadas con diferentes grados de deficiencia de calcio, determinado con base al diagnóstico visual una deficiencia crítica (CaC), hojas con deficiencia media de calcio (CaM) y hojas sanas (CaS). Se evaluaron las variables grosor de la hoja, parénquima esponjoso + epidermis, largo de parénquima en empalizada y el ancho del parénquima de empalizada, para lo cual se utilizó la microscopía electrónica de transmisión. Para su análisis se siguió la metodología de Hayat (2000).

Los tejidos seleccionados fueron cortados partes de 1 mm² los cuales fueron fijados con glutaraldehído al 6% en buffer cacodilato de sodio al 0.2M pH 7.4 por 24 h. Posteriormente, se lavaron tres veces con el buffer cacodilato de sodio 0.05M pH 7.4 y fueron postfijados con tetraóxido de osmio 2% por 24 h. Después, se lavaron las muestras nuevamente con el buffer cacodilato de sodio 0.05M pH 7.4 para así empezar una secuencia de deshidratación con series crecientes de alcohol etílico anhidro. Luego se hizo una infiltración con tolueno y finalmente, los tejidos fueron incluidos con resina araldita por 24 h a temperatura ambiente. Se hicieron cortes de las secciones con un ultramicrotomo a 20 nm a 3 mm s⁻¹ con navaja de diamante, dichos cortes fueron contrastados con acetato de uranilo y citrato de plomo. La observación se realizó en un microscopio electrónico de transmisión (MET) de la marca FEI modelo TECNAI 1 a 120 kV.

Muestreo de suelos. En la huerta se seleccionaron de manera aleatoria 25 sitios de muestreo, ubicados en las zonas de goteo del árbol. En cada sitio de muestreo se extrajo con una barrena de acero inoxidable, una submuestra de 50 g de suelo a una profundidad de 0-30 cm. La muestra colectada fue de 1.25 kg de suelo, con la cual se formó figura esférica que fue dividida en cuatro partes, desechándose dos partes opuestas, hasta lograr obtener 300 g de muestra para su análisis.

Se determinó la fertilidad del suelo mediante el análisis del pH relación 1:2 suelo-agua con potenciómetro, CIC (cationes intercambiables extraídos con acetato de amonio 1 N pH 7). El nitrógeno por el método Kjeldahl, fósforo por el método Bray, potasio por espectrofotometría de emisión de flama, calcio y magnesio por volumetría (EDTA 0.01 N). El hierro, cobre, zinc y manganeso fueron extraídos y leídos en espectrofotómetro de absorción atómica (Etchevers, 2001), mientras que el B fue determinado por el método de la azometina-H.

Muestreo foliar. En 25 árboles seleccionados al azar, se colectaron 4 hojas por árbol, ubicadas en la quinta posición a partir del ápice, sanas, sin daño físico, químico o biológico, de ramas bien iluminadas, ubicadas en los cuatro puntos cardinales y a una altura media de 2 m; a partir, de la superficie del suelo, haciendo un total de 100 hojas por muestra.

Las hojas se colocaron en bolsas de papel y fueron mantenidas en una hielera hasta su ingreso al laboratorio, donde se lavaron, secaron a 70 °C hasta peso constante, molidas en molino de acero inoxidable a malla 40. Se tomaron 0.5 g del tejido seco y molido; posteriormente se colocaron en matraz Kjeldahl con 4 ml de mezcla diácida (4:1 de ácido sulfúrico y ácido perclórico), más 2 ml de peróxido de hidrógeno (agua oxigenada al 30%) para acelerar la reacción y después el matraz se colocó en una estufa de digestión Lindenberg SB a 260 °C, hasta que se obtuvo un extracto transparente y cristalino que se aforó a 50 mL con agua destilada.

El extracto fue analizado determinándose los nutrimentos por los métodos siguientes: nitrógeno por el método Khejdahl, fósforo por fotolorimetría de vanadato-molibdato (amarillo) leído en espectrofotómetro Spectronic 20, potasio por flamometría leído en flamómetro Corning modelo 410, calcio, magnesio, cobre, hierro, zinc y manganeso fueron determinados en un espectrofotómetro de absorción atómica y boro fue determinado por el método de la azometina-H.

