



**MANUAL DE VIVEROS PARA LA
PRODUCCIÓN DE ESPECIES
FORESTALES EN CONTENEDOR**

VOLUMEN 7

Capítulo 2

Evaluación de la Calidad de la Planta

Por Gary A. Ritchie, Thomas D. Landis, R.
Kasten Dumroese y Diane L. Haase

Contenido

7.2.1	Introducción	24
7.2.2	Tipos de atributos de la calidad de la planta.	25
7.2.3	Atributos morfológicos	26
7.2.3.1	Introducción.....	26
7.2.3.2	Características morfológicas de la planta producida en contenedor	26
	Volumen del contenedor	
	Diámetro del tallo (“calibre”)	
	Altura del tallo	
	Cepellones “enredados”	
	Otros índices morfológicos	
7.2.3.3	Efecto del tamaño del contenedor en el desempeño de la plantación.....	31
7.2.3.4	Atributos morfológicos: resumen.....	32
7.2.4	Atributos fisiológicos.....	34
7.2.4.1	Estrés hídrico de la planta (EHP)	34
	¿Qué es el EHP?	
	Potencial hídrico	
	Unidades del potencial hídrico	
	Patrones diurnos del potencial hídrico de la planta	
	Medición del potencial hídrico de la planta	
	Interpretación de los valores del EHP	
	¿Es el EHP un indicador de calidad de la planta?	
	El EHP como una panorámica del estado hídrico de la planta	
	Estrés hídrico de la planta: resumen	
7.2.4.2	Resistencia al frío	41
	Conceptos que respaldan la prueba	
	¿Qué sucede cuando el tejido de la planta se congela?	
	Mecanismo de resistencia al frío	
	Etapas del endurecimiento	
	Variación del endurecimiento en el tejido de las plantas, especies y ecotipos	
	Métodos para evaluar la resistencia al frío	
	Prueba de congelamiento total de la planta	
	Prueba de la pérdida de electrolitos inducida por congelamiento (PEIC).	
	Análisis térmico diferencial.	
	Prueba de resistencia a través de la expresión de genes.	
	Aplicaciones de la prueba de resistencia al frío.	
	Resistencia al frío: resumen	
7.2.4.3	Pérdida de electrolitos de la raíz.....	50
	Teoría	
	Relevancia biológica de la PER	
	Procedimiento de medición	
	Aplicaciones de la PER en los viveros	
	Uso de la PER para pronosticar el desempeño de la plantación	
	Limitantes de la PER	
	Pérdida de electrolitos de la raíz: resumen.	

7.2.4.4 Fluorescencia de la clorofila.....	55
¿Qué es la fluorescencia de la clorofila?	
Fotosíntesis y fluorescencia de la clorofila	
Medición de la fluorescencia de la clorofila	
Valores normales de los parámetros de la FC en las plantas	
Uso de la FC en la evaluación de la calidad de la planta	
Fluorescencia de la clorofila: resumen	
7.2.4.5 Contenido de nutrientes minerales	61
7.2.4.6 Reservas de carbohidratos	63
7.2.5 Atributos de desempeño	65
7.2.5.1 Dormancia de la yema	65
El concepto de dormancia	
Definición de dormancia	
El ciclo de la dormancia	
El requerimiento de horas frío	
Medición de la dormancia	
Cálculo del índice de liberación de la dormancia	
Medición del índice mitótico	
Tamaño y desarrollo de la yema	
Dormancia: resumen	
7.2.5.2 Resistencia al estrés	73
El concepto de resistencia al estrés	
Medición de la resistencia al estrés	
Uso de las pruebas de resistencia al frío para estimar la resistencia al estrés total	
Uso de las horas frío para predecir la resistencia al estrés	
Ajuste por el efecto adicional del almacenamiento refrigerado	
Aplicación a otras especies y regiones	
Resistencia al estrés: resumen	
7.2.5.3 Potencial de crecimiento de la raíz.....	78
Procedimiento de la prueba del PCR	
El PCR como pronóstico del desempeño de la plantación	
¿Por qué el PCR en ocasiones funciona?	
Potencial de crecimiento de la raíz: resumen	
7.2.6 Correlación de las combinaciones de las pruebas de calidad de planta para predecir el desempeño de la plantación.	84
7.2.7 Limitaciones de las pruebas de calidad de planta.....	85
7.2.7.1 Calendarización	85
7.2.7.2 Muestreo.....	85
7.2.7.3 Expectativas poco razonables.....	86
7.2.8 Laboratorios comerciales para las pruebas de calidad de planta.....	87
7.2.9 Resumen y conclusiones	88
7.2.10 Literatura citada.....	91
7.2.11 Apéndice.....	100

7.2.1 Introducción

En su obra profética “Plantando los Pinos del Sur”, Wakeley (1954) previó lo que en la actualidad se mantiene como un axioma – la restauración, incluidas las actividades de forestación, nunca serán totalmente exitosas hasta que los viveristas sean capaces de producir de manera constante y confiable, plantas de “alta calidad”. Sin embargo, no siempre resultará obvio distinguir entre una planta de alta calidad de una de baja calidad, por lo que el concepto de planta de calidad se mantuvo ausente por muchos años. Wakeley además reconoció que las “categorías morfológicas”, a menudo se quedan cortas en su habilidad para predecir el desempeño de la planta, y desarrolló la hipótesis de que las “categorías fisiológicas” pueden ser un mejor criterio de viabilidad (Wakeley, 1949). Sin embargo, lo que constituyó un nivel fisiológico y cómo medirlo, hacen referencia a Wakeley y sus trabajos contemporáneos.

Durante los últimos 30 años a nivel mundial, tanto los investigadores como los gerentes de viveros, han realizado un gran número de simposios, y talleres, y han publicado muchos reportes sobre el tema de planta de calidad y cómo medirlo (Por ejemplo, Colombo, 2005; Duryea, 1985; Haase, 2008). Este trabajo generó una variedad de pruebas de calidad, aunque muchas de ellas son ingeniosas la mayoría falló al tratar de ponerse en práctica, por no cubrir las expectativas. Sin embargo, algunas superaron la prueba del tiempo y permanecen en uso. En este capítulo se discuten las formas más prácticas de medir la calidad de la planta y cómo estos métodos deben ser utilizados en los viveros que producen en contenedor.

7.2.2 Tipos de atributos de la calidad de la planta

Los investigadores forestales han trabajado para identificar rasgos cuantificables que puedan ser usados como indicadores de una planta de calidad, y mejor aún, para predecir su desempeño una vez establecida en campo. Aunque se ha integrado una lista impresionante de tales atributos (por ejemplo, Grossnickle, 2000), sólo algunos han sido utilizados de forma operativa tanto en el vivero o en los sitios de plantación. Desde nuestro punto de vista, la calidad de la planta puede ser dividida en tres grandes categorías.

Atributos morfológicos: Estos rasgos pueden ser observados rápidamente y medidos con facilidad, tales como la altura del tallo, el diámetro del cuello de la raíz, volumen de la raíz y peso seco de la raíz y el tallo. Durante la cosecha para el proceso de plantación, estos rasgos no se modifican de manera considerable.

Atributos fisiológicos. Estos rasgos no pueden ser fácilmente observados y para ser medidos, se requiere de equipo y procedimientos de laboratorio. Contrariamente a las características morfológicas, los atributos fisiológicos cambian constantemente y algunas veces de manera dramática durante el proceso desde la cosecha hasta la plantación. Por lo tanto, cualquier medición de la calidad fisiológica es una condición instantánea relevante, por sólo un breve tiempo. Algunos atributos fisiológicos comunes incluyen la resistencia al frío y la dormancia de la yema.

Atributos de desempeño. Estos rasgos pueden ser evaluados sólo si la planta es sometida a ciertas pruebas con protocolos predefinidos, y observando posteriormente cómo se comportan. Las pruebas de desempeño son de gran valía dado que permite evaluar e integrar a la vez un amplio espectro de rasgos morfológicos y fisiológicos.

Desafortunadamente, las pruebas de desempeño son muy laboriosas, consumen mucho tiempo y por tanto, son muy caras. No obstante y debido a su carácter intuitivo, las

pruebas de desempeño han encontrado un amplio uso en la evaluación de la calidad de la planta. Una de las más antiguas y más comúnmente utilizadas en la actualidad es el Potencial de Crecimiento de la Raíz (PCR).

7.2.3 Atributos morfológicos

7.2.3.1 Introducción

Durante los años setentas la mayoría de la producción realizada en los Estados Unidos, Canadá y Europa fue con el sistema a raíz desnuda, y por ello, la mayoría de la literatura sobre la morfología de las plantas se enfocó a este sistema de producción (Frampton *et al.*, 2002; Ritchie *et al.*, 1997). Los efectos de la morfología en el desempeño de la producción a raíz desnuda han sido resumidos en la literatura (Thompson, 1985; Mexal y Landis, 1990; Wilson y Jacobs, 2006). Los mejores rasgos que permiten predecir el desempeño en campo han sido comúnmente la altura, el diámetro del tallo, la “calidad” del sistema radical (masa o volumen), y la relación entre la masa del tallo respecto de la masa del sistema radical. La supervivencia puede ser mejor pronosticada por el diámetro del tallo, mientras que la altura del tallo tiende a estar más relacionada con la altura inicial de la planta. En la producción a raíz desnuda, cuando el diámetro de la planta incrementa por encima de los 5 mm (0.2 in), otros indicadores morfológicos llegan a ser menos importantes (Mexal y Landis, 1990). De manera adicional, las plantas producidas a raíz desnuda que tenían mayor volumen de raíz al momento de la plantación, tuvieron consecuentemente mayor crecimiento y supervivencia que aquellas con menor volumen de raíz (Rose *et al.*, 1997).

7.2.3.2 Características morfológicas de la planta producida en contenedor

A continuación se discuten los principales factores morfológicos que en orden de importancia, describen la calidad del sistema en contenedor.

Volumen del contenedor. El factor morfológico de mayor importancia que afecta la calidad de planta en los viveros que producen en contenedor, es el tamaño o volumen del contenedor. El volumen del contenedor controla la cantidad de raíces que la planta puede producir, lo cual a su vez, determina que tan largo puede producirse el

tallo en un tiempo determinado. De forma adicional, el tamaño de la “cavidad” del contenedor limita la humedad y las reservas de nutrientes minerales que posteriormente serán tomados en el sitio de plantación. En comparación con el sistema de producción a raíz desnuda donde los sistemas radicales son extremadamente variables, éste es fácil de caracterizar por el volumen y profundidad de las cavidades de producción, por lo cual, la mayoría de los viveros en este sistema se describen por el volumen del contenedor. Por ejemplo, en el noroeste de los Estados Unidos, un “Styro 20” se refiere a la planta que ha sido producida en un contenedor fusionado (bloque) de poliestireno expandido de la marca Styrofoam®, con celdas con un volumen de 340 cm³ (20 in³).

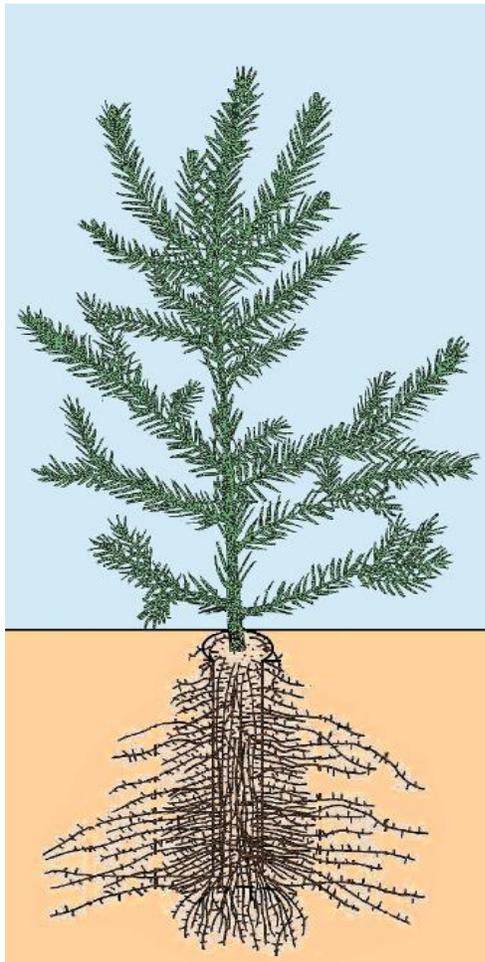
El volumen del contenedor es el factor más importante ya que controla la salida de las raíces después de la plantación (Figura 7.2.1A). A medida de que el volumen del contenedor se incrementa, la superficie exterior del cepellón también se incrementa (Figura 7.2.1B), lo que significa que las cepellones de los contenedores grandes tienen más superficie de contacto con el sustrato circundante.

Entre los diferentes tamaños del contenedor, el volumen y la densidad de crecimiento, tienen el efecto más significativo sobre la morfología de la planta (Cuadro 7.2.1). En estudios con *Picea glauca* x *engelmannii* (Grossnickle, 2000); *Pseudotsuga menziesii*, *Tsuga heterophylla* y *Picea sitchensis* (Arnott y Beddows, 1982); *Picea mariana* (Jobidon *et al.*, 1998); y *Quercus pagoda* (Howell y Harrington, 2004), cada rasgo morfológico medido incrementó el valor a medida que el volumen del contenedor incrementó. En cada caso, la producción en contenedor con cepellones más grandes, produjo plantas mayores después de la plantación.

