

SIGUIENDO LA PISTA

Evolución de la distribución de las pectinas en la zona de unión en injertos de tomate

Nerea Martínez Romera¹, Carlos Frey², José Luis Acebes²

1. Graduada en Biología, nmartro6@estudiantes.unileon.es

2. Área de Fisiología Vegetal, cfred@unileon.es, jl.acebes@unileon.es

Resumen

Se ha estudiado la distribución de las pectinas en las paredes celulares durante el desarrollo de autoinjertos de tomate (*Solanum lycopersicum* L. “Minibel-Cocktail”) entre 1 y 20 días después del injerto. Se utilizó la tinción con rojo de rukenio para estudiar la distribución general de las pectinas, así como técnicas de inmunohistoquímica para analizar la localización de homogalacturonano poco o no metilesterificado –utilizando el anticuerpo monoclonal LM19– y muy metilesterificado –con el anticuerpo LM20–. Los resultados mostraron cómo la púa y el portainjerto siguieron una secuencia ordenada de sucesos de adhesión, proliferación del callo y reconexión vascular. En los primeros días, la acumulación de pectinas fue más acusada en la púa. Una vez establecido el injerto, se observó un aumento de la deposición de pectinas, particularmente las ricas en homogalacturonano poco metilesterificado, tanto en la zona de corte como en la zona de unión. Estos resultados muestran que a lo largo del proceso de injerto se produce una deposición de pectinas ricas en homogalacturonano poco metilesterificado en la zona de corte, la cual permite la adhesión entre púa y portainjerto, y que una vez establecido el injerto, el contenido de pectinas sigue siendo abundante en la zona de unión.

Palabras clave: autoinjerto, inmunohistoquímica, homogalacturonano, *Solanum lycopersicum*.

Abreviaturas: DPI: días después del injerto; HG: homogalacturonano

El injerto: el arte y la práctica de combinar

El injerto es una técnica que consiste en cortar y unir fragmentos de plantas que posteriormente crecerán como un único organismo. Este procedimiento implica la combinación de dos plantas, donde generalmente una aporta la parte aérea (púa o vástago) y la otra el sistema radicular (portainjerto o patrón). En la **Fig. 1** se esquematiza el proceso de injertado.

El injerto es una técnica muy antigua, de la cual ya encontramos evidencias históricas en la Antigua Grecia (Mudge *et al.*, 2009). Actualmente, el uso del

Forma de mencionar este artículo: Martínez Romera, N., Frey, C., Acebes, J.L. 2020, Evolución de la distribución de las pectinas en la zona de unión en injertos de tomate. *AmbioCiencias*, 18, 41-56. ISBN: 1998-3021 (edición digital), 2147-8942 (edición impresa). Depósito legal: LE-903-07.

injerto está muy extendido en la práctica agrícola, principalmente como método de propagación vegetativa. Uno de los cultivos más beneficiados por la implementación de los injertos es el del tomate (*Solanum lycopersicum* L.), especialmente, por el uso de portainjertos resistentes a enfermedades y a otras condiciones ambientales desfavorables (Lee *et al.*, 2010).

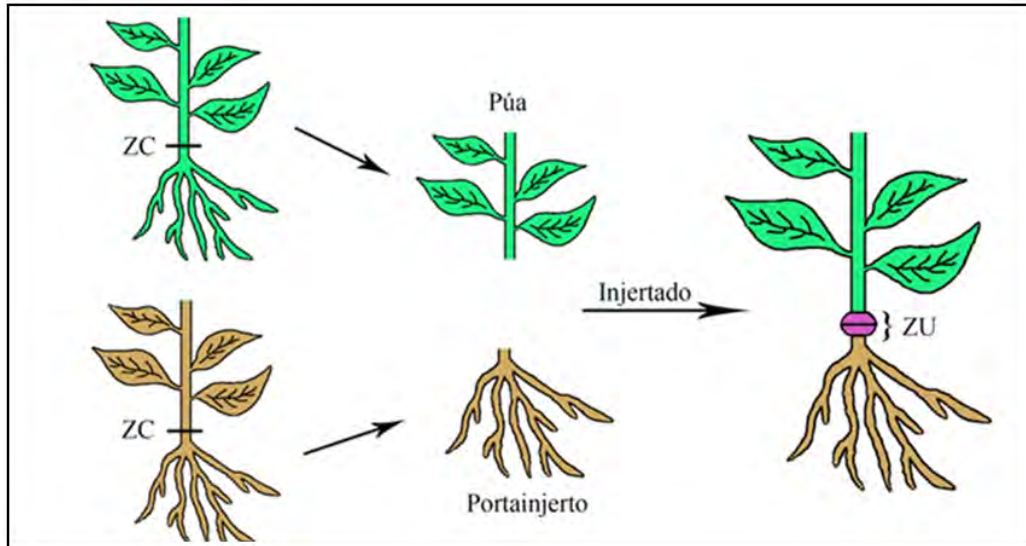


Figura 1. Esquema de injerto en una planta. Las zonas de corte (ZC) seccionan la parte aérea de una planta y la radical de otra, que constituirán respectivamente la púa y el portainjerto, los cuales se van a unir posteriormente formando una sola planta. En la planta injertada podemos observar la zona de unión (ZU)

Al realizar el injerto, como respuesta a la herida se produce una proliferación celular en las superficies cortadas, dando lugar a un callo. Más adelante se produce la adhesión de los tejidos, donde las células de la zona de corte de púa y portainjerto se interdigitan, y se depositan materiales celulares como pectinas (Melnik y Meyerowitz, 2015). Posteriormente tiene lugar la diferenciación de las células del callo que dará lugar a la formación de xilema y floema (Melnik y Meyerowitz, 2015). La púa no restablecerá sus funciones normales hasta que la conexión vascular haya finalizado y pueda recibir agua y nutrientes, mientras que el portainjerto se deteriorará si no recibe metabolitos formados en la parte superior de la planta (Hartmann *et al.*, 2018).

Participación de la pared celular en el injerto

La pared celular es una estructura semirrígida que rodea el protoplasto de las células de las plantas, siendo indispensable durante su crecimiento y desarrollo (Albersheim *et al.*, 2011). Como consecuencia, también juega un papel crucial en el correcto establecimiento del injerto (Sala *et al.*, 2019), en especial,

en el momento de adhesión entre los tejidos de la púa y el portainjerto. El componente principal de las paredes celulares es la celulosa, un polisacárido de glucosa que forma microfibrillas, las cuales se encuentran embebidas en una matriz de polisacáridos complejos de dos tipos (Albersheim *et al.*, 2011): las hemicelulosas, que se unen mediante puentes de hidrógeno a microfibrillas de celulosa, y las pectinas, que tienen una alta proporción de ácido D-galacturónico.