Índices de balance Kenworthy

Los resultados de los análisis foliares se interpretaron mediante la técnica de Kenworthy utilizando estándares propuestos por Benton *et al.* (1991) y los coeficientes de variación establecidos por Maldonado (1999). El diagnóstico por cada tratamiento estableció como deficiente valores de 17 a 50, abajo del normal con 50 a 83, normal de entre 83 a 117, arriba del normal de 117 a 150 y exceso de 150 a 183 (Kenworthy, 1967).

Diagnóstico mediante la técnica DRIS

Para el diagnóstico mediante el sistema integrado de diagnóstico y recomendación (DRIS), se utilizaron los valores de referencia propuestos por Beverly *et al.* (1984).

Relaciones nutrimentales y su relación con variables morfológicas de hojas

Con los datos de los análisis de suelo y hoja, DRIS y Kenworthy, se obtuvieron las relaciones nutrimentales entre todos los elementos y posteriormente se relacionaron con las variables morfológicas grosor de la hoja, parénquima en esponjoso + epidermis, largo de parénquima en empalizada y el ancho del parénquima en empalizada.

Análisis ultraestructural en hojas de aguacate

En muestras de tejido de un corte transversal en hojas de aguacate, se realizó el análisis ultraestructural por espectroscopia de rayos X y microscopia electrónica de barrido. De igual forma que en las muestras para la microscopia electrónica de transmisión las muestras siguieron el mismo procesamiento hasta la postfijación con osmio al 2%. Las muestras luego de la postfijación y tres lavados con el buffer cacodilato de sodio 0.05 M pH 7.4, fueron montadas en stubs para su observación a alto vacío en un microscopio electrónico de barrido marca FEI modelo Quanta 450 a un voltaje de 25 kV y una corriente de emisión de 90-105 μ A.

El análisis por espectrometría de dispersión de energía de rayos-X se realizó mediante un detector Edax smart insight de la compañía Ametek acoplado al microscopio electrónico de barrido. El voltaje utilizado fue de 30 kV a 10 (mm) WD.

Análisis de datos

Las dimensiones celulares y concentraciones nutrimentales obtenidas se procesaron mediante SAS y Microsoft Excel usando 5% de significancia en las pruebas de correlación de Pearson.

Resultados y discusión

Análisis morfométrico de la hoja de aguacate

La uniformidad en el grosor de la hoja, el límite entre un tipo de células y otro, densidad de tricomas, uniformidad en el arreglo y distribución de las células, curvatura de la hoja, uniformidad en el tamaño del mismo tipo de células y la claridad para observar la distribución y el tipo de célula se manifestaron de forma degenerativa, de la hoja sana a la hoja con deficiencia crítica de calcio. Lo cual se atribuye a la función estructural que tiene el calcio en las paredes celulares y en la membrana, además de su colaboración en mantener la estabilidad e integridad de la célula (White *et al.*, 2017). Por su parte, el grosor de la hoja que se muestra en el Cuadro 1, en todos los tratamientos fue menor a lo reportado por González *et al.* (2011) con aguacate Hass con 221.03 μm y por Morales *et al.* (1992) con muestras de hojas de aguacate ‘Fuerte’ tomadas al sol con 257.06 μm y a la sombra con 154.31 μm .

Cuadro 1. Media y coeficiente de variación del análisis de la morfometría en el corte transversal.

Parámetro (μm)	Tratamiento	Media (μm)	CV (%)
Grosor de la hoja	CaS	114.62 \pm 12	7.7
	CaM	89.62 \pm 5.48	4.36
	CaC	111.85 \pm 26.92	17.69
Parénquima en esponjoso + epidermis	CaS	67.17 \pm 9.47	9.73
	CaM	49.85 \pm 6.97	9.44
	CaC	54.25 \pm 5.69	6.89
Largo de parénquima en empalizada	CaS	48.87 \pm 5.58	7.04
	CaM	42.17 \pm 4.22	6.4
	CaC	58.95 \pm 21.84	22.49
Ancho del parénquima en empalizada	CaS	8.44 \pm 1.31	10.95
	CaM	8.18 \pm 0.44	3.05
	CaC	8.75 \pm 1.32	11.39

CaC= hoja con deficiencia de calcio; CaM= con deficiencia media de calcio; CaS= hoja sana.