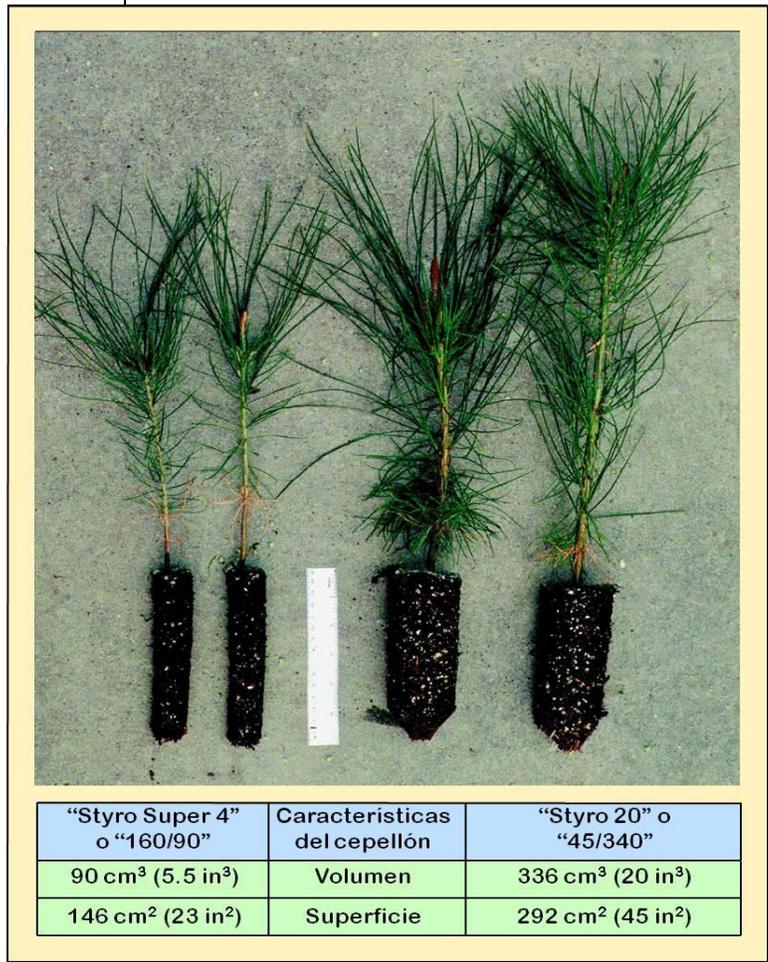
Debido a que los contenedores en bloque tienen un espaciado fijo de celdas, el efecto de modificar la densidad de plantación con un mismo volumen de celda, es más difícil de estudiar. En contraste, el sistema de contenedor Ray Leach® posibilita que el espaciado de celdas se pueda modificar, lo que ha permitido la realización de algunas pruebas de investigación. Plantas de *Pseudotsuga menziesii* creciendo a densidades de 270 a 1,080 plantas/m² (25 a 100/ft²) mostraron que la altura del tallo se incrementó, cuando se incrementó la densidad, debido a la competencia por luz en respuesta al amontonamiento (Figura 7.2.2). Sin embargo, el diámetro del tallo se redujo lo cual muestra que

la calidad se disminuye cuando se producen plantas muy juntas entre sí (Timmis y Tanaka, 1976).

En los contenedores del mismo tamaño, el diámetro del cuello de la raíz y la altura del tallo han probado ser los rasgos morfológicos más importantes que afectan la calidad, y por lo tanto, son los dos factores más comúnmente utilizados en las especificaciones de clasificación (Figura 7.2.3A). Una mayor discusión sobre la medición del diámetro del cuello de la raíz y la altura del tallo se proporciona en el Volumen Uno, sección 1.5.4.2.



A



B

Figura 7.2.1 El crecimiento de las raíces fuera del cepellón dentro del suelo circundante ("salida") es crítico para la supervivencia de las plantas y su crecimiento una vez establecida la planta en campo (A). El volumen del contenedor es importante no sólo porque éste determina la cantidad de raíces que tiene la planta, sino que además, la superficie del cepellón que estará en contacto con el suelo circundante (B). (A – Modificado de Grossnickle, 2000).

Cuadro 7.2.1. Efecto del volumen del contenedor en la morfología de una planta de *Picea* del interior, de dos años de edad (*Picea glauca* x *Picea engelmannii*).

Atributos morfológicos de la planta	Volumen de las cavidades de producción de un bloque de poliestireno expandido (Styroblock®)		
	105 cm ³ (6.6 in ³)	170 cm ³ (10 in ³)	340 cm ³ (20 in ³)
Altura del tallo – cm (in)	24.2 (9.5)	29.7 (11.7)	33.3 (13.1)
Diámetro del cuello de la raíz – mm	4.4	5.0	6.8
Peso seco del tallo – g (oz)	2.8 (0.10)	4.5 (0.16)	6.4 (0.23)
Peso seco de la raíz – g (oz)	1.1 (0.04)	1.4 (0.05)	2.1 (0.07)
Número de ramas	18	24	33
Número de yemas	50	67	86

Fuente: Grossnickle (2000)

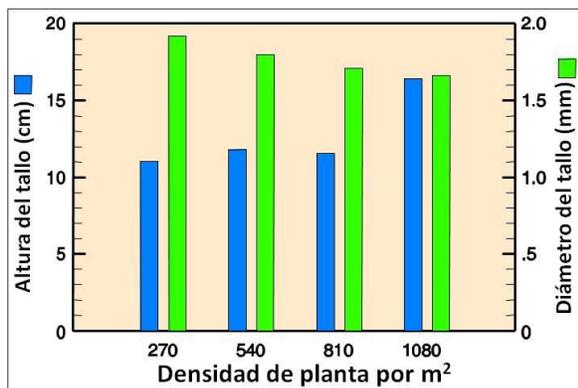


Figura 7.2.2 Cuando las plantas crecen en el mismo volumen de contenedor pero en diferente densidad, la altura del tallo se incrementa cuando el espaciamiento se cierra, mientras que el diámetro del tallo disminuye (modificado de Timmis y Tanaka, 1976).

Diámetro del tallo (“calibre”). El diámetro del tallo se mide comúnmente utilizando un pequeño vernier, en el cuello de la raíz, donde el tallo se une al sistema radical. El diámetro del cuello de la raíz, o diámetro del tallo, se reporta siempre en milímetros (mm). Una gran cantidad de estudios muestran que el diámetro del tallo es el mejor predictor del desempeño de la plantación y por lo tanto, de la calidad de la planta. En plantas de *Picea engelmannii* producidas en contenedor, que fueron establecidas en sitios elevados de Utah con diferentes diámetros de tallo, la supervivencia después de dos estaciones de crecimiento estuvo fuertemente correlacionada con el diámetro inicial del tallo (Figura 7.2.3B). Esta

información fue usada para desarrollar estándares de calidad; en este caso, las plantas con diámetros de tallo \geq a 2.5 mm fueron entregables, no así aquellas con un diámetro menor (Hines y Long, 1986). Por supuesto, esta relación varía con las condiciones del sitio de plantación, por lo cual, los estándares de calidad deberán ser desarrollados para cada especie y para diferentes condiciones de plantación.

Altura del tallo. La altura es la distancia desde el cuello de la raíz a la punta de la yema terminal. Comúnmente se reporta en milímetros o centímetros, aunque en los Estados Unidos es común que se reporte en pulgadas (in). Esto genera una situación peculiar, donde las plantas se caracterizan utilizando ambos sistemas de medición (inglés y métrico); por ejemplo, una planta con un tallo de 12 in de altura con 5 mm de diámetro del tallo. La altura está correlacionada con el número de acículas (agujas) en el tallo y es, por lo tanto, un buen estimador de la capacidad fotosintética y área de transpiración.

Cepellones “enredados”. Es un hecho que por décadas, un excesivo crecimiento de la raíz ha sido considerado como un aspecto de calidad, sin embargo, hasta el momento no se ha desarrollado un índice morfológico o sistema de clasificación. La producción que presenta cepellones “enredados” puede ser definida

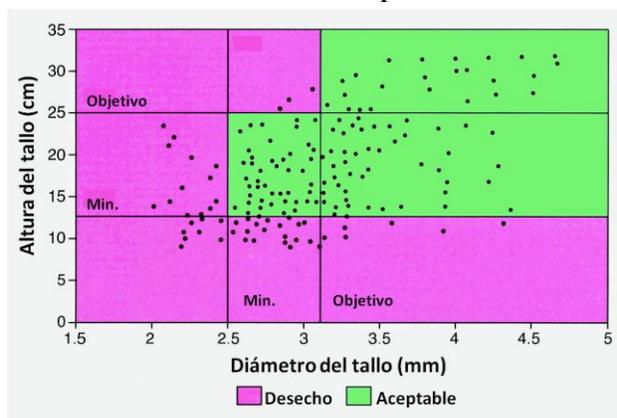
como las plantas que han crecido en exceso para el tamaño de su contenedor, lo que provoca un sistema radical enredado (Figura 7.2.4A). Desde el punto de vista de calidad, esta condición reduce la supervivencia o crecimiento de la planta una vez establecida en campo (South y Mitchell, 2006). Varios estudios han relacionado lo enredado de las raíces del cepellón, con el periodo de tiempo que la planta ha permanecido en el contenedor. Por lo general a mayor tamaño del contenedor, mayor será el tiempo en el que pueda presentarse un problema de raíz “enredada”. Sin embargo, el tiempo por sí sólo realmente no es útil, dado que el crecimiento de la raíz también se ve afectado por las prácticas culturales en el vivero. Las especies con rápido crecimiento en un vivero llegan a presentar anudamiento de su raíz más rápidamente que estas mismas especies creciendo más lentamente en otro vivero. De manera similar, especies producidas en contenedores grandes, a las cuales se les han suministrado cantidades importantes de fertilizantes, pueden llegar a formar cepellones con raíces enredadas tan rápido, como aquellas especies producidas en contenedores más pequeños y con una menor cantidad de fertilizantes.

Cuando se han producido plantas en el mismo volumen de contenedor, la supervivencia en la

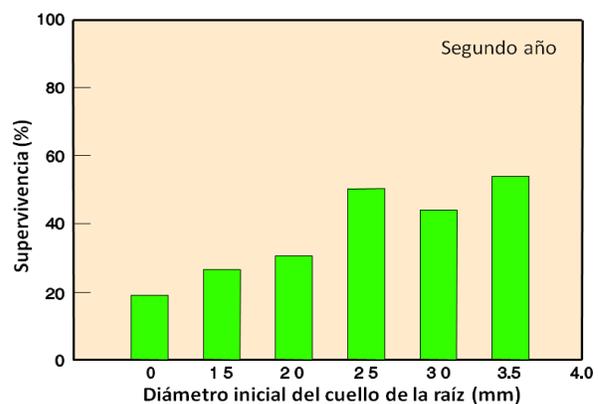
plantación ha mostrado una reducción después de que fue excedido el diámetro óptimo del cuello de la raíz (Figura 7.2.4B). South y Michel (2006) propusieron un “índice de anudamiento de la raíz”, basado en el diámetro del cuello de la raíz, dividido por el diámetro del contenedor o por el volumen, el cual puede ser calculado para cada tipo de contenedor. Sin embargo, desde un punto de vista operativo, el establecimiento de un diámetro máximo del tallo, junto con una evaluación visual del enrollamiento de la raíz, puede ser el sistema más práctico de desecho de las plantas.

Otros índices morfológicos. Diversos criterios morfológicos adicionales, tales como la biomasa, relación tallo-raíz, robustez y apariencia, han sido utilizados para describir una planta de calidad.

La biomasa puede ser determinada usando los métodos del volumen o del peso seco. Tallos y raíces son comúnmente pesados de forma separada. El peso seco de estas plantas se determina limpiando sus tallos y raíces, secándolos en un horno y finalmente procediendo a su pesaje. El volumen es determinado mediante el desplazamiento de agua (Burdet, 1979; Harrington *et al.*, 1994).



A

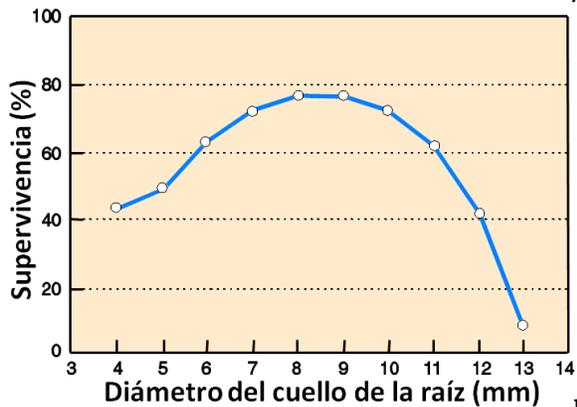


B

Figura 7.2.3 La altura del tallo y diámetro del cuello de la raíz son los criterios de clasificación más comunes en los viveros que producen en contenedor (A), aunque el diámetro del tallo ha demostrado ser el mejor indicador morfológico de calidad de planta. Cuando una producción en contenedor de la especie *Picea engelmannii* fue establecida en campo, aquellas plantas con diámetros mayores a 2.5 mm, tuvieron un desempeño superior que aquellas de menor diámetro, después del segundo año (B, modificado de Hines y Long, 1986).



A



B

Figura 7.2.4. Plantas producidas en contenedor que han crecido demasiado alto en la misma cavidad, llegan a generar raíces “enredadas” lo cual reduce fuertemente su calidad (A). Para ciertas especies y tamaño de contenedor existe un diámetro del tallo óptimo que puede ser utilizado para la clasificación de plantas con raíces “enredadas”; esta gráfica fue desarrollada para *Pinus palustris* (B) (B, modificada de South y Mitchell, 2006).

Relación tallo-raíz (T/R): es la relación del peso seco o volumen del tallo con el peso seco o

volumen del sistema radical, y proporciona un indicador del “balance” de la planta. Cuando la relación T/R es “1”, el tamaño de la masa radical es igual al tamaño de la masa del tallo. Sin embargo, comúnmente la relación es mayor a 1, dado que el tamaño del tallo con frecuencia supera al sistema radical. Un índice de relación T/R menor a 2.5 es el valor comúnmente considerado como el más deseable. El índice de robustez se calcula dividiendo la altura del tallo (cm) entre el diámetro (mm). Este intenta generar la idea de la “robustez” (valor bajo), en contraste con la “esbeltez” (valor alto). Este índice ha encontrado un uso particular en la producción en contenedores, la cual puede llegar a tener crecimientos altos y delgados cuando se crece a altas densidades y/o bajo condiciones de escasa luminosidad. El color, forma y daño deben también considerarse cuando se evalúa la calidad morfológica. El color del follaje es un indicador genérico de la calidad de la planta, y puede variar por especies y época del año. Un follaje amarillento, café o verde pálido indica un bajo vigor y/o contenido de clorofila, que aquel follaje con un color verde oscuro. El follaje de algunas especies se torna morado durante la dormancia del invierno, pero esto no es considerado un diagnóstico (Ver sección 7.2.5.1). Cuando se evalúa la calidad morfológica, la existencia de múltiples tallos o su doblez, deformación de la raíz y dureza de raíces secundarias, daño físico o cualquier otra característica evidente que pueda afectar el desempeño de la planta, son también factores importantes de observar. Un estudio único pero muy completo sobre la producción en contenedor de *Pinus pinea*, midió diferentes características morfológicas. El mejor indicador individual de la calidad de la planta fue la **relación de la profundidad del contenedor con el diámetro del tallo**, arrojando una planta objetivo con un valor de 4 (Domínguez-Lerena *et al.*, 2006).