Las principales pectinas son el homogalacturonano (HG), el ramnogalacturonano I y el ramnogalacturonano II (Albersheim *et al.*, 2011). El HG es incorporado a la pared en forma metil-esterificada. La eliminación de los ésteres en la pared por pectinmetil-esterasas disminuye el grado de metilesterificación, el cual influye en las propiedades del HG (Sala *et al.*, 2019). Además, uno de los primeros acontecimientos que suceden en la zona de unión de los injertos es la deposición de HG con un bajo grado de metilesterificación como respuesta a la herida (Sala *et al.*, 2019). Las pectinas, además, promueven la adhesión de los tejidos de púa y portainjerto en la zona de corte (Pina *et al.*, 2012). Todavía desconocemos numerosos detalles sobre cómo varían las pectinas en la secuencia de acontecimientos que suceden en el injerto desde la realización del corte hasta que se establece la reconexión vascular.

Objetivo

El objetivo de este trabajo es elucidar la secuencia de cambios que se producen en las pectinas de la pared celular, en la zona de unión, durante el establecimiento de injertos de tomate, mediante métodos histológicos e inmunohistoquímicos *in muro*.

Material y métodos

Se sembraron semillas de tomate *Solanum lycopersicum* “Minibel”. Una vez habían germinado se colocaron en una cámara de cultivo a 23 ± 1 °C en condiciones de fotoperiodo de 16 horas de luz con una iluminancia de 3000 lux ($\approx 41 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) (**Fig. 2 A**). Cuando las plantas alcanzaron un diámetro de tallo de 4-5 mm (un mes aproximadamente) (**Fig. 2 B**) se procedió al injertado (**Fig. 2 C-H**).

Se realizaron autoinjertos de 12 plantas para la toma de muestras en diferentes días post-injerto (DPI), obteniendo dos réplicas de cada tiempo. Los tiempos fueron 0 DPI (plantas control, no injertadas), 1, 2, 4, 8 y 20 DPI.

Una vez transcurrido el tiempo de injertado de cada planta, se seleccionó la porción del tallo donde se encuentra la zona de unión y se realizaron cortes diferenciales (**Fig. 3**).

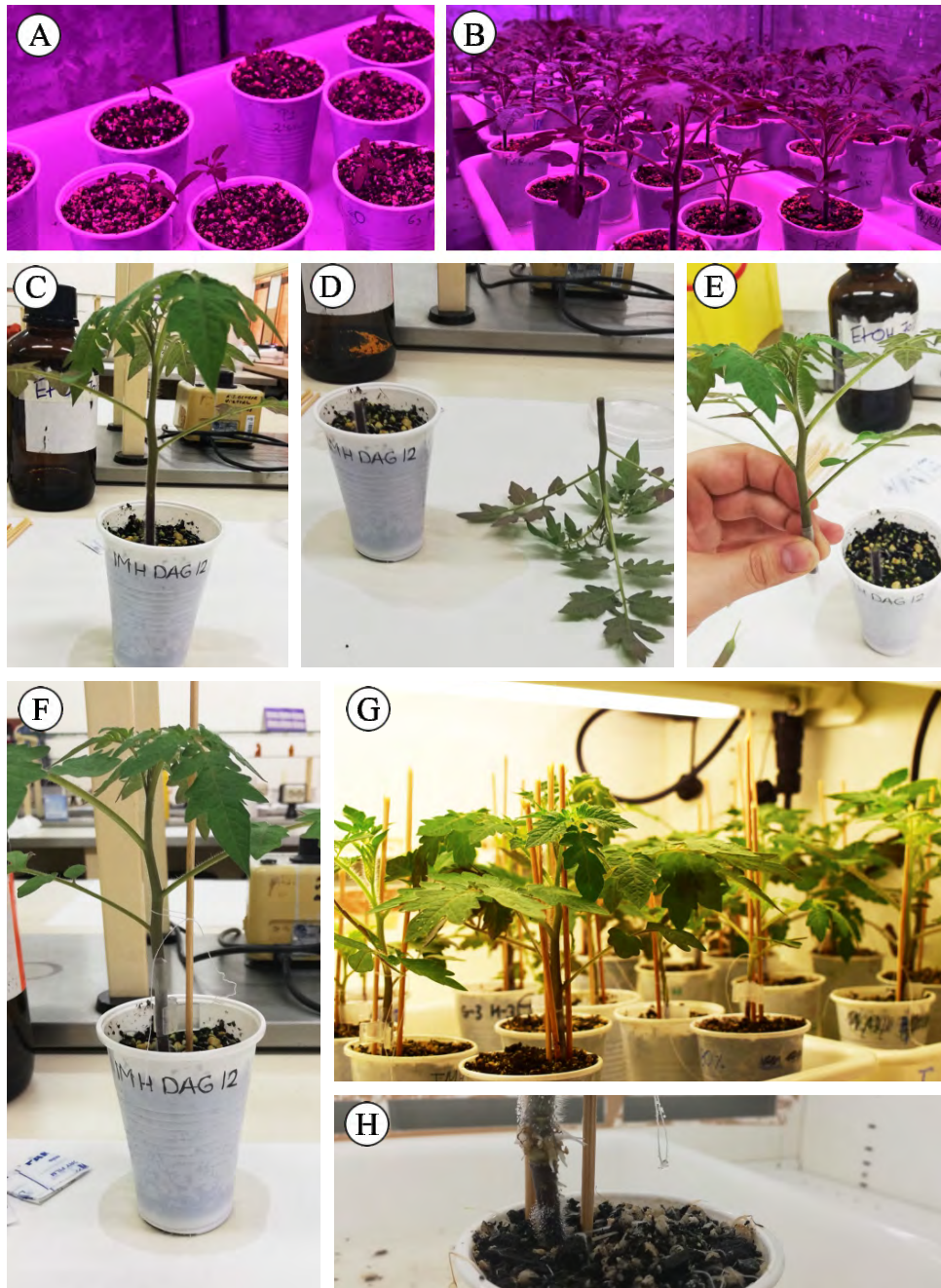


Figura 2. Cultivo de las plantas de tomate e injertado. **A-B** Crecimiento de las plántulas en la cámara de cultivo. Plantas de dos semanas (**A**), plantas que alcanzaron el tamaño necesario para proceder al injertado al mes de su siembra (**B**). **C-F** Proceso de injertado. **C-D** Realización del corte horizontal que separa púa y portainjerto. **E** Enrollado del extremo de la púa con Parafilm®. El otro extremo del cilindro de Parafilm® posteriormente se introdujo en el portainjerto. **F** Unión de púa y portainjerto ayudada del clip y sujeción de la planta con tutores. **G** Plantas injertadas situadas en la cámara de cultivo durante los siguientes días post-injerto. **H** Detalle de injerto de una planta de tomate a los 20 DPI; obsérvese la proliferación de raíces adventicias y el ensanchamiento de la zona del callo

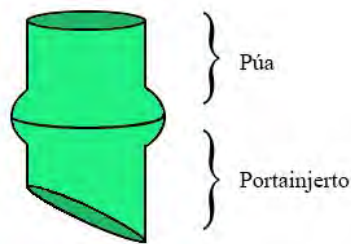


Figura 3. Imagen esquematizada de las muestras de tallo tomadas para la preparación de los cortes histológicos.