El largo del parénquima en empalizada se presentó en la hoja con deficiencias de calcio, lo cual puede deberse a que la ausencia de calcio estimula la expansión celular debido a un incremento en la fluidez de la pared celular (Chebli y Geitmann, 2017). El largo del parénquima esponjoso y agregando el largo de la epidermis no se acercó a los valores reportados de 75.71 μm y la variabilidad de los datos colectados fue mayor en la hoja sana que la deficiente (González *et al.*, 2011).

Análisis foliares y de suelo

En el Cuadro 2 se observa que para un suelo ácido la concentración de fósforo y potasio que fueron muy elevados con relación a los contenidos de calcio y magnesio, presentando así un desbalance como bases intercambiables, lo que se atribuye a las aplicaciones de fertilizantes considerando únicamente N-P-K, fertilización convencional (Horneck *et al.*, 2011). Dicho desbalance en las

bases intercambiables se aprecia con las relaciones de Ca, Mg y K, donde la relación Ca/Mg a pesar de ser baja se mantiene en el rango ideal, mientras que ambas relaciones con potasio están muy por debajo de la proporción de cationes óptima (PPI, 1988).

Cuadro 2. Análisis del diagnóstico de la fertilidad del suelo.

Parámetro (mg kg ⁻¹)	Clasificación nutrimental	Bases intercambiables
Nitrógeno inorgánico	28	Medio
Fósforo	25.38	Alto
Potasio	502.56	Exceso
Calcio	655.32	Bajo
Magnesio	116.8	Medio
Sodio	4.74	Deficiente
Hierro	71.87	Exceso
Manganeso	10.43	Bajo
Zinc	1.62	Bajo
Cobre	3.09	Exceso
Boro	0.77	Bajo
ρ_b	1.11 g cm ⁻³	
Materia orgánica	4.03%	
pH	5.25	
CIC	27.5 meq/100 g	

ρ_b = densidad aparente; CIC= capacidad de intercambio catiónico.

La densidad aparente está dentro del rango reportadas en andosoles, mientras que el contenido de materia orgánica a pesar de estar en el rango reportado, es moderadamente bajo a su potencial (Alcalá *et al.*, 2009). Por su parte la capacidad de intercambio catiónico es alta (Cottenie, 1980).

Dado el bajo valor de pH se considera un suelo ácido, lo cual propicia los bajos contenidos de calcio y los excesos de hierro y cobre. Donde se atribuye el exceso de cobre, además del pH bajo, a las aplicaciones de compuestos de Cu como fungicida (Maldonado *et al.*, 2007; Molano, 2015).

Sistema integrado de diagnóstico y recomendación (DRIS) y Kenworthy

Mediante el análisis DRIS se obtuvo una relación e interpretación de las concentraciones nutrimentales en las hojas de aguacate. De acuerdo a los datos del Cuadro 3, en los tres tratamientos hubo la misma tendencia en concentración y requerimiento nutrimental, siendo el fósforo el nutriente de mayor requerimiento seguido del calcio, debido a que ambos se encuentran en niveles muy deficientes en la planta, contrario a lo reportado por Maldonado *et al.* (2007) con índices de balance Kenworthy, donde la concentración de calcio y fósforo fueron elevados en las hojas. Por su parte, el nitrógeno, magnesio, boro y manganeso se reportaron como normales, siendo que con DRIS se encontraron como deficientes.

Cuadro 3. Análisis y diagnóstico nutrimental foliar.

Tratamiento	Composición de la hoja (%)					Composición de la hoja (mg kg ⁻¹)					
	N	P	K ⁺	Ca ⁺²	Mg ⁺²	Fe ⁺²⁺³	Mn ⁺²	Zn ⁺²	Cu ⁺²	B	
CaS	C	0.88	0.02	0.86	0.27	0.26	131.23	61.4	38.9	58.03	50.27
	IB	-104.09	-661.12	58.06	-123.01	-329.74	2.16	-180.74	75.82		
Orden de requerimiento nutrimental											
P> Ca> Mg> N> Mn> K> Fe> Zn											
CaM	C	0.93	0.03	0.95	0.26	0.22	130.6	54.63	47.97	74.2	40.09
	IB	-164.27	-495.75	26.04	-207.22	-246.21	22.39	-141.65	61.29		
Orden de requerimiento nutrimental											
P> Ca> N> Mg> Mn> Fe> K> Zn											
CaC	C	1	0.03	0.91	0.26	0.24	118.23	69.7	44.8	71.5	51.03
	IB	-227.93	-513.73	-13.58	-503.33	-166.42	30.12	-87.2	28.41		
Orden de requerimiento nutrimental											
P> Ca> N> Mg> Mn> K> Zn> Fe											

CaC= hoja con deficiencia de calcio; CaM= con deficiencia media de calcio; CaS= hoja sana; C= concentración en la hoja; IB= índice DRIS.