7.2.3.3 Efecto del tamaño del contenedor en el desempeño de la plantación.

El principal objetivo de medir los rasgos morfológicos de las plantas es el de predecir su desempeño una vez establecidas en campo, específicamente su supervivencia y crecimiento.

En este sentido, ¿Qué rasgos o conjunto de rasgos tienen el mayor efecto positivo en el desempeño de la planta? La sabiduría convencional es que lo mayor es mejor que lo menor. Cuando todos los demás factores son iguales, las plantas de mayor tamaño con un diámetro del tallo proporcional al sistema radical, normalmente presentan una alta supervivencia y mayor desarrollo que plantas pequeñas, o plantas con un sistema radical pobre. En términos generales, la supervivencia de la planta está mayormente relacionada con el diámetro del tallo, mientras que el crecimiento del tallo después de la plantación depende más de la altura inicial de la planta (Arnott y Beddows, 1982).

Como se discutió en el Capítulo 7.1, la supervivencia y el crecimiento también dependen fuertemente de las condiciones ambientales en el sitio de plantación. Después de revisar la literatura sobre el tamaño del contenedor y su desempeño, Grossnickle (2005) concluyó que una planta “grande” tuvo un mejor desempeño que las plantas “pequeñas” en sitios húmedos donde la competencia vegetativa fue severa. Contrariamente, las plantas pequeñas resultaron mejores en sitios propensos al estrés hídrico. En sitios con una fuerte competencia vegetativa, la capacidad de la planta para alcanzar y transformar la luz solar, determinan fuertemente su supervivencia y crecimiento. Por lo tanto, plantas más altas y ramificadas con una gran superficie fotosintética, tienen una ventaja sobre las plantas pequeñas que tienden a ser sombreadas por la competencia de la vegetación. Por ejemplo, plantas grandes de *Picea glauca* establecidas en los bosques boreales de la Columbia Británica, resultaron mejor preparadas para la competencia, que las

plantas pequeñas (McMinn, 1982). De forma similar, las plantas de *Pseudotsuga menziesii*, *Tsuga heterophylla* y *Picea sitchensis* producidas en contenedores grandes, mostraron un mayor crecimiento en altura después de su plantación en sitios costeros de la Columbia Británica, en comparación con las plantas producidas en contenedores pequeños (Arnott y Beddows, 1982). En un estudio en Quebec, plantas grandes de *Picea* crecieron mejor que aquellas más pequeñas, en sitios que presentan un aporte equilibrado de humedad y con una fuerte competencia vegetal (Figura 7.2.5). Plantas grandes con tallos gruesos tienen un mejor desempeño en sitios que presentan pastoreo y fuertes nevadas, tal como se muestra en las plantas *Picea engelmannii* (Hines y Long, 1986).

Lo anterior es contrastante en sitios de plantación donde las condiciones cálidas y secas provocan una alta demanda evapotranspiracional. Aquí la ventaja es con plantas que tienen una superficie transpiracional relativamente pequeña en relación con un sistema de absorción radical grande. Bajo estas condiciones, las plantas producidas en vivero con un tallo grande y un sistema radical pequeño (relación T/R alta) presentan una desventaja, dado que transpiran más rápido que de lo que pueden absorber agua desde el suelo. Para estos sitios con alto estrés, se recomienda el uso de contenedores de mayor volumen, con una baja densidad de producción (mayor espaciado entre cavidades) lo cual producirá plantas con tallos pequeños y diámetros gruesos del tallo (Grossnickle, 2005).

Planta cultivada en minicontenedores y denominada como trasplantes, es un sistema que se utiliza para la producción de grandes cantidades de planta, en un tiempo muy corto (Landis, 2007). Los productores siembran en los mini-contenedores [una cavidad de producción aproximada de 16 cm³ (1 in³)] dentro del invernadero durante mediados del invierno, para que dicha planta en pocos meses pueda ser trasplantada a contenedores de mayor volumen y espaciado, para a su vez,

éstos sean movidos a áreas de crecimiento a cielo abierto, o a camas de crecimiento del sistema a raíz desnuda. Este esquema de trasplante denominado como “cepellón + cepellón” ha probado ser el sistema de producción más popular para los sitios de plantación cálidos y secos (Figura 7.2.6).

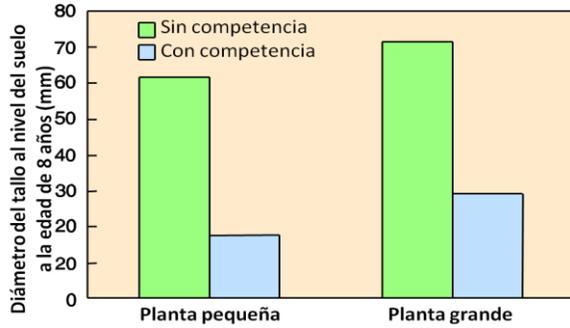
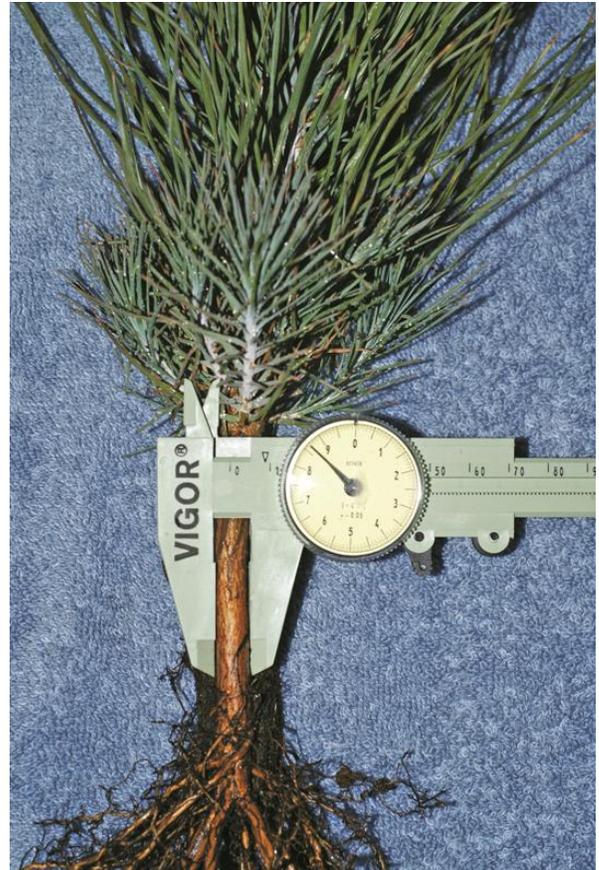


Figura 7.2.5 Plantas grandes de *Picea mariana* y *P. glauca* producidas en contenedor, superaron a las plantas pequeñas cuando fueron medidas 8 años después de su plantación, en el sureste de Quebec (Modificado de Thiffault, 2004).



A



B

Figura 7.2.6 Para sitios cálidos y secos, las plantas de *Pinus jeffreyi* “Cepellón + 1” tienen una morfología ideal – plantas pequeñas (A) con un diámetro de tallo grande y una raíz fibrosa (B).

Aunque existe poca investigación sobre especies latifoliadas (madera dura), una revisión realizada por Wilson y Jacobs (2006) observaron que, cómo con las coníferas, la altura y el diámetro del tallo son los criterios de clasificación más comúnmente utilizados para las latifoliadas, siendo el diámetro del tallo el que ha proporcionado las proyecciones más consistentes del desempeño de la planta en el campo.

7.2.3.4 Atributos morfológicos: resumen

La altura del tallo y el diámetro del cuello de la raíz (también denominado diámetro del tallo), son los rasgos morfológicos más frecuentemente medidos y los criterios de clasificación más comunes. Los atributos morfológicos son fácilmente evaluados y no se

modificarán de manera significativa durante la etapa de cosecha, hasta el proceso de plantación. Casi todos los rasgos morfológicos son un reflejo del volumen del contenedor y/o la densidad de crecimiento; contenedores con volúmenes grandes y densidades bajas de crecimiento, promueven el desarrollo de plantas de tallas grandes.

Efectos de la morfología en el desempeño de la producción en contenedor, es similar a aquella realizada a raíz desnuda:

- El diámetro inicial del tallo tiende a estar correlacionado con la supervivencia.
- La altura inicial tiende a estar correlacionada con el crecimiento del tallo.
- Los rasgos morfológicos pueden interactuar. Por ejemplo, el diámetro del tallo puede influir en la supervivencia de la planta que tiene un sistema radical pobre, aunque no en aquellas con un buen sistema radical.
- Planta de mayor tamaño generalmente crece mejor que la de menor tamaño, aunque esto también depende de las condiciones del sitio de plantación.
- Planta grande con un tallo grueso y rígido, y con una superficie fotosintética grande, es mejor para sitios que presentan competencia vegetal, pastoreo o fuertes nevadas.
- Planta pequeña con tallos gruesos y rígidos, y un sistema radical extenso, es mejor para sitios secos.

Como fue discutido con anterioridad los rasgos fisiológicos de la planta producida en vivero, difiere significativamente de las características morfológicas, que por lo general son invisibles y cambian constantemente, y en algunos casos de forma dramática durante el periodo de la cosecha hasta su plantación, y además deben ser medidas con equipo de laboratorio.

La mayoría de las pruebas de calidad basadas en la fisiología miden sólo la funcionalidad de la planta, tal como la tolerancia al frío, el nivel hídrico, o la eficiencia fotosintética. Esto es útil para imaginar una calidad de planta en capas:

las características morfológicas son la capa base, mientras que los rasgos fisiológicos son la segunda capa. Un lote de plantas puede tener una altura y diámetro del tallo ideales, pero los rasgos morfológicos por si solos son insuficientes para garantizar una alta calidad. Las pruebas fisiológicas son requeridas para proporcionar una panorámica más completa.

En la siguiente sección se discutirán cuatro pruebas de calidad fisiológica: estrés hídrico de la planta, resistencia al frío, pérdida de electrolitos de la raíz y fluorescencia de la clorofila.

7.2.4 Atributos fisiológicos

7.2.4.1 Estrés hídrico de la planta (EHP)

El estrés hídrico de la planta o EHP es una de las pruebas más viejas y más comúnmente utilizadas para medir la calidad. Su popularidad descansa en su simplicidad y robustez, y el hecho de que el equipo para medir el EHP es relativamente barato, intuitivo y portable. Aunque las mediciones del EHP son fáciles de realizar, su interpretación puede ser más difícil.

¿Qué es el EHP? Sin un suministro estable de agua de buena calidad, las plantas cesarán su crecimiento y eventualmente morirán. La cantidad de agua requerida para cumplir con los requerimientos metabólicos básicos de la planta, es muy baja. Durante la fotosíntesis, el dióxido de carbono atmosférico (CO₂) se difunde en las hojas a través de los estomas y, una vez dentro de la hoja, este CO₂ es transformado en azúcares. La fotosíntesis es, sin embargo, un proceso “con fugas”, ya que mientras el CO₂ es absorbido por las hojas, el agua es liberada al exterior – esta pérdida de agua es llamada transpiración. Las plantas pueden reducir la transpiración mediante el cierre de los estomas, pero esto impide la fotosíntesis. Por ello, las plantas para poder crecer deberán transpirar grandes cantidades de agua.

La transpiración genera una tensión (o estrés), la cual debido a la alta cohesión hídrica, es transmitida a través del tejido vascular desde el envés de la hoja, a través del tallo y de aquí hasta las raíces. Durante el día, cuando los estomas están abiertos, la transpiración comúnmente supera a la capacidad de la planta para extraer agua desde el suelo. Por lo tanto, durante el día las plantas siempre presentan algún grado de estrés hídrico. Este estrés es perfectamente normal y no es dañino, a menos que alcance altos niveles por un periodo prolongado de tiempo.

En términos muy simples el EHP puede ser modelado como:

$$\text{EHP} = \text{A} - \text{T} + \text{S}$$

Donde

A: absorción del agua del suelo.

T: pérdida transpiracional.

S: almacenamiento de agua en el tallo y raíces, la cual es despreciable en las plántulas pero muy importantes en árboles de gran tamaño. Durante el día, T casi siempre supera a A.

Potencial hídrico. La forma más precisa de modelar el estado hídrico de las plantas es la aproximación termodinámica, la cual se basa en el potencial hídrico y que es representada por la letra griega psi (ψ). El potencial hídrico total (ψ_w) es una medida de la energía libre o potencial química del agua. En las plantas, ψ_w es la suma de dos componentes potenciales: el potencial de presión (ψ_p), la cual puede ser tanto positiva como negativa, y el potencial osmótico (ψ_o), el cual es siempre negativo:

$$\psi_w = \psi_p + \psi_o$$

Los potenciales son expresados en unidades de presión y aunque los Mega Pascales (MPa) son la unidad oficial en el sistema internacional (SI), los bares son más comúnmente utilizados por el personal de viveros y reforestación. Por definición, el ψ_w del agua pura a una temperatura y presión estándar es de 0 bares, o de 0 MPa. $\psi_p + \psi_o$ cambian constantemente, como la transpiración y la ósmosis debido al movimiento del agua a través de las membranas, al interior o exterior de las células y debido al flujo transpiracional.