Para los estudios inmunohistoquímicos se utilizaron dos anticuerpos primarios (Plant Probes, Leeds, UK): LM19, el cual se une a regiones (epítomos) de HG poco o no metilesterificados, y LM20, que se une a epítomos de HG muy metilesterificados (Verhertbruggen *et al.*, 2009). Como anticuerpo secundario se utilizó inmunoglobulina G anti-rata, unida a isotiocianato de fluoresceína, que aporta una fluorescencia verde. Se realizó además un marcaje con calcoflúor 0,2 % (p/v), que se une a la celulosa, y para el montaje se utilizó citiflúor[®], solución que reduce el desvanecimiento de la fluorescencia.

Resultados

Análisis macroscópico del desarrollo del injerto

La edad seleccionada de las plantas de tomate para la realización de los injertos fue un mes aproximadamente (**Fig. 4 A**). Los primeros días después del corte, se apreció en la púa y el portainjerto la formación de una capa necrótica en respuesta a herida, desde 1 DPI hasta el establecimiento de la unión (**Fig. 4 B-G**). La capa necrótica detuvo su crecimiento en injertos viables, en los cuales proliferaba el callo (**Fig. 4 F**). Sin embargo, en un injerto que no progresó, la capa necrótica aumentó su tamaño considerablemente, tanto en la púa como en el portainjerto (**Fig. 4 H**). La formación de callo incipiente se apreció ya a los 4 DPI (**Fig. 4 D**), y fue aumentando su volumen hasta los 20 DPI (**Fig. 4 F**).

Distribución de las pectinas en los tejidos del tallo de tomate

En una sección transversal del tallo de tomate encontramos en la zona más externa, la epidermis (uniseriada), seguida por el parénquima cortical, el sistema vascular y finalmente el parénquima medular en la parte central. El sistema vascular está compuesto por el floema (más externo), seguido por el meristemo vascular y finalmente el xilema (**Fig. 5 A,B,D**). En cuanto a la distribución de pectinas, se observó que en todos los tejidos del tallo se encontraban asociadas a las paredes celulares (**Fig. 5 C,E-G**). En general, se observó un mayor marcaje del anticuerpo LM19 que del LM20 (**Fig. 5 F-G**).

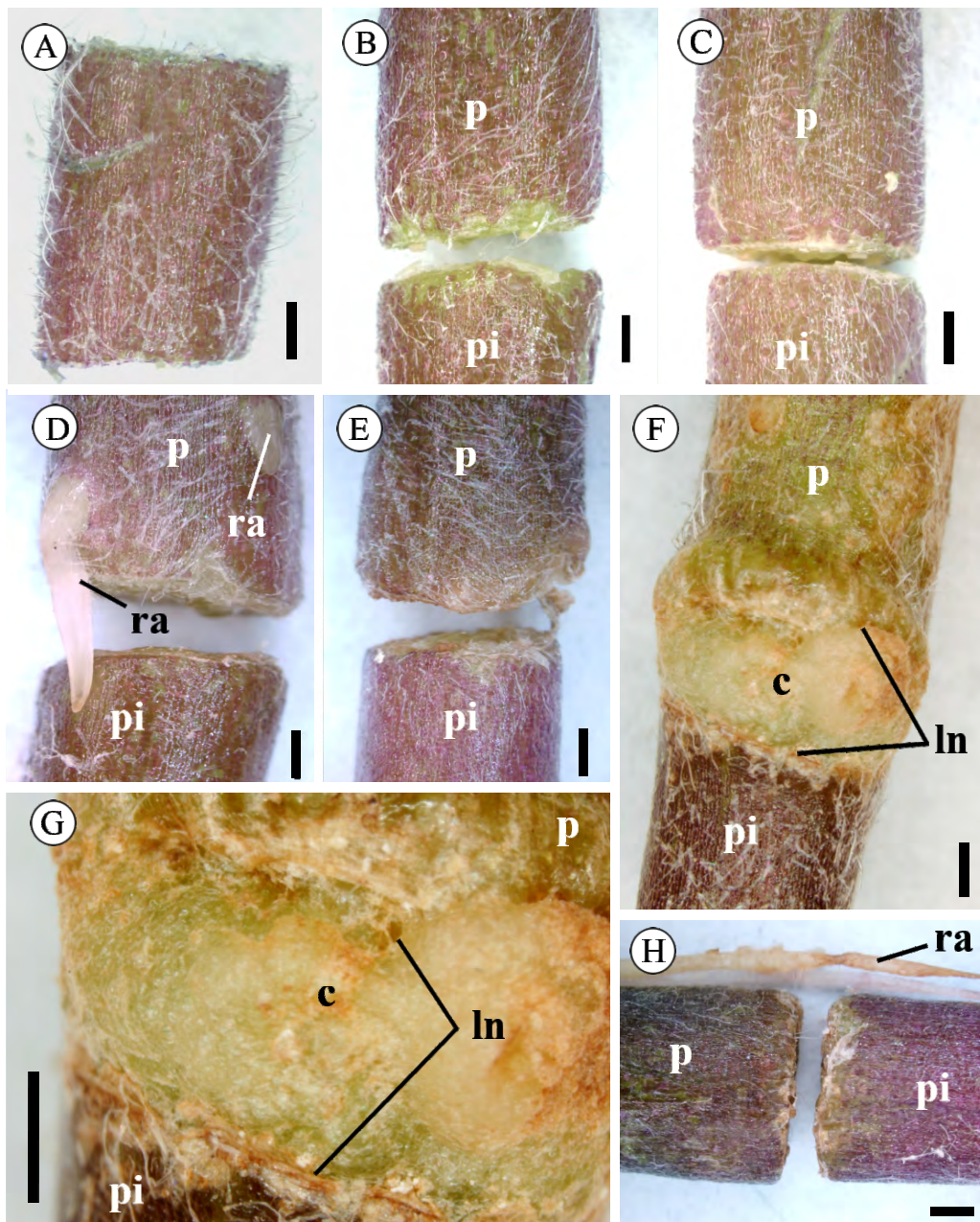


Figura 4. Aspecto macroscópico de los injertos de tomate a lo largo de su desarrollo. **A** Planta no injertada (0 DPI). **B** 1 DPI. **C** 2 DPI. **D** 4 DPI. **E** 8 DPI. **F, G** 20 DPI. **H** Injerto no funcional a los 20 DPI. **D, H** Obsérvese el desarrollo de raíces adventicias (ra) en la púa (p), pero no en el portainjerto (pi). **F, G** Véanse las líneas necróticas (ln) en los límites del callo (c), y el cambio de color de verde a crema tras el establecimiento de la unión. **H** Obsérvese en el injerto fracasado la respuesta de necrosis tanto en la púa como en el portainjerto y la diferente coloración. Barras: **A, B, C, D, E, F, H** = 1 mm. **G** = 500 μ m. Abreviaturas: c callo; ln línea necrótica; p púa; pi portainjerto; ra raíz adventicia