Por su parte el zinc y potasio se determinaron en un nivel de óptimo en DRIS, mientras que lo reportado en los índices Kenworthy indicó que el zinc fue el nutrimento más deficiente en huertas de aguacate en Michoacán (Maldonado *et al.*, 2007).

Esto muestra que, además de ser una huerta con un severo desbalance nutrimental, las deficiencias de calcio no se manifestaron en la sintomatología visual del cultivo durante la toma de muestras. Debido a que la sintomatología por deficiencias de calcio no tiene una ocurrencia inmediata en los tejidos vegetales (Kong *et al.*, 2014), pues el calcio, al ser un elemento estructural manifiesta su ausencia en las hojas nuevas que comienzan con su constitución estructural y que son de baja transpiración, contrario a hojas maduras, las cuales ya culminaron su etapa de crecimiento y tienen una mayor tasa de transpiración (White y Broadley, 2003; Meagy *et al.*, 2013); sin embargo, la reducción en la concentración de calcio tiene ocurrencia en toda la planta al momento de presentar una deficiencia pero no se manifiesta uniformemente en ella.

Relacionando el análisis de suelo y el foliar, se observa una concordancia con la deficiencia de calcio en el suelo y en la planta; sin embargo, en el caso del fósforo, su contenido en el suelo se reporta alto mientras que en la planta es deficiente y el de mayor requerimiento de acuerdo a los índices DRIS, lo cual se atribuye que el fósforo al ser absorbido por la planta a través de los pelos radicales y la punta de la raíz (Fernández, 2007), que se ve severamente afectado por la deficiencia de calcio que reduce los puntos meristemáticos en la planta debido a su función en la división celular (Ge *et al.*, 2007; Hepler y Winship, 2010; Wei *et al.*, 2015). Además, se ha observado que el calcio participa como un estimulante en la absorción del fósforo (Fernández, 2007).

Relaciones nutrimentales

Las relaciones nutrimentales significativas para el largo del parénquima en empalizado se presentan en los Cuadros 4 y 5. Las relaciones importantes fueron: N/B, K/B, Ca/B, Mg/B, Fe/B, Zn/B, Cu/B, B/Cu y BxCa. Mientras que para el ancho del tejido fueron: N/B, K/B, Ca/B, Mg/B, Fe/B, Zn/B,

Cu/B, B/Cu y BxCa, Como se puede apreciar, la participación del boro, calcio y zinc fueron las más recurrentes, siendo el boro el principal participante. De forma individual el boro reportó una correlación significativa en el largo del parénquima mientras que para el ancho el zinc fue el nutrimento significativo.

Cuadro 4. Correlaciones de Pearson entre relaciones nutrimentales y la morfometría de la hoja de aguacate.

Parámetro	Fe/Mn	N/B	Fe/B	Zn/B	Cu/B	KxFe	Fe/Mg
Largo Pem (μm)	-0.69644^Z 0.0119 ^Y	-0.6684 0.0175	-0.66733 0.0177	0.69338 0.0124	0.70864 0.0099		
Ancho Pem (μm)	-0.85483 0.0004	-0.64281 0.0242	-0.66063 0.0194	-0.68916 0.0132	0.63386 0.0269	-0.74854 0.0051	-0.57932 0.0484
Ancho PC (nm)	0.59046 0.0432					0.79368 0.0021	0.64336 0.024

Z= coeficiente de correlación de Pearson; Y= Nivel de significancia; correlaciones en negritas= $p \leq 0.05$; Pem= parénquima empalizado; PC= pared celular; μm : micras; nm: nanómetros.

Para el largo del parénquima solo las relaciones Zn/B y Cu/B fueron directamente proporcionales, el resto de ellas fueron inversas. De forma similar, para el caso del ancho del parénquima sólo en una relación Cu/B al aumentar incrementa el ancho del tejido, el resto de las relaciones fueron inversas a este parámetro.