Los componentes del potencial hídrico tienen diferentes propiedades, dependiendo de la ubicación del agua al interior de los tejidos de la planta. El agua es contenida dentro de las membranas de las células como parte del simplasto, y fuera de las membranas celulares, como parte del apoplasto. En el apoplasto, el

agua está casi siempre bajo tensión hidrostática debido a la atracción transpiracional, por lo cual el potencial de presión (ψ_P) es siempre negativo (Cuadro 7.2.2). Sin embargo, en el simplasto ψ_P es normalmente positivo debido a la presión de la turgencia que ejercen las células de las membranas y paredes en los contenidos de la célula. La excepción puede ser una célula que ha perdido toda su turgencia (marchitadas), en cuyo caso $\psi_P = 0$. Esto es comúnmente llamado el “punto de turgencia cero”, el cual será discutido posteriormente. El componente osmótico (ψ_O) es normalmente cercano a cero en el apoplasto, mientras que en el simplasto ψ_O es siempre negativo debido a los efectos de los solutos disueltos (iones) en las células (Cuadro 7.2.2). Estos componentes potenciales cambian continuamente conforme se mueve el agua a través de las membranas celulares, debido a la osmosis o a la salida de la planta debido a la transpiración. Ya que ψ_w es la suma de estos dos componentes, casi siempre será negativo y la planta casi siempre estará con un bajo nivel de déficit de agua o estrés.

La interacción de estos componentes potenciales en el simplasto puede ser visualizada mediante un diagrama de Höfler (Figura 7.2.7). En el eje de las X se representa el contenido hídrico de las células expresado como un porcentaje de una turgencia plena. El eje de las Y proporciona los componentes potenciales. En una hidratación total (A en la Figura 7.2.7), las plantas son turgentes y la presión de turgencia positiva de las paredes celulares (ψ_P) equilibra el potencial osmótico

negativo (ψ_O) de los contenidos de la célula. En este punto, $\psi_w = 0$ MPa. A medida que las células pierden agua, ψ_P cae y la concentración de solutos en las células se incrementa.

Lo anterior provoca que ψ_O disminuya por lo cual ψ_w también caerá. Cuando ψ_P alcanza 0 MPa (B en la Figura 7.2.7) las células se colapsan y la planta se marchita. El valor de ψ_w en el cual esto ocurre es conocido como “el punto de turgencia cero” o, como es más comúnmente conocido, el “punto de marchitamiento permanente” (C en la Figura 7.2.7).

Unidades del potencial hídrico. La terminología del potencial hídrico termodinámico (Slatyer, 1967) algunas veces ha generado algún tipo de complicaciones a los productores, ya que los valores negativos son difíciles de visualizar y complicados de manipular algebraicamente. Por esta razón el potencial hídrico es comúnmente expresado como un valor positivo y es llamado “Estrés Hídrico de la Planta” (EHP). Estos valores pueden ser fácilmente convertidos dado que -1.0 MPa es igual a 10 bares. Esta relación y algunos ejemplos se muestran en el Cuadro 7.2.3. Por ejemplo, un valor de EHP de 10 bares indica un nivel “moderado” de estrés y es equivalente a ψ_w de -1.0 MPa. Sin embargo, desde un punto de vista teórico, la terminología termodinámica es útil debido a que es consistente a través del continuo suelo-planta-atmósfera (Figura 7.2.8).

Cuadro. 7.2.2 Propiedades de los componentes potenciales del agua, en el simplasto y apoplasto.

Componente potencial	Apoplasto (exterior de las células)	Simplasto (interior de las células)
Potencial de presión (ψ_P)	Siempre negativo	Generalmente positivo, cero en marchitez
Potencial osmótico (ψ_O)	En términos generales negativo	ligeramente Siempre negativo
Potencial hídrico (ψ_w)	Siempre negativo	Variable

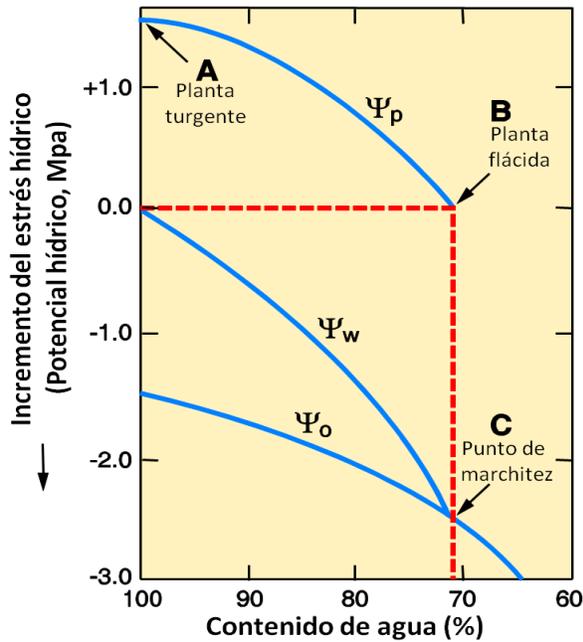


Figura 7.2.7 Las interrelaciones entre el potencial hídrico de la planta (ψ_w) y sus componentes, el potencial osmótico (ψ_o) y el potencial de presión (ψ_p) se modifican en el rango del contenido de agua de las plantas, desde una planta turgente (A) hasta el punto de marchitamiento permanente – PMP (C). (modificado de Ritchie, 1984b).

Patrones diurnos del potencial hídrico de la planta. Como se ha venido mencionando, el ψ_w es dinámico y esto afecta su utilidad como un indicador de la calidad de la planta. Considere, por ejemplo una planta producida en contenedor cuyo sustrato se encuentra a capacidad de campo. Con la luz del día, los estomas se abren y el bajo contenido de humedad (alto déficit de presión de vapor) extrae el agua de las hojas. Esto crea un desbalance entre la transpiración y la absorción de agua, dando como resultado que a la mitad del día se presente un EHP (el ψ_w decrece). Durante la noche, los estomas tienden a cerrarse, la humedad relativa se incrementa a valores cercanos al 100% y la transpiración cesa. El ψ_w negativo en la planta “jala” el agua desde el suelo o sustrato, corrigiendo de este modo el estrés. A la mañana siguiente, antes de amanecer, el ψ_w alcanza un equilibrio dinámico con el potencial hídrico del suelo ($\psi_w = \psi_{\text{suelo}}$).

Si no se riega el contenedor, el sustrato se secará y el estrés antes del amanecer y del medio día se incrementará diariamente, como respuesta a un decremento del ψ_{suelo} . Después de varios días, la planta cerrará sus estomas durante el medio día a fin de retardar la transpiración. Lo anterior puede observarse durante los días 4 y 5 en la Figura 7.2.9, lo que dará como resultado un EHP moderado del medio día. Eventualmente, el ψ_{suelo} tenderá a ser muy negativo de forma tal que la planta sea incapaz de mantener el equilibrio durante la noche. A lo largo de este tiempo, el estrés del medio día continuará incrementándose. Cuando se irriga el cultivo, el sistema retornará al estado inicial definido como Día 1, a menos que la planta haya sufrido daños irreversibles, derivado de un alto nivel del EHP.

Cuadro 7.2.3 Comparación de las unidades y términos utilizados en el potencial hídrico de la planta (PHP) y el estrés hídrico de la planta (EHP) (modificado de Landis *et al.*, 1989).

Potencial Hídrico de la Planta (Mpa)	Estrés Hídrico de la Planta (bares)	Clasificación relativa del Estrés Hídrico	Condición de la humedad relativa
0.0	0.0	Muy bajo	Húmedo
-0.5	5.0	Bajo	
-1.0	10.0	Moderado	
-1.5	15.0	Alto	
-2.0	20.0	Alto	
-2.5	25.0	Muy alto	

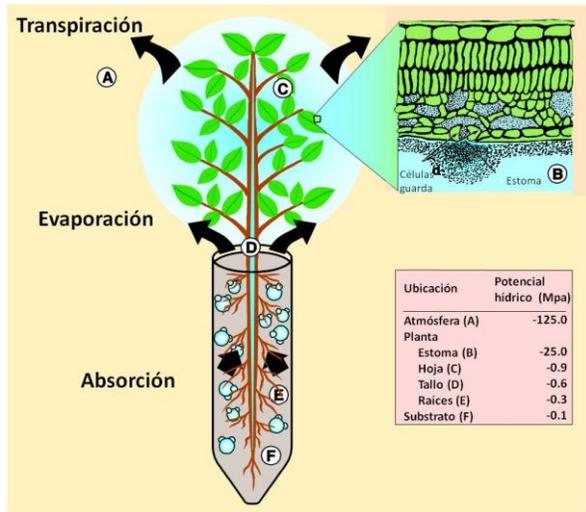


Figura 7.2.8 El agua es succionada a lo largo de un gradiente de potencial hídrico que es conducido por la evapotranspiración, desde niveles altos (menos negativos) en el sustrato, a través de la planta, hasta niveles bajos (más negativos) en el aire circundante (modificado de McDonald y Running, 1979).

Hay que tener en cuenta que para realizar un seguimiento de los niveles de estrés hídrico, tanto en la planta como en el sustrato, como se muestra en la Figura 7.2.9, existe una ventaja de utilizar unidades de potencial hídrico antes que el EHP, el cual sólo refleja el estrés.

Medición del potencial hídrico de la planta.

A lo largo de los años, a medida que los fisiólogos vegetales han venido trabajando en el entendimiento de la relación dinámica del agua en las plantas, se han realizado muchos intentos para desarrollar métodos de medición del ψ_w (Lopushinsky, 1990). El desarrollo más significativo desde que los viveros han venido operando, es la invención de la “Cámara de Presión Scholander” (Scholander *et al.*, 1965), la cual está basada en una antigua cámara de presión de vidrio, ideada por Dixon (1914). Wareing y Cleary (1967) modificaron la cámara para árboles y plantas y bosquejaron procedimientos básicos de medición.

La cámara de presión moderna consta de un recipiente metálico conectado a una fuente de gas de nitrógeno, a través de un regulador de presión. Para medir el estrés hídrico de la

planta, se corta el tallo y se inserta a través de una goma o junta de compresión. Un nuevo modelo de una cámara de presión de la *PMS Instrument Company* viene equipada con una “goma” en lugar de una tapa, lo cual mejora grandemente la velocidad y precisión de las mediciones. Posteriormente éste es sellado en un hoyo con la tapa de la cámara con el follaje dentro de la cámara y con el tallo sobresaliendo (Figura 7.2.10). El gas nitrógeno es lentamente liberado dentro de la cámara, mientras que el corte del tallo es observado muy de cerca. Cuando aparece una pequeña gota de agua al final del tallo, la presión de la cámara debe registrarse. La presión requerida de gas para forzar el agua a la superficie es igual al estrés hídrico de la planta. Para mayor detalle de la descripción teórica y de la guía del procedimiento, consultar a Ritchie y Hinckley (1975).

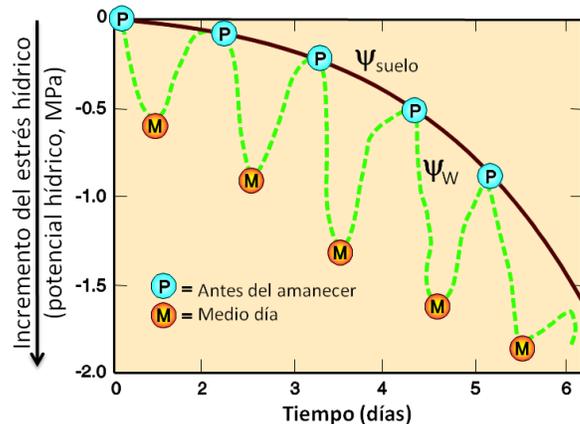


Figura 7.2.9 Para una planta creciendo en un contenedor que no es irrigado, el potencial hídrico de la planta (ψ_w) eventualmente decrece a medida de que el sustrato (ψ_{suelo}) se seca (modificado de Slatyer, 1967).

La cámara de presión es una técnica estandarizada que ha sido utilizada para medir el EHP en los viveros forestales, en los sitios de plantación y en los laboratorios donde se realiza investigación con plantas. Por ejemplo, el vivero J.H. Stone del Servicio Forestal del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, en Central Point, Óregon, utiliza las cámaras de presión para medir el EHP para elaborar la programación del riego en el sistema a raíz desnuda, así como para detectar

niveles peligrosos del EHP durante las actividades de extracción y empaqueo de la planta (JH Stone Nursery, 1996).

Las cámaras de presión (conocidas también como bombas de presión) y los suministros están disponibles en:

PMS Instrument Company
1725 Geary Street SE
Albany, OR 97322 USA
Teléfono: 541-7042299
Fax: 541-7042388
Correo-E: info@pmsinstrument.com
Sitio web: www.pmsinstrument.com

o

Soil Moisture Equipment Corporation
Santa Barbara, CA.
Tel.: 805-964-3512 ext. 248
Correo-E: alle@soilmoisture.com
Sitio Web: <http://www.soilmoisture.com/>

Interpretación de los valores del EHP. Las mediciones del EHP han sido utilizadas de manera extensa en la fisiología de las plantas e investigaciones ecológicas dado que son confiables, fáciles de obtener, y su relación con la fisiología de la planta es fácil de demostrar. Por ejemplo, cuando una planta de *Picea glauca* producida en contenedor fue sometida a un estrés hídrico extenso, los estomas se cerraron y la fotosíntesis se detuvo de manera abrupta a los -2 MPa (20 bares) (Figura 7.2.11). A menos que el estrés sea evitado, el crecimiento de la planta se limitará, e incluso puede morir.