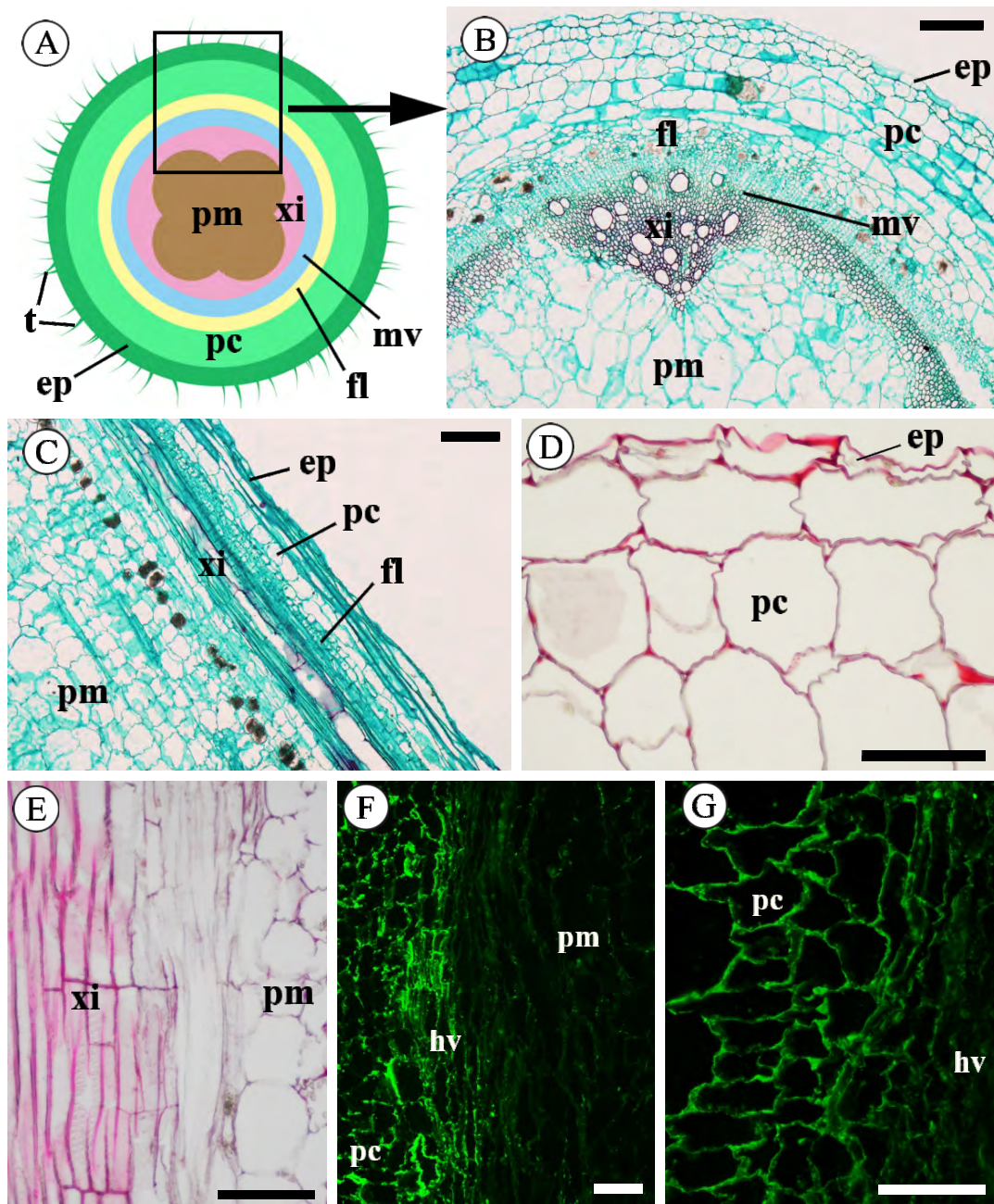


Figura 5. Caracterización histológica del tallo de tomate. **A** Esquema de un corte transversal del tallo de tomate, indicando la organización de los tejidos. **B** Corte transversal del tallo. **C-G** Corte longitudinal del tallo. **B, C** Tinción safranina-verde rápido. **D, E** Tinción con rojo de rutenio. **F, G** Inmunohistoquímica. **F** Marcaje con el anticuerpo LM19. Véase la distribución asimétrica del marcaje, siendo mayor en el parénquima cortical (*pc*) y en los haces vasculares (*hv*) que en el parénquima medular (*pm*). **G** Distribución del marcaje con LM20. Barras: **B, C** 200 μ m. **D, E, F, G** 100 μ m. **B, C** Tomadas de Frey (2018). Abreviaturas: *ep* epidermis; *fl* floema; *hv* haz vascular; *mv* meristemo vascular; *pc* parénquima cortical; *pm* parénquima medular; *t* tricoma; *xi* xilema

Distribución de pectinas en la zona de unión del injerto

Tinción con rojo de rutenio

En cuanto a la distribución general de las pectinas durante el establecimiento del injerto observada mediante una tinción con rojo de rutenio, se apreció una acumulación de pectinas en la zona de corte, tanto en la púa (**Fig. 6 A,C,G**) como en el portainjerto (**Fig. 6 B,D,E,H**). Además, la deposición de pectinas fue asimétrica, siendo en los primeros días post-injerto, mayor en la púa (**Fig. 6 A,C**). La formación de callo se empezó a apreciar ligeramente en la púa ya a los 2 DPI (**Fig. 6 C**) siendo más visible a los 8 DPI (**Fig. 6 G**). Se detectó también una acumulación de pectinas en las zonas de corte de los haces vasculares seccionados (**Fig. 6 C,D**). Y se observó cómo, a veces, la deposición de pectinas afectó a varias capas de células, sobre todo en la púa (**Fig. 6 A,F**). Por último, a los 20 DPI se observó una gran deposición de pectinas, lo cual permite identificar la zona de unión (**Fig. 6 I,J,K**).

Marcaje con Lm19

Se observó un aumento de la cantidad de marcaje con LM19 en la zona de corte a medida que aumentó el tiempo post-injerto, indicando una acumulación de HG no metilesterificado o poco metilesterificado en la zona de corte (**Fig. 7 A-I**). En los primeros días después del injerto, se observó una distribución asimétrica del marcaje, siendo mucho mayor en la zona de corte (**Fig. 7 D**). También se hizo patente un aumento de marcaje en la zona de corte de los haces vasculares heridos (**Fig. 7 D**). En la púa se apreciaron células de pequeño tamaño agrupadas, indicadoras de la formación de callo, y con un marcaje importante con LM19 (**Fig. 7 G**). Además, se observó un aumento de marcaje en la zona de unión a los 20 días, tras el establecimiento del injerto (**Fig. 7 J-K**).

Marcaje con Lm20

En el estudio de la distribución del marcaje con LM20 se apreció un aumento progresivo del mismo en la zona de corte a lo largo del tiempo de establecimiento del injerto, indicando que se producía una acumulación de HG metilesterificado (**Fig. 8 A-I**). No obstante, la intensidad del marcaje con LM20 fue mucho menor que el marcaje con LM19 en la zona de corte, indicando una menor presencia de HG metilesterificado. A los 20 DPI se detectó presencia de LM20 en la zona de unión de púa y portainjerto (**Fig. 8 I-J**).