El ancho de la pared celular, sólo con hierro reportó una correlación significativa; sin embargo, de forma conjunta se identificó con un nivel aceptable de significancia a: KxFe, Mn/Ca, Fe/Mg, Fe/Mn, ZnxCa, Ca/Mn. Contrario al ancho del parénquima en empalizado, en el ancho de la pared celular solo la relación Mn/Ca fue inversa.

Para el grosor de la hoja se muestran los datos en el Cuadro 5, donde los elementos relacionados: N/B, Fe/B, B/Cu y BxCa fueron representativos, mientras que individualmente no manifestaron significancia, además, B/Cu y BxCa fueron relaciones inversas.

Cuadro 5. Significancia de las correlaciones de Pearson entre relaciones nutrimentales y la morfometría de la hoja de aguacate.

Parámetro	P/B	K/B	Ca/B	Mg/B	N/Ca	B/Ca	ZnxCa	Mn/Ca	Ca/Mn	ZnxCa
Largo Pem (μm)	-0.594^Z 0.0415 ^Y	-0.588 0.0445	-0.639 0.0254	-0.675 0.0159						
Ancho Pem (μm)					-0.641 0.0247	-0.549 0.0648	-0.68 0.015	-0.557 0.0598		
Ancho PC (nm)								-0.586 0.0452	0.6634 0.0187	0.7164 0.0088

Z= Coeficiente de Correlación de Pearson; Y= Nivel de significancia; correlaciones en negritas= $p \leq 0.05$; Pem: parénquima empalizado; μm : micras; nm: nanómetros.

Cuadro 5. Significancia de las correlaciones de Pearson entre relaciones nutrimentales y la morfometría de la hoja de aguacate (continuación).

Parámetro (μm)	N/B	B/Cu	BxCa	Fe/B	NxMg	Zn/N	KxCa	KxFe	K/B	K/N	N/Ca	B/Ca
Grosor de hoja	-0.666^Z	0.57	0.624	-0.684								
	0.018 ^Y	0.053	0.03	0.014								
Largo Pes + EP				-0.595	0.665	-0.574	-0.609	-0.729	-0.562	-0.632	0.674	0.628
				0.041	0.018	0.051	0.035	0.007	0.057	0.027	0.016	0.029

Z= coeficiente de correlación de Pearson; Y= nivel de significancia; correlaciones en negritas= $p \leq 0.05$; Pes= parénquima esponjoso; EP= epidermis; μm = micras.

Para el largo del parénquima esponjo + epidermis las relaciones significativas fueron: K/N, NxMg, Zn/N, KxCa, KxFe, K/B, Fe/B, N/Ca y B/Ca. De forma individual el boro, potasio y nitrógeno también representaron un grado importante de significancia sobre la medida del largo del tejido. Por otro lado, el calcio, hierro, zinc y magnesio no fueron significativos individualmente, pero al interactuar con otros nutrientes manifestaron su significancia. Únicamente las relaciones NxMg, N/Ca y B/Ca fueron directamente proporcionales.

Análisis ultraestructural en hojas de aguacate

En el Cuadro 6 se aprecia que el mayor porcentaje de abundancia de calcio detectado fue en las hojas con deficiencia media de calcio, luego las hojas sanas y por último las hojas deficientes, siendo las hojas sanas las de mayor variabilidad y las de mayores porcentajes. La mayor demanda de calcio se encuentra en zonas meristemáticas, de manera que las deficiencias de calcio afectan a las hojas jóvenes que no han concluido su etapa de crecimiento, afectando su estructura, contrario a lo que sucede en hojas maduras (Hepler y Winship, 2010; Wei *et al.*, 2015).

Las paredes celulares de mayor grosor fueron las presentes en hojas con niveles medios de calcio, luego las hojas deficientes y por último, las hojas sanas que presentaron el menor grosor.

Cuadro 6. Análisis de dispersión del ancho de la pared celular (nm) en el parénquima empalizado.

Tratamiento	Media (nm)	Desviación estándar	Coefficiente de variación (%)
CaS	132.38 \pm 42.05	48.64	36.77
CaM	351.92 \pm 192.28	141.15	40.11
CaC	297.13 \pm 82.4	88.95	29.94

CaC= hoja con deficiencia de calcio; CaM= con un nivel medio de calcio; CaS= hoja sana.