Desafortunadamente la relación entre las lecturas del EHP y la calidad de planta, no siempre resulta sencillo como se quisiera. Esto es debido en parte porque el EHP, como una estimación del ψ_w que considera diversas variables en una lectura, y por lo tanto, se pierde mucha información. Además, dado que los componentes del potencial hídrico cambian de manera estacional, un valor de EHP dado puede tener una interpretación diferente si se toma en primavera en lugar del invierno. Por ejemplo, en la Figura 7.2.12 se muestra como el “punto de turgencia cero” se modifica

estacionalmente en las raíces y tallos de las plantas de *Pseudotsuga menziessii* (Ritchie y Shula, 1984). Observando los mismos valores del tallo, una lectura del EHP de -2.5 MPa (25 bares) puede ser un valor potencialmente letal si se toma en abril, porque es un valor cercano al punto de turgencia cero. Pero el mismo valor si es medido en enero, puede ser de poca preocupación. Por otra parte, un sistema radical con un EHP cercano a -2 MPa (20 bares) será sospechoso durante la mayor parte del año.

Tal como se ilustra en la Figura 7.2.9, el EHP puede variar bruscamente durante el día, y de día a día. Los valores del EHP durante el día, pueden fluctuar ampliamente en días con viento e intermitente radiación solar, proporcionando breves valores “instantáneos” del EHP, lo cuales tiene poco valor como un diagnóstico. Probablemente, el valor más útil del EHP es aquel conocido como el “EHP antes del amanecer”. Este es el EHP que se presenta justo antes de la salida del sol, cuando el ψ_w está en equilibrio dinámico con el ψ_{suelo} (Figura 7.2.9), y proporciona una estimación del estrés mínimo que la planta puede experimentar ese día. Si este valor mínimo es alto, este puede ser motivo de preocupación. Con estas advertencias en mente, se sugieren algunas guías para la interpretación de las mediciones del EHP antes del amanecer, y cómo éstas se relacionan con el crecimiento de la planta y sus implicaciones culturales (Cuadro 7.2.4).

¿Es el EHP un indicador de calidad de la planta? Como fue señalado por Lopushinsky (1990), los indicadores de calidad de planta más comúnmente usados (potencial de crecimiento radical, resistencia al daño por frío, resistencia al estrés, e intensidad de la dormancia) no están correlacionadas con el EHP. Por lo tanto, el EHP no debe ser usado como un indicador representativo de cualquiera de ellos. Entonces, ¿puede el EHP por sí solo ser útil como un indicador de calidad?

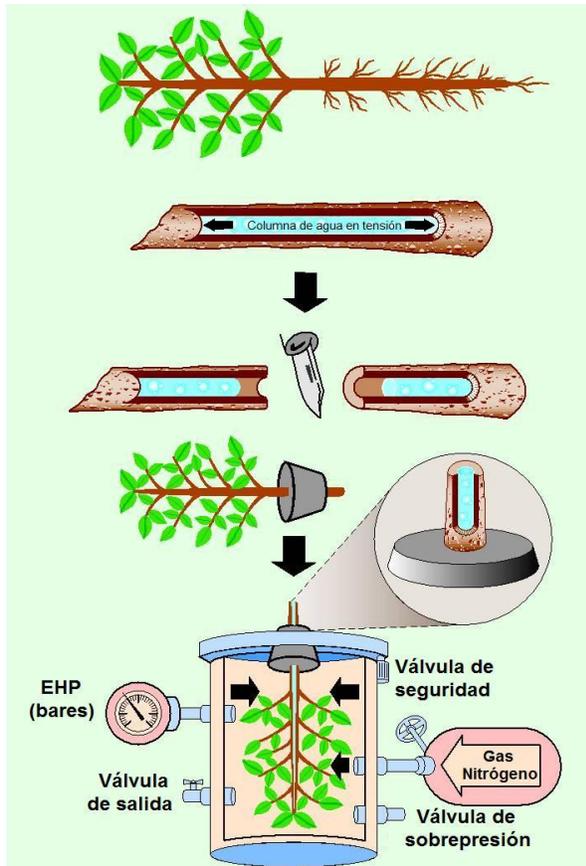


Figura 7.2.10 Cómo medir el estrés hídrico de la planta (EHP) con una cámara de presión. El tallo de la planta es cortado y una de las puntas se introduce a través de un hoyo en el centro de un tapón de hule, el cual es posteriormente insertado en la tapa de la cámara. El gas nitrógeno es introducido lentamente dentro de la cámara hasta que una gota de agua es forzada hacia la superficie del tallo cortado. La medición de presión a la cual esto se presenta es igual y opuesta a la fuerza que retiene el agua en el tallo, y es conocido como el EHP.

Cuadro 7.2.4 Respuesta del crecimiento e implicaciones culturales de inducir el estrés hídrico en plantas de coníferas en los viveros del noroeste de los Estados Unidos (modificado de Landis *et al.*, 1989)

Valor del EHP antes del amanecer (bares)	Nivel del estrés hídrico	Respuesta de la planta e implicaciones culturales
0 a 5	Ligero	Rápido crecimiento
5 a 10	Moderado	Reducción del crecimiento La mejor para lignificación
10 a 15	Alto	Crecimiento restringido. La lignificación puede ser variable.
15 a 25	Severo	Daño potencial
> 25	Extremo	Daño o muerte

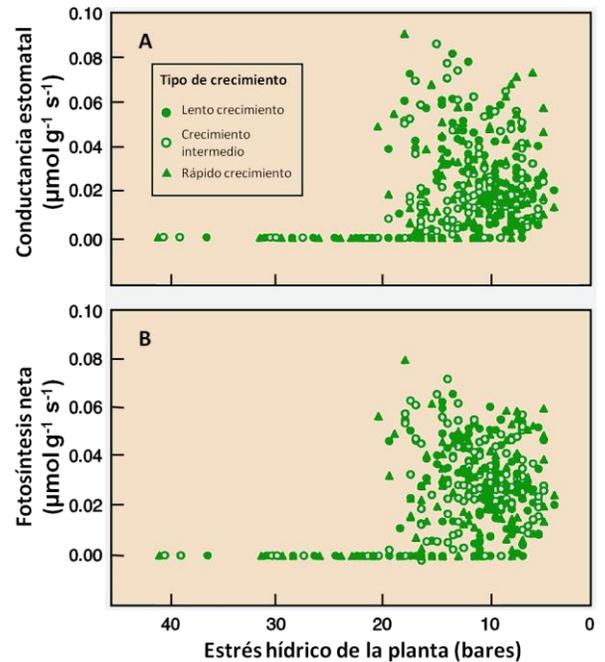


Figura 7.2.11 El estrés hídrico de la planta puede proporcionar una visión instantánea del estado hídrico de la producción en el vivero. Cuando se colocaron diferentes procedencias de plantas de *Picea glauca* bajo un incremento del estrés hídrico, se presentó el cierre de estomas (A) y todo el proceso fotosintético se detuvo cuando se alcanzaron los -2 MPa (B) (Modificado de Bigras, 2005).

En nuestra opinión, el EHP refleja la calidad sólo cuando el estrés es moderadamente alto, y mantenido durante varios días. Por ejemplo, la producción de un vivero con valores de EHP antes del amanecer en un rango de -1.5 a -2.5 MPa (15 a 25 bares) está bajo un severo estrés (Cuadro 7.2.4), especialmente si estas lecturas persisten después del riego. Se puede resaltar además que las plantas muertas exhiben valores muy bajos de EHP dado que las raíces muertas mantienen la capacidad de absorber agua. Así, valores bajos de EHP no necesariamente son indicativos de una producción sana.

El EHP es también usado de manera operacional para dar seguimiento de las condiciones de la planta durante el proceso de cosecha - plantación. Por ejemplo, la producción que tuvo un valor del potencial hídrico de la planta (EHP) o, digamos, de -1.0 MPa (10 bares), que sale del almacenamiento

refrigerado, puede ciertamente ser motivo de preocupación. De la misma forma, la producción en un vivero debe tener bajos valores de EHP previo a la plantación, ya que valores altos indican un sobrecalentamiento o exposición de la planta al sol o al viento.

También se deberá considerar que todas las investigaciones se han realizado con coníferas. La utilización de EHP para predecir el desempeño de caducifolias de madera dura, también muestran ser una promesa, aunque Wilson y Jacobs (2006) determinaron que se requiere de mucho trabajo para determinar los valores críticos del EHP para dichas especies.

El EHP como una panorámica del estado hídrico de la planta. El hecho de que el EHP no siempre es un buen valor de predicción de la calidad de la planta, no debe interpretarse como que su monitoreo sea una pérdida de tiempo. Las cámaras de presión deben ser utilizadas para verificar el estado hídrico de las plantas, en diferentes momentos durante la producción en el vivero. El uso de las lecturas del EHP antes del amanecer para afinar las prácticas de riego en el vivero, es una buena idea, dado que las mediciones de presión de la cámara son una forma fácil de saber realmente, el estado hídrico de las plantas en un tiempo determinado.

La medición del EHP durante la cosecha puede alertar a los viveristas de condiciones peligrosas de sequedad o excesiva exposición de la planta (MacDonald y Running, 1979). El EHP puede también ser utilizado para verificar las condiciones de humedad de la planta, previo a su salida a campo. Por ejemplo, se encontró una fuerte relación entre las lecturas tomadas del EHP, previo a la salida de las plantas de *Pinus radiata* al campo, y el potencial de crecimiento de la raíz (PCR)(Mena-Petite *et al.*, 2001)(Figura 7.2.13).

Estrés hídrico de la planta: resumen. Las plantas normalmente pierden agua más rápidamente a través de la transpiración, que la que pueden absorber desde el suelo, por lo cual casi siempre se encuentran en algún nivel de

estrés hídrico, comúnmente conocido como Estrés Hídrico de la Planta (EHP). El EHP está linealmente correlacionado con el Potencial Hídrico de la Planta (ψ_w), aunque difiera de éste en la forma en cómo se presenta. El EHP muestra fuertes variaciones diurnas a medida que se ajustan las tasas de transpiración, como respuesta a los cambios de temperatura, déficit de presión de vapor y apertura estomatal. El valor más útil del EHP es aquel que se presenta justo en la madrugada (EHP antes del amanecer), cuando el ψ_w está en un equilibrio muy cercano con el ψ_{suelo} . La cámara de presión Scholander, introducida a mediados de la década de los años 1960, se mantiene como el método más robusto e útil para medir el EHP. En esta prueba, el tallo se corta de la planta, sellado en una cámara de presión, y se introduce un gas bajo presión en la cámara hasta que se forman gotas de agua sobre la superficie de la punta del tallo cortado. La presión a la cual esto sucede es igual y opuesta a la fuerza de retención del agua en el tallo, y proporciona una estimación del EHP. Aunque existen fuertes variaciones estacionales en los valores críticos del PHP, lecturas en el rango de -0.5 a -1.5 MPa (5 a 15 bares) son normales, mientras que aquellas por debajo de -1.5 MPa (arriba de los 15 bares) pueden ser motivo de preocupación.

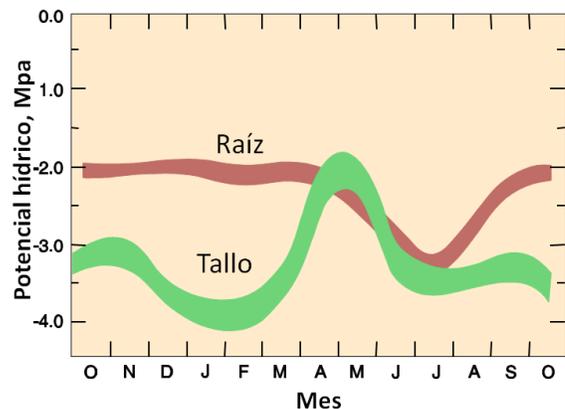


Figura 7.2.12 Para el tallo y la raíz de plantas de *Pseudotsuga menziesii*, el valor del potencial hídrico a turgencia cero varía de manera diferencial a lo largo del año, (modificado de Ritchie y Shula, 1984).

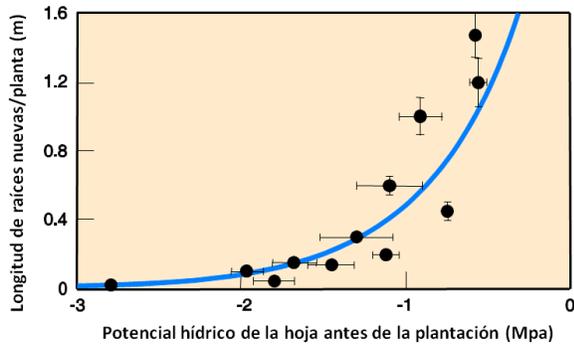


Figura 7.2.13 En algunos estudios se encontró que el estrés hídrico de la planta resultó ser un buen elemento para predecir la capacidad de desarrollar nuevas raíces después de la plantación (modificado de Mena-Petite *et al.*, 2001).

El EHP no está correlacionado directamente con cualquiera de los indicadores clásicos de calidad de planta, aunque las mediciones del EHP antes del amanecer pueden ser utilizadas en los viveros para determinar el momento y la cantidad de riego, y es la mejor forma para dar seguimiento a los niveles de estrés durante el endurecimiento. La lectura del EHP durante la cosecha puede alertar a los viveristas de condiciones estresantes, y los plantadores pueden utilizar el EHP para verificar el estado hídrico de la planta previo a los trabajos de plantación.

7.2.4.2 Resistencia al frío

Las pruebas de resistencia al frío (RF) han sido utilizadas en la horticultura desde los inicios de los años 1900, como un método para seleccionar los cultivos resistentes al frío. Es utilizado como una prueba de calidad de planta en los viveros forestales y de conservación, que ha sido desarrollada a lo largo de los últimos 30 o más años, pero se mantiene quizás como la segunda prueba más comúnmente utilizada para determinar la calidad de la producción.

Conceptos que respaldan la prueba. Durante la estación de crecimiento, las plantas de climas más templados mueren cuando la temperatura del aire cae por debajo del punto de congelación. Sin embargo, cuando el invierno se acerca y el crecimiento disminuye, las plantas responden a los cambios en el fotoperiodo

(noches más largas) desarrollando una tolerancia al frío (Brigas *et al.*, 2001; Glerum, 1976, 1985; Weiser, 1970). En la terminología coloquial de los viveros, esto es conocido como “endurecimiento” y esta tolerancia al frío es un indicador de una resistencia general al estrés. Cuando llega el invierno, las plantas que habrían muerto con una temperatura ligeramente menor a los 0°C (32°F) durante la estación de crecimiento, son capaces de sobrevivir a temperaturas muy por debajo de esta cifra. Cuando el invierno termina y la estación de crecimiento se aproxima, esta resistencia a las bajas temperaturas se pierde rápidamente, y las plantas retoman su crecimiento.