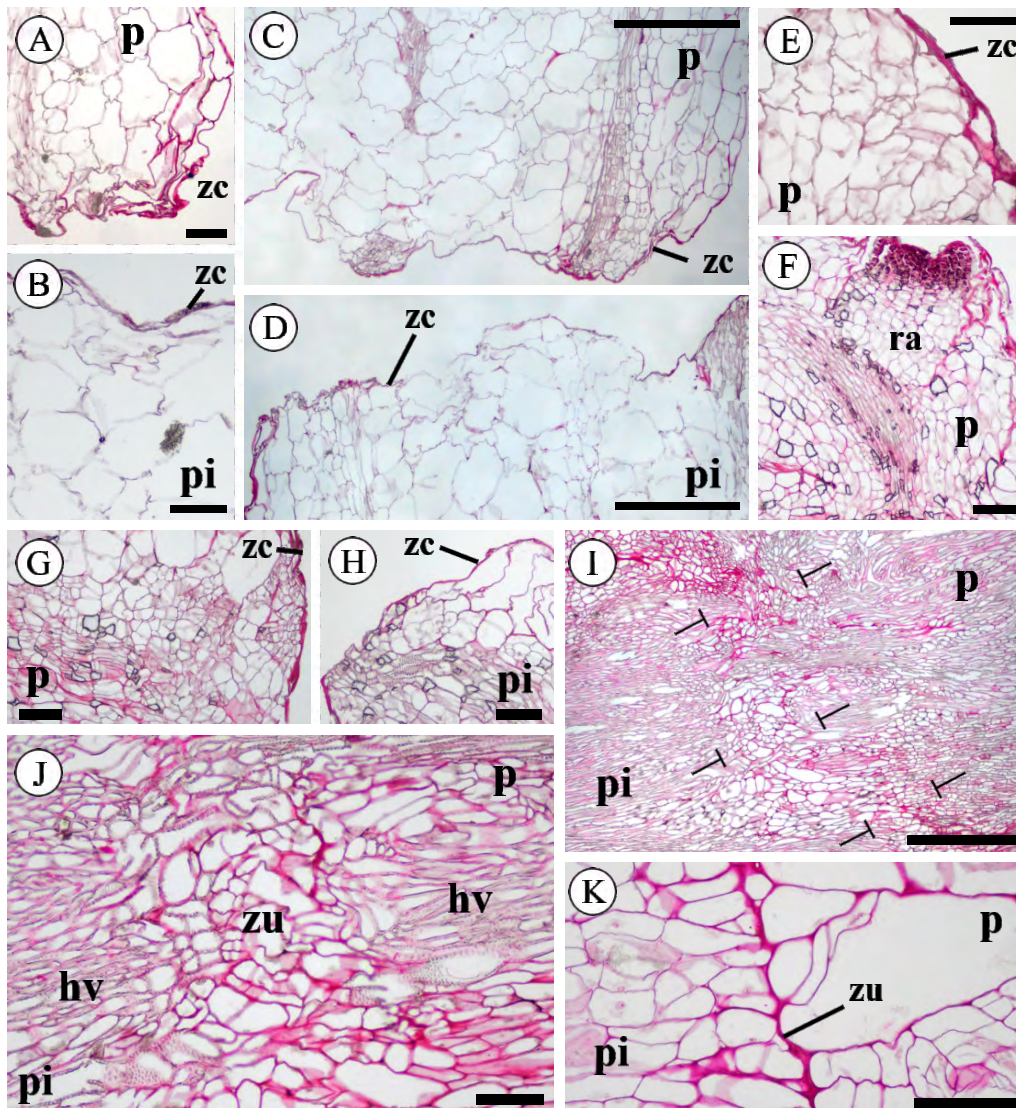


Figura 6. Tinción de rojo de rutenio sobre cortes histológicos de injertos en tomate durante el establecimiento del mismo: **A, B** 1 DPI, **C, D** 2 DPI, **E** 4 DPI, **F-H** 8 DPI e **I-K** 20 DPI. **A, C, F, G** Corte histológico de la púa. **B, D, E, H** Corte histológico del portainjerto. **A-H** Obsérvese la zona de corte (*zc*) y la intensidad de tinción en la zona indicando la deposición de pectinas. **F** Sección transversal de una raíz adventicia (*ra*) en la púa a los 8 DPI, véase la gran deposición de pectinas en las células del extremo apical de la misma. **I** Se delimita con flechas (\top) la zona de unión entre púa y portainjerto. **J** Véase la reconexión de los haces vasculares (*hv*) entre la púa y el portainjerto en la zona de unión (*zu*). Barras: **A, B, E, F, G, H, J, K** = 100 μ m. **C, D, I** = 500 μ m. Abreviaturas: *hv* haz vascular; *p* púa; *pi* portainjerto; *ra* raíz adventicia; *zc* zona de corte; *zu* zona de unión