Los cambios en la integridad de las paredes celulares probablemente resultan de las actividades de la celulosa, donde se disminuye la cohesión celular por un desajuste celular y degradación de pectinas (Tesfay y Magwaza, 2017). La ausencia de calcio estimula la expansión celular debido a un incremento en la fluidez de las paredes celulares ocasionado por la desmetilesterificación de pectinas, además, la importancia del calcio también radica en la estabilidad de las pectinas ya que sus propiedades físicas están asociadas a su enlace con el calcio (Chebli y Geitmann, 2017).

La firmeza de pared celular repercute en la calidad postcosecha del aguacate, pues se ha observado que la blandura del fruto se debe a una estructura débil en la pared celular, además de una pérdida en la integridad de la membrana, hidrólisis de celulosa y hemicelulosas, así como la despolimerización de pectinas y almidón (Tesfay y Magwaza, 2017).

Conclusiones

El estado nutrimental del suelo se relacionó con el diagnóstico foliar del cultivo de aguacate, ya que el pH ácido, los bajos niveles de Ca, Mn, Zn y B, y los excesos de K, Fe y Cu se relacionaron con un desbalance nutrimental en la planta. Además, las concentraciones de N, K, Zn y B fueron significativas a los cambios morfológicos de hojas, siendo N y B directamente proporcionales, mientras que K y Zn fueron inversas a las medidas de morfología celular, pero ninguna concentración nutrimental fue significativa sobre el ancho de la pared celular a excepción del Fe.

La concentración de Ca no presentó diferencias significativas con el ancho de pared celular y no tuvo relación con la sintomatología por deficiencia manifestada en las hojas, dado que en todos los tratamientos se reportó una concentración deficiente y después del fósforo, fue el segundo nutrimento más requerido por la planta con base al diagnóstico DRIS.

Al relacionar al Ca con N, K, Mn, Zn y B, resultó significativamente diferente en las medidas de morfología de la hoja, mientras que solo el Mn tuvo significancia en el grosor de la pared celular. Mientras que las relaciones nutrimentales con significancia en las dimensiones de morfología fueron: N/B, B/Cu, BxCa, Fe/B, NXMg, Zn/N, KxCa, KxFe, K/B, K/N, N/Ca, B/Ca, P/B, Ca/B, Mg/B, ZnxCa, Mn/Ca, Ca/Mn. En el caso de la pared celular las relaciones significativas fueron: Mn/Ca, Ca/Mn y ZnxCa.

Literatura citada

- Alcalá, J. M.; Hidalgo, C.; Castoreña, G. and del Carmen, M. 2009. Mineralogía y retención de fosfatos en Andisoles. *Terra Latinoam.* 27(4):275-286.
- Álvarez, M. E.; Maldonado, R.; García, R.; Almaguer, G.; Rupit, J. and Zavala, F. 2008. Suministro de Calcio en el desarrollo y nutrición de *Lilium* asiático. *Agrociencia.* 42(8):881-889.
- Benton, J. J.; B. Wolf, H. Mills. 1991. *Plant analysis handbook: a practical sampling, preparation, analysis and interpretation guide.* Micro-Macro Publishing, Inc. 213 p.
- Beverly, R. B.; Stark, J. C.; Ojala, J. C. and Embleton, T. W. 1984. Nutrient diagnosis of 'Valencia' oranges by DRIS. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 109:649-654.
- Bouzo, C. A. y Cortez, S. B. 2012. Efecto de la aplicación foliar de calcio sobre algunos atributos de calidad en frutos de melón. *RIA. Rev. Investig. Agrop.* 38(3):257-262.
- Cottenie, A. 1980. Los análisis de suelo y plantas como base para formular recomendaciones sobre fertilizantes. *FAO 38/2).* FAO.
- Chebli, Y. and Geitmann, A. 2017. Cellular growth in plants requires regulation of cell wall biochemistry. *Current Opinion Cell Biol.* 44:28-35.
- Etchevers, B. J. 2001. *Manual de procedimientos analíticos para análisis de suelos y plantas del laboratorio de fertilidad de suelos.* IRENAT. Colegio de Posgraduados. Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo AC.