¿Qué sucede cuando el tejido de la planta se congela? Para entender cómo las plantas resisten las temperaturas congelantes, es necesario primeramente entender que sucede dentro de la planta cuando esta se congela. Considere una corte de sección generalizado del tejido de la planta mostrando la estructura celular (Figura 7.2.14A). Las células son cubiertas por paredes celulares flexibles hechas básicamente de celulosa, la cual es rígida y fuerte. Las células comúnmente conforman paquetes estrechamente unidos, aunque de manera ocasional se presentan espacios entre éstos (intercelulares) los cuales contienen solamente aire y/o agua.

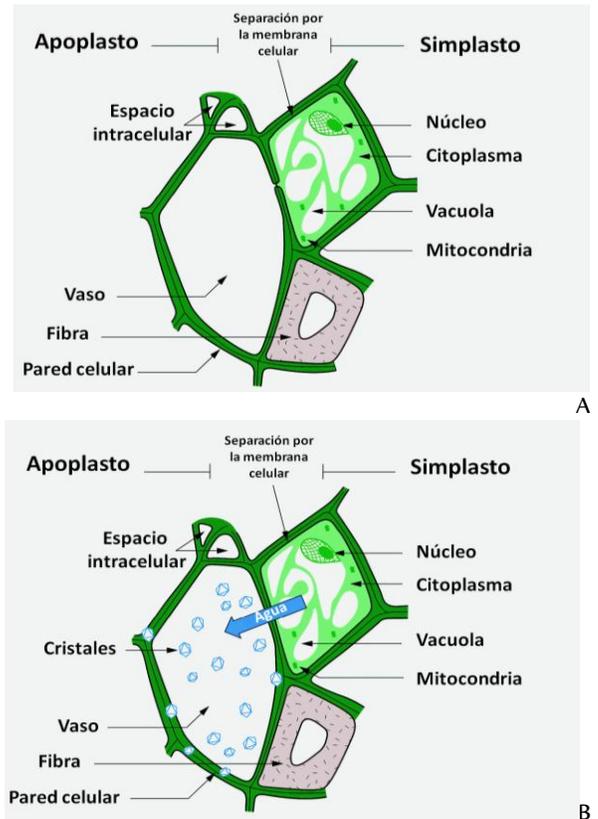
El tejido de la planta está compuesto de muchos tipos de células que tiene diferentes funciones. Algunas células, tales como vasos y traqueidas son huecas y transportan agua desde las raíces hacia las hojas, o los fotosintatos descendiendo desde las hojas. Las células vivas cuya función es la fotosíntesis y otros procesos fisiológicos, son llenadas con citoplasma, las cuales están envueltas por una membrana semi-permeable compuesta de un material graso llamado lípido, en el cual, las moléculas de proteína están integradas. Esta membrana juega un papel clave en el endurecimiento de las plantas; todo dentro de esta es referido como simplasto y es tejido vivo. Todo lo que queda fuera de esta membrana (pared celular, vasos, espacios intercelulares,

células vacías, etc.) es referido como el apoplasto y no es tejido vivo (Figura 7.2.14A).

Tanto el simplasto como el apoplasto contienen normalmente algo de agua. El agua del apoplasto es casi pura, por lo que su punto de congelación es cercano a 0°C (32°F). En contraste, el simplasto contiene azúcares y sales disueltas, grumos de almidón suspendidos y moléculas de proteína. Estos solutos actúan como “anti congelante” rebajando el punto de congelación del simplasto a una cifra considerablemente menor a los 0°C. Por ello, cuando las células son expuestas a temperaturas congelantes, el agua del apoplasto comienza a congelarse. A medida que esto sucede, pequeños cristales de hielo se forman dentro de la pared celular, en los espacios intercelulares y otros espacios vacíos dentro del apoplasto (Figura 7.2.14B). El agua del simplasto con un punto de congelación menor, resiste el congelamiento. Por lo tanto, el hielo que se forma dentro del tejido de la planta es contenido en el apoplasto y genera poco o ningún daño.

Sin embargo, el hielo tiene una atracción muy fuerte con el agua – tan fuerte que los cristales de hielo succionan el agua con tenacidad a través de la membrana y fuera del simplasto. Dado que la membrana es permeable solamente al agua, los azúcares disueltos y otros materiales permanecen en el simplasto, aun cuando el agua haya salido. Esto aumenta la concentración de los solutos disueltos reduciendo aun más el punto de congelación del agua del simplasto. Cuando los tejidos de la planta no están endurecidos, o cuando la temperatura cae por debajo de su nivel estacional de endurecimiento, el citoplasma puede llegar a ser severamente deshidratado al punto en el cual: 1) hay una desnaturalización de las proteínas; 2) las membranas mueren o se dañan, permitiendo que el contenido de las células se fugue hacia el apoplasto; 3) las células se plasmolizen y; 4) el volumen de las células citoplasmáticas decrece abruptamente, conduciendo a la muerte celular. No está claro si la baja temperatura en sí, la desecación, o de

hecho ambas inciden en el daño (Adams *et al*, 1991; Sutinen *et al*, 2001).



El daño por frío debe ser distinguido de la desecación invernal, que resulta cuando el agua de las células es jalada a través de la membrana celular para alimentar los cristales de hielo que se están formando fuera de las células. Esto puede deshidratar severamente el citoplasma y causar daño a las membranas de manera que se pierda el contenido de las células. Aun las plantas endurecidas pueden ser dañadas por la desecación invernal.

Mecanismo de resistencia al frío. Para que las plantas puedan resistir el congelamiento, deben ocurrir varios cambios en las propiedades físicas y químicas de las membranas y del citoplasma, durante el proceso de endurecimiento (Öquist *et al.*, 2001; Sutinen *et al.*, 2001). Primero, las membranas cambian físicamente, llegando a ser más permeables al agua. Esto logra que las moléculas del agua se muevan rápidamente fuera de las células, permitiendo que las concentraciones de los solutos intracelulares se incrementen rápidamente. Además, físicamente las membranas se tornan más rígidas. Esto ayuda a protegerlas de ser traspasadas por los cristales de hielo que se forman rápidamente en el apoplasto, a la vez que evita que sean desgarradas y desplazadas lejos del citoplasma, y/o las paredes de las células, al igual que el citoplasma, se deshidraten y se contraigan. El propio citoplasma es sometido a profundos cambios físico-químicos que le permite sobrevivir a una severa deshidratación. Estas adaptaciones se llevan a cabo en respuesta a los cambios en el fotoperiodo y bajas temperaturas, y son orquestadas por un conjunto de genes que son “encendidos” y “apagados” por estas señales ambientales.

Un importante mecanismo para eludir la resistencia es el profundo súper-enfriamiento del agua (Burr *et al.*, 2001; Quamme, 1985). El agua pura puede enfriarse a una temperatura cercana a los -40°C (-40°F) sin que forme cristales de hielo, cuando no están presentes núcleos de hielo, y algunas plantas aprovechan esta propiedad. Sin embargo, cuando el agua súper-enfriada se congela, casi siempre es letal. La razón de que muchas especies de plantas no prosperen en el norte, en isotermas de mediados del invierno de -40°C, sugiere que éstas deben primeramente evitar el daño por frío, mediante este mecanismo (George, *et al.*, 1974). La misma isoterma de mediados del invierno coincide comúnmente con la línea máxima de vegetación maderable, lo que ha originado que Becwar *et al.*, especulen que el súper-enfriamiento puede además limitar la supervivencia de ciertas especies por debajo de este límite de crecimiento. Muchas coníferas

(con excepción de los pinos) utilizan el súper-enfriamiento como un método para evitar el daño por frío. Sin embargo, muchas especies arbóreas pueden sobrevivir a temperaturas muy por debajo de los -40°C, dado que son capaces de resistir la desecación del citoplasma por otros mecanismos menos conocidos.

Etapas del endurecimiento. El endurecimiento, (también conocido como aclimatación al frío) se presenta en una serie de etapas dependiendo de la especie (Cannell y Sheppard, 1982; Timmis, 1976; Timmis y Worrall, 1975). El Cuadro 7.2.5 proporciona un patrón generalizado de endurecimiento para los tallos y sistemas radicales de árboles costeros de *Pseudotsuga menziessi*, lo cual se muestra en la Figura 7.2.15. El eje de las Y representa el valor LT_{50} –temperatura que es letal para el 50% de una muestra poblacional – el cual es el índice más común de resistencia al frío.

Para mayor información sobre los cambios ambientales que promueven y mantienen las diversas etapas del endurecimiento y el fin de este proceso, refiérase a Greer *et al.* (2001).

Variación del endurecimiento en el tejido de las plantas, especies y ecotipos. Los tejidos de diferentes plantas se endurecen y terminan este proceso a diferentes niveles (Bigras *et al.*, 2001; Rose y Haase, 2002). En particular, el hecho de que las raíces no se endurezcan tan profundamente como los tallos (Figura 7.2.15), tiene muchas implicaciones importantes para los viveristas que producen en contenedor (Colombo *et al.*, 1995). Burr *et al.* (1990) probaron el endurecimiento de plantas de *Picea engelmannii* durante el invierno, examinando de forma separada las yemas, acículas y el cambium lateral (Figura 7.2.16). Los tallos y las acículas se endurecieron más rápidamente que las yemas, alcanzando una mayor dureza a mediados del invierno. Los tres tipos de tejidos finalizaron el proceso de endurecimiento a finales del invierno.

Cuadro 7.2.5 Etapas del endurecimiento y fin de éste proceso, para plantas de *Pseudotsuga menziesii* (compárese con la Figura 7.2.15).

Etapa de endurecimiento	Estación	Indicadores ambientales	Tolerancia a la temperatura como LT ₅₀
Inicia lentamente	Inicio del otoño	Se acorta el fotoperiodo	-2 a -5°C (28 a 23°F)
Incrementa rápidamente	Final del otoño	Incremento de bajas temperaturas, especialmente durante la noche	-10 a -20°C (14 a -4°F)
Endurecimiento máximo	Mediados del invierno	Temperaturas muy bajas	-15 a -40°C (5 a -40°F)
El fin del proceso concluye rápidamente	Final del invierno	Aumento de temperatura y días más largos	Rápido incremento a -2°C (28°F)

Las especies y ecotipos de árboles muestran un amplio rango de niveles de endurecimiento de mediados del invierno, dependiendo de la región climática donde se presentan de manera natural (Sakai y Weiser, 1973). Las coníferas boreales tales como la *Picea glauca* y *P. mariana*, *Pinus banksiana* y otras, alcanzan niveles de endurecimiento por debajo de los -80°C (-112°F). Muchas coníferas de las Montañas Rocallosas como el *Pinus contorta* y *Picea engelmannii*, también alcanzan estos niveles de resistencia. En contraste, las coníferas de la costa del pacífico tales como *Pseudotsuga menziessi*, *Sequoia sempervirens* y *Thuja plicata*, raramente se aclimatan por debajo de los -20°C (-22°F). Observe que la tolerancia al frío de especies de amplio rango, tales como *Pseudotsuga menziessi* varía con los ecotipos (-20°C [-4°F] para el Estado de Washington, aunque las procedencias de las Montañas Rocallosas pueden tolerar -20 a -30°C [-4°F -22°F]).

Métodos para evaluar la resistencia al frío. Aunque las plantas pueden ser evaluadas por diferentes métodos para la resistencia al frío (Burr *et al.*, 2001), son dos los que más se usan: el método del congelamiento total de la planta (MCTP) (Tanaka *et al.*, 1997), y la prueba de la pérdida de electrolitos inducida por el congelamiento (PEIC) (Burr *et al.*, 1990; Dexter *et al.*, 1932; McKay, 1992). Ambas pruebas consideran dos etapas (Burr *et al.*, 2001; Ritchie, 1991). Primero, las plantas o parte de ellas se exponen a un estrés por congelamiento, y segundo, la cantidad del daño por enfriamiento se categoriza. Estas pruebas son comparadas en el Cuadro 7.2.6.

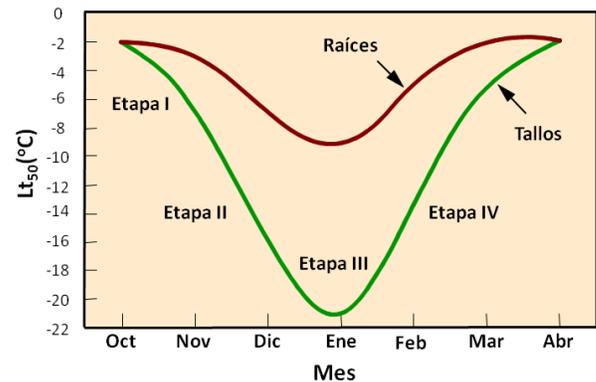


Figura 7.2.15 Estas típicas tendencias de endurecimiento en plantas de coníferas muestran que los tallos y las raíces siguen el mismo patrón, alcanzando un endurecimiento máximo en enero. Es importante observar que algunas especies y ecotipos no alcanzan la Etapa III de endurecimiento, y que las raíces no logran el mismo nivel de endurecimiento que los tallos.

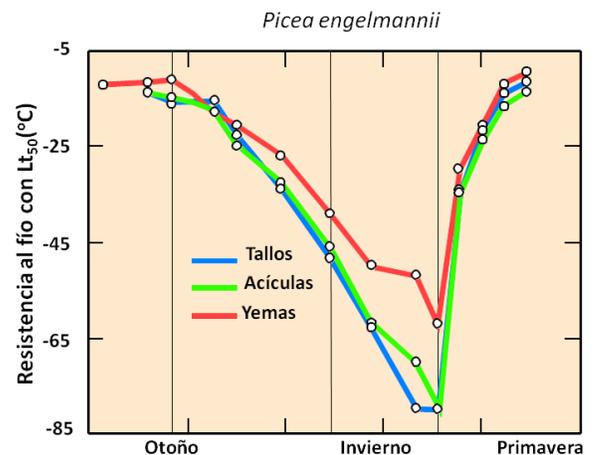


Figura 7.2.16. Los tejidos de la planta se endurecen a diferentes niveles durante el otoño, aunque todos concluyen el proceso muy rápidamente en la primavera (modificado de Burr *et al.*, 1990).