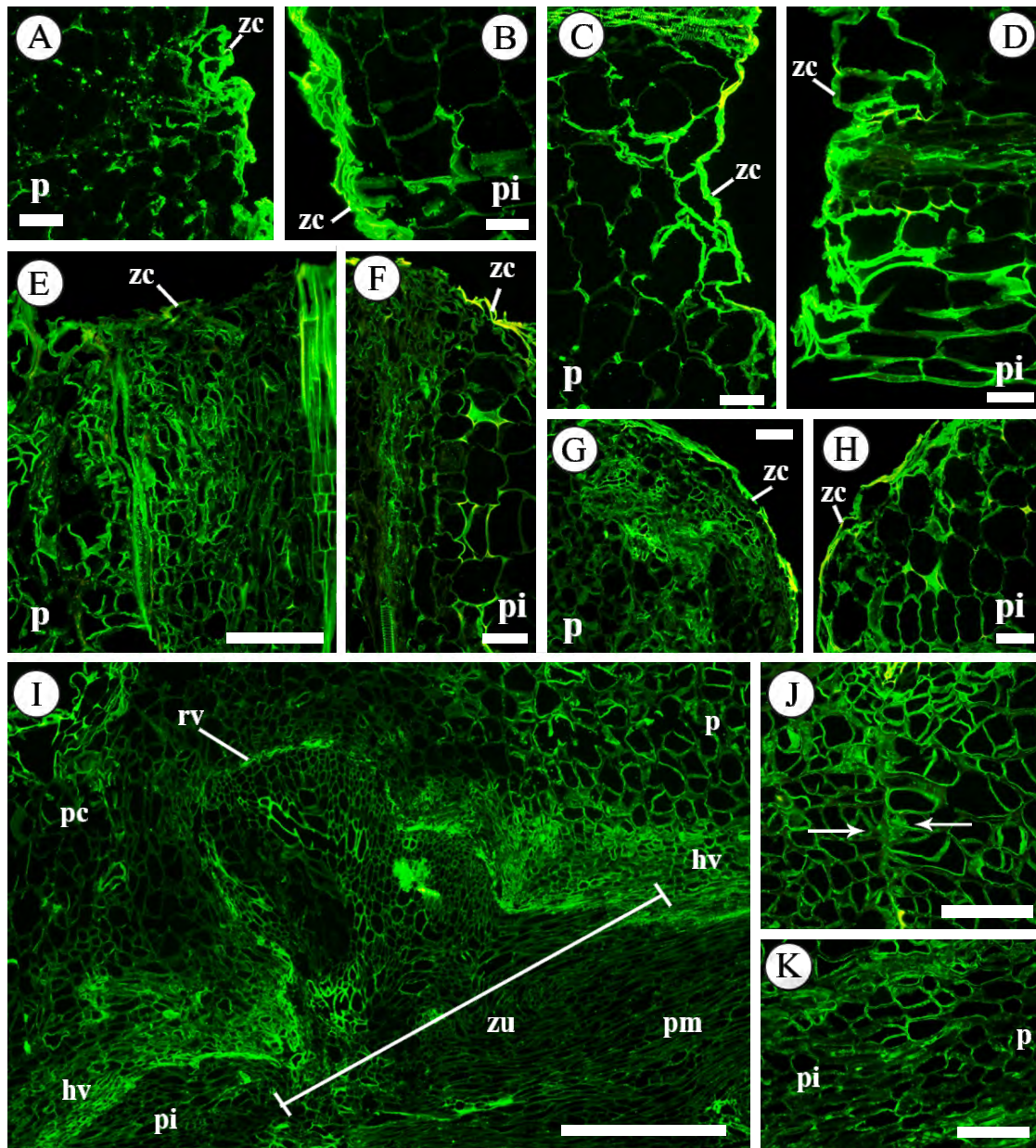


Figura 7. Distribución de homogalacturonano poco o no metilsterificado (marcaje con LM19) en el desarrollo del injerto. **A, B** 1 DPI. **C, D** 2 DPI. **E, F** 4 DPI. **G, H** 8 DPI. **I, J, K** 20 DPI. **A, C, E, G** Corte de la púa (*p*). **B, D, F, H** Corte del portainjerto (*pi*). **A-H** Véase el aumento de marcaje progresivo en la zona de corte (*zc*). **G-H** Obsérvese la diferencia de tamaño de las células de la púa y del portainjerto respectivamente, indicando la formación de callo únicamente en la púa (respuesta asimétrica). **I** Zona de unión entre la púa y el portainjerto. Véase la reconexión vascular (*rv*) de los haces del tallo, permitiendo el establecimiento del injerto. **J-K** Detalles de la zona de unión a los 20 DPI. Obsérvese la acumulación de pectinas delineando la zona de unión entre la púa y el portainjerto (línea segmentada en **I** y flechas en **J**). Barras: **A, B, C, D, E, F, G, H, K** = 100 μ m. **I, J** = 500 μ m. Abreviaturas: *hv* haz vascular; *p* púa; *pc* parénquima cortical; *pi* portainjerto; *pm* parénquima medular; *rv* reconexión vascular; *zc* zona de corte; *zu* zona de unión

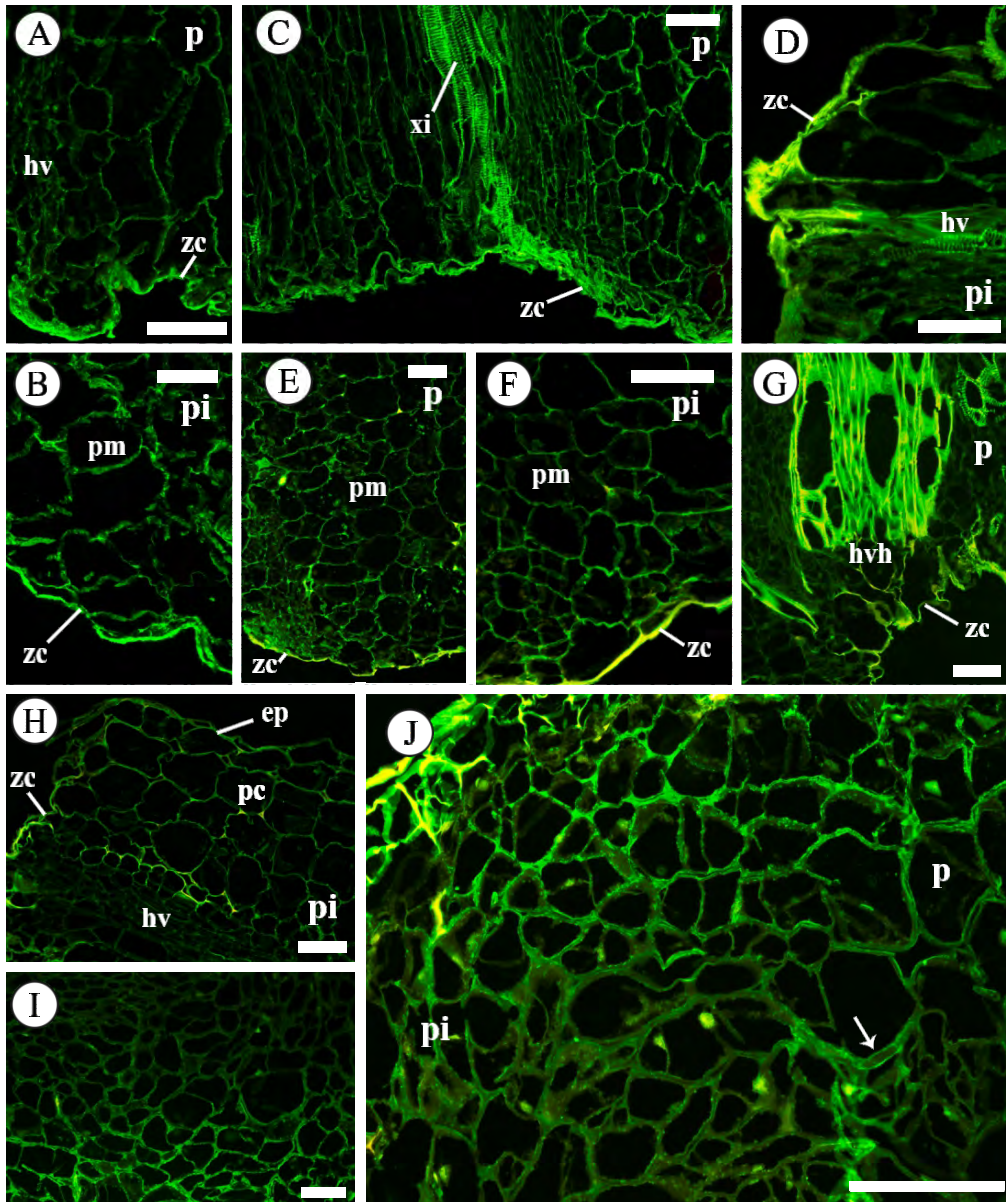


Figura 8. Distribución de homogalacturonano metilesterificado (marcaje con LM20) en el desarrollo del injerto. **A, B** 1 DPI. **C, D** 2 DPI. **E, F** 4 DPI. **G, H** 8 DPI. **I, J** 20 DPI. **A, C, E, G** Corte de la púa. **B, D, F, H** Corte del portainjerto. **A-H** Véase el marcaje en la zona de corte (zc). **C, D** Obsérvese la interrupción de los haces vasculares (hv) tras el corte. **B, E, F** Parénquima medular (pm) en la zona de corte. **G** Obsérvese el corte en el haz vascular de la púa y la proliferación de células por debajo del haz vascular herido (hvh). **H** Véase cómo, a diferencia de la púa, el haz vascular está cortado, pero no se aprecia proliferación de células; la formación del callo solo se observa en la púa. **I** Obsérvese el marcaje diferencial y gradual de la deposición de pectinas hacia la zona de unión a los 20 DPI. **J** Véase el marcaje de LM20 en la zona interior de la pared celular (flecha blanca). Además, véase también la distribución de LM20 en la zona de unión en el córtex. Barras = 100 μ m. Abreviaturas: hv haz vascular; hvh haz vascular herido; p púa; pc parénquima cortical; pi portainjerto; pm parénquima medular; xi xilema; zc zona de corte