- Fernández, M. T. 2007. Fósforo: amigo o enemigo. ICIDCA. Sobre los derivados de la caña de azúcar. 41(2):51-57.
- Ge, L. L.; Tian, H. Q. and Russell, S. D. 2007. Calcium function and distribution during fertilization in angiosperms. *Am. J. Bot.* 94(6):1046-1060.
- González, C. V. M.; Barrientos, P. A. F.; Núñez, C. A.; Ramírez, R. S. P.; Hofshi, R. and Arpaia, M. L. 2011. Anatomía de la lámina de hoja en ocho cultivares de aguacate. *Rev. Mex. Cienc. Agríc.* 2(5):733-744.
- Hayat, M. A. 2000. Principles and techniques of electron microscopy biological applications 4^a (Ed.). Cambridge University Press.
- Hepler, P. K. 2005. Calcium: a central regulator of plant growth and development. *The Plant Cell.* 17:2142-2155.
- Hocking, B.; Tyerman, S. D.; Burton, R. A. and Gilliam, M. 2016. Fruit calcium: transport and physiology. *Frontiers Plant Sci.* 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00569>
- Horneck, D. A.; Sullivan, D. M.; Owen, J. S.; Hart, J. M. 2011. Soil test interpretation guide. (Corvallis, Or.): Oregon State University, Extension Service. <http://ir.library.oregonstate.edu/xmlui/handle/1957/22023>.
- Kenworthy, A. L. 1967. Plant analysis and interpretation for horticulture crops. *In: plant analysis.* Hardy, G. W. (Ed.) Soil Soc. Amer. Special Public. 2:59-75.
- Kong, Y.; Rozema, E. and Zheng, Y. 2014. The effects of NaCl on calcium-deficiency disorder vary with symptom development stage and cultivar in hydroponic *Portulaca oleracea* L. *Canad. J. Plant Sci.* 94(7):1195-1201.
- Maldonado, T. R.; Álvarez, S. M. E.; Almaguer, V. G.; Barrientos, P. A. F. and García, M. R. 2007. Estándares nutrimentales para aguacatero “hass”. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 13(1):103-108.
- Maldonado, T. R. 1999. El diagnóstico nutrimental en la producción de limón mexicano. Fundación Produce Michoacán y Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. 82 p.
- Meagy, M. J.; Eaton, T. E. and Barker, A. V. 2013. Nutrient density in lettuce cultivars grown with organic or conventional fertilization with elevated calcium concentrations. *HortSci.* 48(12):1502-1507.
- Molano, P. J. T. 2015. Enfermedades del aguacate. *Rev. Politécnica.* 3(4):51-70.
- Montanaro, G.; Dichio, B.; Lang, A.; Mininni, A. N.; Nuzzo, V.; Clearwater, M. J. and Xiloyannis, C. 2014. Internal versus external control of calcium nutrition in kiwifruit. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 177(6):819-830.
- Morales, D.; Jiménez, M. S.; Wagner, J. and Larcher, W. 1992. Caracterización morfológica e histológica de las hojas de sol y sombra de *Persea indica* (L.) Spreng. y *Persea americana* Mill. *Vieraea Folia Sci. Biol. Can.* 21:61-76.
- Peaucelle, A.; Braybrook, S. and Höfte, H. 2012. Cell wall mechanics and growth control in plants: the role of pectins revisited. *Frontiers Plant Sci.* 3.
- Rivera, S. A.; Ferreyra, R.; Robledo, P.; Selles, G.; Arpaia, M. L.; Saavedra, J. and Defilippi, B. G. 2017. Identification of preharvest factors determining postharvest ripening behaviors in ‘Hass’ avocado under long term storage. *Sci. Hortic.* 216:29-37.
- Tesfay, S. Z. and Magwaza, L. S. 2017. Evaluating the efficacy of moringa leaf extract, chitosan and carboxymethyl cellulose as edible coatings for enhancing quality and extending postharvest life of avocado (*Persea americana* Mill.) fruit. *Food Packaging and Shelf Life.* 11:40-48.
- Wei, D.; Gao, C. and Yuan, D. 2015. Calcium distribution during another development in oil tea (*Camellia oleifera* Abel.). *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 140(1):88-93.
- White, P. J. and Broadley, M. R. 2003. Calcium in Plants. *Ann. Bot.* 92(4):487-511.