Cuadro 7.2.6 Comparación de las dos principales pruebas de resistencia al frío

Factor	Prueba del congelamiento total de la planta (PCTP)	Prueba de pérdida de electrolitos inducida por congelamiento (PEIC)
Tejido de la planta probado	Planta intacta (follaje, yemas, tallos y raíces)	Tejido (follaje, yemas, tallos y raíces)
Tiempo	Varios días a una semana	Uno o dos días
Equipo requerido para la prueba	Congelador programable y cámara de germinación o invernadero	Congelador programable, medidor de conductividad eléctrica, autoclave, horno o microondas.
Criterio de evaluación	Grado de daño del tejido (quemado) o fluorescencia de clorofila (véase Sección 7.2.4.4)	Lectura numérica

Prueba de congelamiento total de la planta.

Para iniciar, una muestra representativa de las plantas se somete a una serie de temperaturas de sub-enfriamiento en un congelador programable (Cuadro 7.2.17A-B) o en un Termotrón, durante un periodo de tiempo determinado, comúnmente por algunas horas. Posteriormente, las plantas se incuban por varios días, en un ambiente cálido como el de un invernadero, para permitir que se desarrollen los síntomas. Finalmente el tallo, la yema y el follaje de las plantas probadas se evalúan considerando el daño provocado por el frío, mediante la verificación de los daños visibles, es decir, por lo “quemado” de las yemas, el cambium y el tejido foliar (Figura 7.2.17 C-E). La mortalidad se determina con base en la severidad y ubicación del tejido dañado (Tanaka *et al.*, 1997).

Prueba de la pérdida de electrolitos inducida por congelamiento (PEIC).

Esta prueba se basa en el hecho de que las membranas de las células dañadas por congelamiento, pierden electrolitos que pueden ser valorados con un medidor de conductividad eléctrica (CE). Para iniciar, se cortan muestras del tejido de la plantas que se van a evaluar (follaje, yemas o raíces) (Figura 7.2.18A), y se someten a temperaturas de congelación (Figura 7.2.18B). Posteriormente se colocan dentro de agua desionizada (o desmineralizada), la cual tiene una conductividad eléctrica de cero (Figura 7.2.18C). Los electrolitos que se pierden de las células dañadas incrementan la CE del agua, y este aumento relativo de la CE (descrito abajo) es la cantidad de daño ocasionado por el frío. Aunque esta prueba

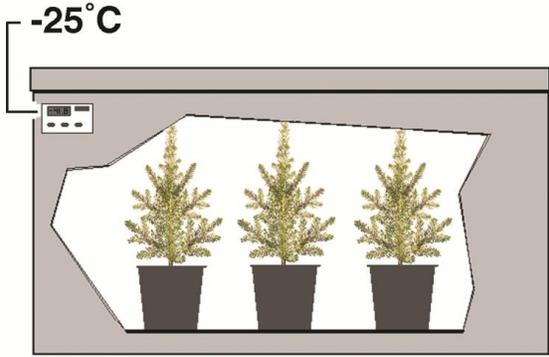
puede realizarse en cualquier tejido de la planta, es más común que se haga en las muestras de follaje o raíz.

Un índice de conductividad relativa (CR) del daño por congelamiento fue descrito por Ritchie (1991) y Burr *et al.* (2001), el cual se determina de la siguiente forma: 1) coloque el tejido dentro de frascos que contengan agua desionizada; 2) exponga el tejido a temperaturas sub-congelantes; y, 3) incube los frascos hasta que se estabilice el valor de la conductividad eléctrica. Este punto se conoce como la solución inicial de conductividad (EC₁). Finalmente, cuando la muestra esté completamente muerta al calentarla o congelarla, se mide la conductividad final (EC₂). La conductividad relativa se calcula de la siguiente forma:

$$CR (\%) = (EC_1 - B_1) \times 100 / (EC_2 - B_2)$$

Donde B₁ y B₂ son espacios opcionales que se incluyen para considerarse en caso de que haya fuga de iones de los frascos.

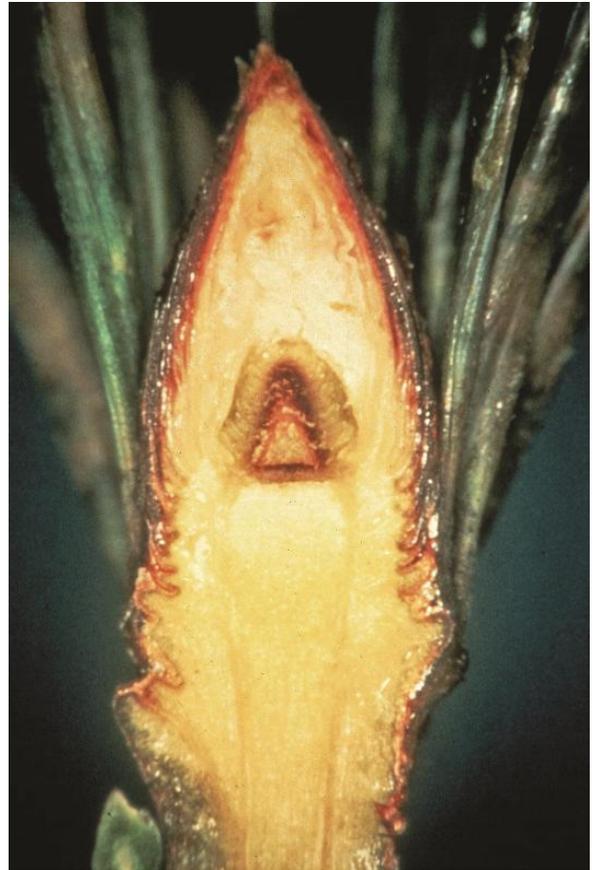
Así, como puede verse, la prueba de PEIC proporciona una manera rápida y fácil de medir la resistencia al frío de los tejidos de la planta.



A



B



C



D



E

Figura. 7.2.17 En la prueba de congelamiento total, las plantas se exponen a bajas temperaturas dentro de un congelador (A) con controles de programación (B). Después de un tiempo específico de exposición, los tejidos de las plantas son clasificados por lo “quemado” de las yemas (C), el follaje (D), y el cambium lateral (E). (Fotografías de Diane Haase).

Análisis térmico diferencial. El análisis termico-diferencial (ATD) se basa en la teoría de que cuando el agua *super-fría* se congela, casi siempre indicará la existencia de un daño significativo en los tejidos. Dos muestras de tejido de una planta (del tallo o la yema) se recolectan, y una de ellas se sacrifica calentándola o enfriándola para luego deshidratarla. Dos pequeños termopares conectados en serie, se colocan sobre la muestra – uno sobre el tejido muerto y el otro, sobre el tejido vivo. Las muestras se colocan dentro de un gabinete de congelación capaz de enfriar hasta -40°C (-40°F). La evidencia

sugiere que la temperatura a la que se dio este segundo pico indica la temperatura letal para dicha muestra (Ritchie, 1991).

Mientras que este método parece ser prometedor para determinar los niveles de endurecimiento en especies muy resistentes al frío, diferentes problemas técnicos han obstaculizado su uso operativo (Burr *et al.*, 2001).

Prueba de resistencia a través de la expresión de genes. Se ha indicado con anterioridad que los cambios en las señales ambientales, especialmente el fotoperiodo y la temperatura, disparan los cambios en la expresión genética, que en última instancia dan como resultado el desarrollo de la resistencia al frío. Un novedoso enfoque para medir la resistencia al frío descrito por Balk *et al.* (2007), consiste en la identificación de los genes conocidos por estar implicados en este proceso. Estos genes son los responsables de la producción de enzimas, proteínas que desencadenan todos los procesos fisiológicos en los organismos. Para crear una enzima, la célula debe primero transcribir la información genética almacenada en el ADN en el mensajero RNA (mRNA). El filamento del mRNA se mueve hacia el ribosoma, sitio donde se sintetizan las proteínas, y donde los aminoácidos se entrelazan utilizando el código del mRNA. La subsecuente cadena de aminoácidos es otra enzima que se dobla en su forma característica, flota libremente, y comienza a desarrollar una reacción específica (Figura 7.2.19A). Los cambios en los niveles de las enzimas desencadenados por estos genes señalan la obtención o pérdida de la resistencia al frío. Una ventaja es que estas señales pueden ser detectadas mucho antes (indicando que los tratamientos usados en el vivero para desencadenar el desarrollo de la resistencia al frío, fueron efectivos, o que estas plantas están perdiendo la resistencia en la primavera), evitando esperar a cambios medibles en los valores de la resistencia, utilizando pruebas como el congelamiento total de la planta y la pérdida de electrolitos inducidos por congelamiento.

Investigaciones realizadas con *Pinus sylvestris* y *Picea abies* identificaron tres genes indicadores y sus enzimas subsecuentes, que en conjunto proporcionaron suficiente información para dar un cálculo preciso de la etapa de resistencia al frío en plantas producidas en vivero (Balk *et al.*, 2007). Trabajos posteriores con *Pseudotsuga menziessii* mostraron resultados similares (Balk *et al.*, 2008). Se han desarrollado ensayos químicos para detectar las enzimas creadas por los genes indicadores, y hoy en día la empresa **N-Sure**, puede realizar esta prueba. Una muestra combinada de tejido de la yema recolectada por el encargado del vivero, es estabilizada mediante químicos proporcionados en una equipo de muestreo, para posteriormente enviarla al laboratorio de pruebas (Figura 7.2.19B). Los resultados estarán disponibles en unos cuantos días.



A



B



C

Figura 7.2.18 Durante la prueba de pérdida de electrolitos inducida por congelamiento, las muestras de tejido de las plantas (A) son expuestas a temperaturas congelantes (B) y posteriormente se sumergen en agua desionizada. El aumento relativo de la conductividad eléctrica es un indicador del daño ocasionado por el frío (C). (C, cortesía de Sonia Gellert).

Aplicaciones de la prueba de resistencia al frío. Los viveros que producen en contenedor utilizan las pruebas de resistencia al frío (RF), para diferentes propósitos.

1. Las pruebas de RF pueden ser utilizadas para dar seguimiento al endurecimiento de los cultivos conforme éstos lo van obteniendo de manera natural durante el otoño, o a través de procedimientos culturales para el endurecimiento, como el oscurecimiento. En instalaciones al aire libre, las pruebas de RF a intervalos regulares pueden ser utilizadas para determinar cuándo se necesita tomar medidas de protección contra las heladas (Perry, 1998).

2. Las pruebas de RF son comúnmente utilizadas para determinar la “época de cosecha” para cultivos producidos en contenedor. Por ejemplo, la capacidad para tolerar temperaturas de -18°C (0°F) se ha utilizado como un indicador de cuándo se debe cosechar la producción de coníferas en la Columbia Británica, para almacenamiento posterior en un congelador (Burdett y Simpson, 1984). Deben desarrollarse otras referencias de temperatura para otras especies y ecotipos.

3. Las pruebas de la RF proporcionan una buena aproximación de la resistencia al estrés total de la planta (Ritchie, 2000), lo cual es un atributo clave de calidad (ver Sección 7.2.5.2).

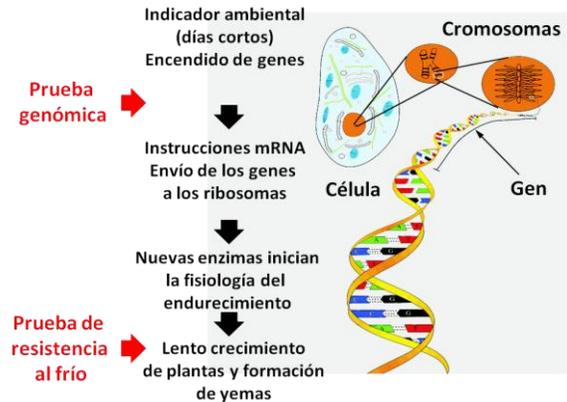
Resistencia al frío: resumen. Las plantas que mueren fácilmente por las bajas temperaturas durante el periodo de crecimiento, pueden sobrevivir a temperaturas mucho más bajas en el invierno cuando están endurecidas. Los daños provocados por el frío deben diferenciarse de la desecación invernal, que resulta cuando el agua de las células es succionada a través de la membrana celular, para alimentar la formación de cristales de hielo en el exterior de las células. Esto puede deshidratar severamente el citoplasma y dañar las membranas, provocando la pérdida del contenido celular. Aun las plantas endurecidas pueden ser dañadas por la desecación invernal.

El proceso de endurecimiento se dispara a fines del verano por medio del fotoperiodo, y se incrementa durante el inicio del invierno cuando las plantas están expuestas a bajas temperaturas en aumento. El nivel de resistencia puede variar enormemente entre especies y ecotipos, y es altamente influenciada por el clima de su origen. Para plantas de clima templado el endurecimiento alcanza su punto máximo (pico) en enero. Siguiendo este pico, a medida que el fotoperiodo comienza a alargarse y las temperaturas comienzan a subir, la resistencia al frío se pierde rápidamente.

Las pruebas de RF más comúnmente usadas son la del congelamiento total, donde las plantas están expuestas a temperaturas de congelación, evaluando posteriormente su respuesta; y la prueba de la pérdida de electrolitos inducida por congelamiento, la cual se usa para evaluar, muestras del follaje y las raíces. Las pruebas basadas en indicadores genéticos hoy en día se están haciendo más accesibles.

Las pruebas de RF se pueden usar para establecer la “época de cosecha”, ya que permite indicar cuándo se deben proteger las plantas de las heladas dentro del vivero, y como

una prueba sustituta para evaluar la resistencia al estrés.