Distribución de las pectinas en la pared celular

Se estudió detalladamente la distribución de las pectinas en las paredes celulares durante el injerto (**Fig. 9 A-J**). La unión de los anticuerpos LM19 (**Fig. 9 F**) y LM20 (**Fig. 9 G**) se produjo mayoritariamente en la cara interna de las paredes celulares, y en las zonas de unión entre tres células (**Fig. 9 C,G**). Fue llamativo el escaso marcaje que presentaron ambos anticuerpos en la lámina media (**Fig. 9 F,G,H**). A partir de la combinación de las fotos de calcoflúor y la fluorescencia asociada a los anticuerpos, se pudo apreciar mejor la irregularidad de la distribución del marcaje de los anticuerpos durante el desarrollo del injerto (**Fig. 9 A,B,C**). En la zona de corte, durante los primeros días del injerto (1-2 DPI) se apreció una tinción intensa con rojo de rutenio, que sugiere una fuerte deposición de pectinas (**Fig. 9 I**), parte de las cuales pertenecen a HG poco metilsterificado, ya que quedan marcadas con LM19 (**Fig. 9 D**). Una vez se estableció el injerto se observó una gran deposición de pectinas en la zona de unión (**Fig. 9 J**).

Discusión

La progresión del injerto es asimétrica, necesita la adhesión entre la púa y el portainjerto y finaliza con la reconexión vascular

En nuestro estudio se ha observado una respuesta asimétrica entre púa y portainjerto durante el desarrollo del injerto, tanto en la proliferación de las células del callo como en la diferenciación vascular, siendo siempre más pronunciada en la púa. Esta respuesta asimétrica tanto en la proliferación del callo como en la activación del meristemo vascular, está asociada a la acumulación de auxinas que se produce en la púa debido a que no pueden continuar transportándose hacia el cuello de la planta (Melnik, 2017).

Para que la unión de púa y portainjerto sea estable, se tiene que producir la formación y diferenciación de las células del callo (Sala *et al.*, 2019). En nuestro sistema experimental, la formación del callo comienza a ser visible a los 2 DPI, siendo abundante a los 8 DPI. A los 20 DPI la unión estaba establecida completamente. Estos tiempos coinciden con los descritos en otros trabajos (Moore, 1984; Frey *et al.*, 2020).

Las pectinas se encuentran asociadas con la pared celular

La presencia de pectinas se encuentra asociada a las paredes celulares, tanto en la tinción con rojo de rutenio como en el marcaje con anticuerpos (LM19 y LM20). Esto se debe a que las pectinas son componentes fundamentales de la

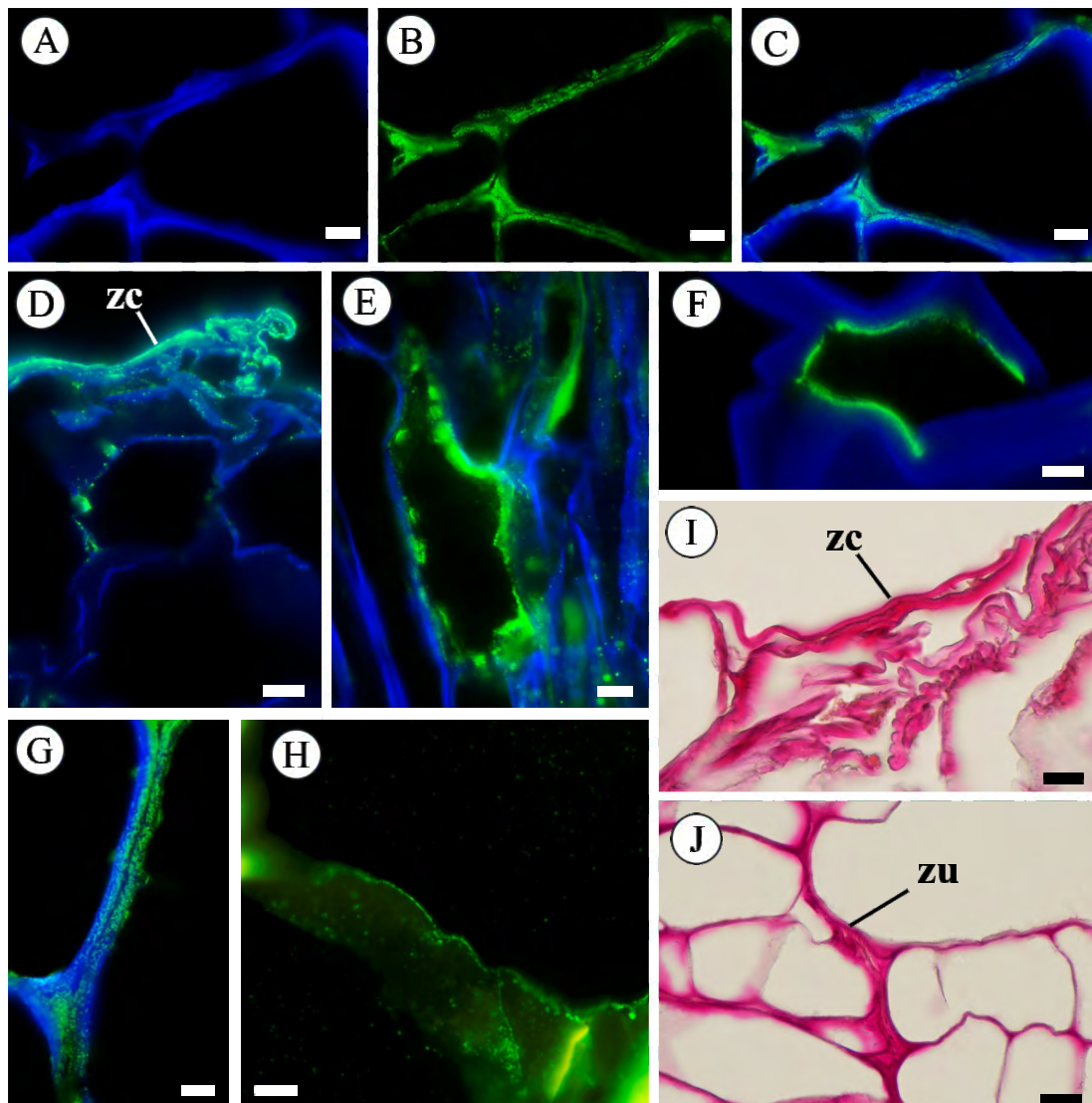


Figura 9. Distribución de las pectinas en la pared celular durante el desarrollo del injerto. **A, B, C, E, G, J** 20 DPI. **D** 1 DPI. **I** 2 DPI. **A, B, C** Secuencia para demostrar el proceso realizado en la composición de las imágenes obtenidas con calcoflúor (**A**), y anticuerpo -LM20 en este caso- (**B**), para originar la imagen combinada (merged) LM20 + calcoflúor (**C**), y observar la distribución de los anticuerpos en la pared celular. **D, E, F** LM19 + calcoflúor. **G** LM20 + calcoflúor. **H** LM20. **I, J** Rojo de rutenio. **D** Obsérvese la distribución asimétrica de LM19, siendo mayor en la zona de corte. **E** Véase la gran cantidad de marcaje con LM19 que hay en la zona de unión tras 20 DPI. **F, G, H** Obsérvese el marcaje en la cara interna de la pared celular, tanto con LM19 como con LM20. **I** Deposición de pectinas en la zona de corte de la púa a los 2 DPI. **J** Obsérvese la presencia de una gran cantidad de pectinas delineando la zona de unión tras 20 DPI. Barras: **A, B, C, D, F, G, I, J** = 10 μ m. **E, H** = 5 μ m. Abreviaturas: *zc* zona de corte; *zu* zona de unión

pared celular, en la que se encuentran formando geles hidratados que permiten la unión de las células en la capa adhesiva (Albersheim *et al.*, 2011).

Se produce un aumento progresivo de pectinas en la zona de corte durante el establecimiento del injerto

Es ampliamente reconocido que en la zona de corte se produce una deposición de pectinas, permitiendo la adhesión entre púa y portainjerto (Moore, 1984; Pina *et al.*, 2012; Melnyk y Meyerowitz, 2015; Frey *et al.*, 2020), pero hay escasa información sobre la secuencia de cambios asociados a estas pectinas durante el desarrollo del injerto. En el estudio de la distribución general de pectinas a partir de la tinción de rojo de rutenio, encontramos un aumento de estos polisacáridos en la zona de corte a medida que avanzan los días post injerto, coincidiendo con lo que se conoce hasta la fecha (Moore, 1984; Pina *et al.*, 2012; Frey *et al.*, 2020). Además, como cabría esperar, también se ha producido un aumento de la deposición de HG en la zona de corte durante el desarrollo del injerto. Este ha sido detectado por un aumento progresivo del marcaje de LM19 y LM20 en la zona de corte. Se ha apreciado mayor cantidad de HG poco metilesterificado y no metilesterificado (detectado con LM19), mientras que el HG metilesterificado (LM20) era menos abundante. Esto coincide con lo descrito en injertos de *Arabidopsis*, donde en la zona de unión del injerto se observó abundante marcaje de LM19; mientras que el LM20 se encontró de forma menos notable (Sala *et al.*, 2019).

LM19 y LM20 se unen a las caras internas de las paredes celulares y están prácticamente ausentes en la lámina media

El HG no metilesterificado suele encontrarse mayoritariamente en la lámina media y en las esquinas celulares, mientras que las pectinas esterificadas suelen estar presentes en las zonas más internas y externas de la pared celular, rodeando la red de celulosa-hemicelulosa (Albersheim *et al.*, 2011). Sin embargo, cuando estudiamos en detalle la disposición de LM19 en la pared celular en nuestros injertos de tomate, apreciamos cómo este –al contrario de lo que cabría esperar– se encontró asociado a la zona interna de las paredes celulares y apenas estaba presente en la lámina media. Sin embargo, sí se encontró en las esquinas celulares. Encontramos el mismo patrón cuando observamos la disposición de LM20 en las paredes celulares. Es posible que la detección de HG en la cara interna de la pared celular sea consecuencia de su rápida biosíntesis y deposición tras el injerto.

Perspectivas de futuro

Nuestro estudio ha demostrado que la combinación de técnicas de tinción con rojo de rutenio y de técnicas de inmunohistoquímica utilizando los anticuerpos monoclonales LM19 y LM20 permite seguir la evolución de los cambios que se producen en las pectinas de las paredes celulares en la zona de unión a lo largo del desarrollo del injerto. Nuestros resultados permiten hipotetizar que los injertos no funcionales, al menos en parte, estarán asociados a una anómala deposición de materiales de la pared celular, en particular de HG muy metilesterificado y/o su desesterificación en la pared celular.

Conclusiones

La distribución de pectinas durante el desarrollo del injerto indicó una acumulación progresiva de estos polisacáridos en la zona de corte, tanto en la púa como en el portainjerto, finalizando con una notable deposición de pectinas en la zona de unión. Se observó una asimetría en la distribución del homogalacturonano poco metilesterificado y no metilesterificado, siendo muy abundante en la zona de unión. Además, el homogalacturonano –tanto poco como muy metilesterificado– se encontró asociado a la cara interna de la pared celular y a las esquinas celulares, estando prácticamente ausente en la lámina media.

Bibliografía

- Albersheim, P., Darvill, A., Roberts, K., Sederoff, R. y Staehelin, A. 2011. Plant cell walls. Nueva York: Garland Science
- Frey, C. 2018. Caracterización histológica en injertos funcionales y no funcionales de tomate. Trabajo Fin de Grado. Facultad de Ciencias Biológicas y Ambientales. Universidad de León
- Frey, C., Acebes, J. L., Encina, A., y Álvarez, R. 2020. Histological changes associated with the graft union development in tomato. *Plants* 9:1479
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. y Geneve, R. L. 2018. Plant propagation: Principles and practices. 9.a ed. Nueva Jersey: Pearson
- Lee, J. M., Kubota, C., Tsao, S. J., Bie, Z., Echevarria, P. H., Morra, L. y Oda, M. 2010. Current status of vegetable grafting: Diffusion, grafting techniques, automation, *Scientia Horticulturae*, 127(2):93-105
- Melnyk, C. W. 2017. Plant grafting: insights into tissue regeneration, *Regeneration*, 4(1):3-14
- Melnyk, C. W. y Meyerowitz, E. M. 2015. Plant grafting, *Current Biology*, 25(5):183-188
- Moore, R. 1984. Graft formation in *Solanum pennellii* (Solanaceae), *Plant Cell Reports*, 3(5):172-175



- Mudge, K., Janick, J., Scofield, S. y Goldschmidt, E. E. 2009. A history of grafting, *Horticultural Reviews*, 35:437-493
- Pina, A., Errea, P. y Martens, H. J. 2012. Graft union formation and cell-to-cell communication via plasmodesmata in compatible and incompatible stem unions of *Prunus* spp., *Scientia Horticulturae*, 143:144-150
- Sala, K., Karcz, J., Rypień, A. y Kurczyńska, E. U. 2019. Unmethyl-esterified homogalacturonan and extensins seal *Arabidopsis* graft union, *BMC Plant Biology*, 19:151
- Verherbruggen, Y., Marcus, S. E., Haeger, A., Ordaz-Ortiz, J. J. y Knox, J. P. 2009. An extended set of monoclonal antibodies to pectic homogalacturonan, *Carbohydrate Research*, 344:1858-1862