A



B

Figura 7.2.19 Las pruebas genómicas de la resistencia al frío permiten una detección temprana de las señales químicas que disparan la resistencia al frío, y que pueden servir como un indicador inicial (A). La prueba **N-Sure** ofrece una manera rápida y precisa de monitorear la resistencia al frío en la producción del vivero (B).

7.2.4.3 Pérdida de electrolitos de la raíz.

Las raíces son una de las partes más frágiles de la planta y por lo tanto, son muy sensibles al estrés provocado por el ambiente y por el mismo trabajo operacional. Esto es particularmente cierto en la producción en contenedor en el cuál el sistema radical no está aislado del suelo que lo circunda. Entre los factores de estrés están las altas y bajas temperaturas (Lindström y Mattson, 1989; Stattin *et al.*, 2000), la desecación (McKay y Milner, 2000); el manejo rudo (McKay y White, 1997); un inapropiado almacenamiento (Harper y O'Reilly, 2000, McKay y Mason, 1991; McKay, 1992), e incluso el anegamiento y las enfermedades. En ocasiones es posible detectar el daño de la raíz mediante el tradicional rasgado con la uña del dedo pulgar y examinando la coloración café resultante, aunque algunas veces el daño es imperceptible o difícil de cuantificar. Una prueba más rigurosa es la llamada pérdida de electrolitos de la raíz (PER). Debido a que esta prueba mide la salud y función de las membranas celulares de la raíz, la PER puede servir como indicador de daño radical y por lo tanto, de su calidad.

La PER se ha usado en Canadá (por ejemplo, Folk *et al.*, 1999), y actualmente es una de varias pruebas para medir la calidad de la planta desarrolladas por el Ministerio de Recursos Naturales de Ontario (Colomo *et al.*, 2001). En los Estados Unidos, la pérdida de electrolitos ha sido usada principalmente para medir la resistencia al frío del follaje, por lo que la aplicación de esta técnica en la raíz no es común.

La prueba PER es un método relativamente simple, usa equipo que puede estar fácilmente disponible, produce resultados muy rápidos, y puede ser utilizado en especies caducifolias, las cuales tiran sus hojas en invierno (Wilson y Jacobs, 2006). Sin embargo, la interpretación de los resultados de la PER puede ser problemática, debido a las especies, lotes de semilla, y por los efectos estacionales.

Teoría. La prueba PER está fundamentada con el mismo principio que la prueba PEIC descrita

en la sección anterior. Sin embargo, la diferencia principal es que la prueba PER sirve para medir todo tipo de daño a la raíz, y no solamente las provocadas por el frío. La idea básica es que midiendo la cantidad de iones que se pierden por las membranas de la raíz dañada, proporciona una estimación de la "viabilidad" relativa del sistema radical (Palta *et al.*, 1977). Cuando las raíces dañadas se colocan en agua destilada, la cantidad de la pérdida de la membrana puede ser medida rápida y fácilmente, con un medidor de conductividad eléctrica (CE).

Relevancia biológica de la PER. McKay (1998) proporcionó la siguiente explicación del por qué la prueba PER tiene aplicación como una evaluación de la calidad de la planta. Después de la plantación, la principal causa de mortandad de la planta se debe al impacto que sufre por el estrés hídrico. Las plantas que cuentan con un buen sistema radical son más eficientes para obtener el agua del suelo, y la medición de la PER mide la viabilidad del sistema radical. Un valor bajo de la PER indica una alta viabilidad de la raíz, permitiendo la absorción del agua para minimizar el impacto derivado del trasplante.

Procedimiento de medición. La técnica más comúnmente utilizada (McKay, 1992, 1998) ha cambiado ligeramente desde su protocolo inicial descrito por Wilner (1955, 1960). Las etapas se describen a continuación (Figura 7.2.20):

1. Primeramente las raíces se lavan con agua para remover el suelo y posteriormente con agua desionizada para remover cualquier ion que pudiera estar presente.
2. La parte central del cepellón (raíz) se remueve de la planta - con plantas producidas en vivero esta parte es comúnmente una banda con un ancho aproximado de 2 cm, en la parte intermedia del sistema radical.
3. Las raíces de la muestra con diámetros > a 2 mm se remueven, dejando sólo las raíces "finas".

4. Las raíces “finas” se colocan en un recipiente que contiene agua desionizada.
5. El recipiente se tapa, se agita y se deja a temperatura ambiente por cerca de 24 horas.
6. La conductividad de la solución (C_{viva}) se cuantifica con un medidor de conductividad eléctrica compensado por temperatura.
7. Las muestras de la raíz se sacan y se secan (matan) con un autoclave durante 10 minutos a 100°C (212°F).
8. Se mide la conductividad de la solución que envuelve a la muestra de la raíz muerta (C_{muerta}).
9. La PER se calcula como el ratio de la CE de las raíces vivas por la conductividad eléctrica de las raíces muertas:

$$PER = (C_{viva} / C_{muerta}) \times 100$$

Aplicaciones de la PER en los viveros. La prueba PER es la más comúnmente utilizada para evaluar los efectos de los daños por el frío, por las malas condiciones de almacenamiento, por la deshidratación provocada por la exposición de las raíces, o por el manejo rudo de las plantas en el vivero. Casi todos los trabajos publicados han sido con plántulas de coníferas producidas a raíz desnuda, principalmente con *Pseudotsuga menziessii*, Piceas, Pinos y Alerces. El uso de la PER para detectar el daño de la raíz por congelamiento se aplica en uno de dos contextos: 1) en los resultados de la evaluación de la prueba para la resistencia al frío, y para la detección de daños a la raíz generados por un clima frío fuera de temporada.

Medición de la resistencia de las raíces al frío. Como se explicó en la Sección 7.2.4.2, la prueba de resistencia al frío PER es el mismo proceso que para la determinación de la PEIC. Por ejemplo, las muestras de raíz de plantas de *Picea abies* producida en Suecia a raíz desnuda, se expusieron de septiembre a diciembre, durante cada dos semanas, a -5 °C (23 °F) ó -10 °C (14 °F) (Stattin *et al.*, 2000). A medida que avanzaba el invierno, la diferencia entre la PER entre las plantas tratadas y las no tratadas tendieron a ser menores, indicando que se

estaban volviendo cada vez más resistentes al frío (Figura 7.2.21).

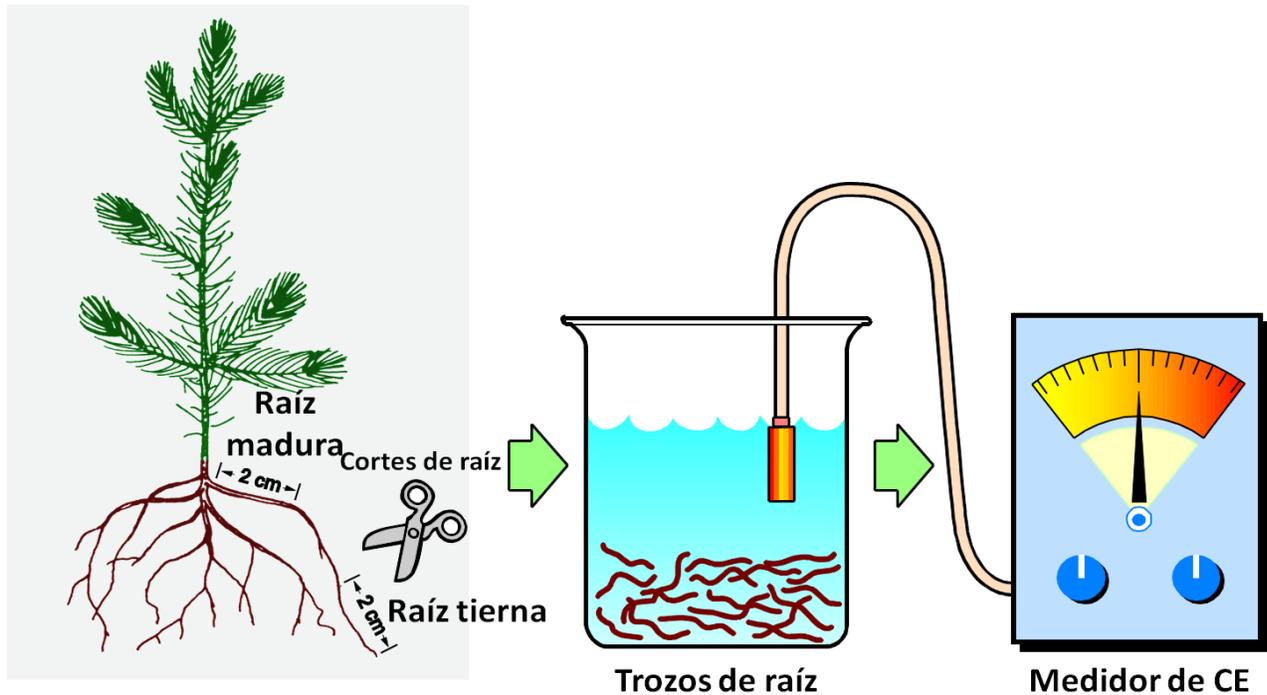


Figura 7.2.20 La prueba de pérdida de electrolitos de la raíz mide el cambio de la conductividad eléctrica de un tejido radical dado, como indicador de la cantidad de daño a la membrana. Dado que esta prueba refleja todo tipo de daños de la raíz, ésta puede ser usada para indicar que tan bien crecerán las raíces después de la plantación.

Detectando los daños a las raíces por el calor o el frío. Debido a que las raíces de las plantas producidas en contenedor no están protegidas mediante una masa de suelo térmico, éstas pueden ser fácilmente dañadas por temperaturas extremas. Esto es especialmente cierto cuando la producción del vivero es sobreexpuesta a condiciones invernales, por exceso de nieve, como ha sucedido en el este de Canadá y en Escandinavia (Lindström y Mattson, 1989). Si la nieve no llega a acumularse o de manera repentina se presentan periodos cálidos, la producción en contenedor es a menudo expuesta lo suficiente para que sus raíces sean severamente dañadas. La prueba PER es ideal para hacer una evaluación rápida del daño potencial de la producción en el vivero (por ejemplo, ver a Coursolle *et al.*, 2000).

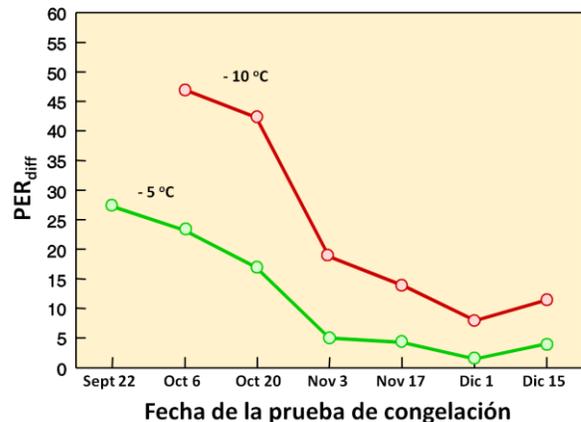


Figura 7.2.21 Las mediciones de la pérdida de electrolitos en plantas de *Picea abies* muestran el desarrollo de la resistencia de las raíces durante el otoño. PER_{diff} es el incremento de la pérdida de electrolitos de la raíz, como resultado de su exposición a temperaturas de -5°C o -10°C (23 o 14 °F) comparado con la pérdida en plantas no congeladas (modificado de Stattin *et al.*, 2000).

Determinando el periodo de cosecha. La PER ha sido utilizada como un indicador de cuándo es seguro realizar la cosecha de la producción del vivero a raíz desnuda. (McKay y Mason, 1991). Por ejemplo, plantas de *Pseudotsuga menziessii* cosechadas a mediados del invierno mostraron valores más bajos de PER y por lo tanto, menor daño a la raíz, que aquella producción cosechada un poco antes (Figura 7.2.22).

Monitoreo de la calidad en plantas almacenadas. La PER puede ser utilizada para monitorear la calidad de la planta durante el almacenamiento invernal (McKay, 1992, 1998; McKay y Morgan, 2001). En una prueba (McKay, 1998) fueron cosechadas plantas de *Picea* y *Larix* durante el invierno, iniciando el 1 de octubre, colocándolas posteriormente en un almacén a 1°C (33 °F). Todas las plantas se extrajeron del almacén, se evaluaron con la PER, y posteriormente, en el mes de abril fueron establecidas en campo. En ambas especies, el valor de la PER descendió, incrementando la supervivencia a medida que se retrasó la cosecha. En otro experimento (Harper y O'Reilly, 2000), plantas de *Pseudotsuga menziessii* fueron cosechadas en octubre, noviembre, diciembre y enero y almacenadas en un ambiente "cálido" a 15°C (59 °F), durante 7 a 21 días, y posteriormente evaluadas con la PER. Los valores de la PER tomadas al momento de la cosecha decrecieron con respecto a épocas de cosecha posteriores, indicando que las plantas llegaron a ser más resistentes. Sin embargo, por cada época de cosecha, las lecturas se incrementaron abruptamente con la duración del almacenaje, sugiriendo que un almacenaje cálido contribuyó a la degradación de las raíces finas (Figura 7.2.22).

Efectos de la desecación y manejo inadecuado de la planta. Plantas de *Picea sitchensis* y *Pseudotsuga menziessii* producidas a raíz desnuda, se colocaron en cámaras de ambiente controlado, con sus raíces expuestas a condiciones de deshidratación durante 3 horas (McKay y White, 1997). Las lecturas de PER incrementaron con la intensidad del tratamiento de deshidratación, indicando un

daño en la raíz. El daño se confirmó cuando el tratamiento de deshidratación tuvo pobres resultados en sitios de plantación con poca precipitación durante la primavera, en la Gran Bretaña.

Un manejo inadecuado de las plantas, combinado con la desecación de la raíz fue evaluado en plantas de *Pseudotsuga menziessii*, *Picea sitchensis*, *Larix kaempferi* y *Pinus sylvestris*, utilizando la prueba PER (McKay y Milner, 2000). El tratamiento del manejo inadecuado fue simulado dejando caer bolsas con plantas desde una altura de 3m (9.8 pies). La desecación se logró exponiendo las raíces a un aire seco y cálido durante 5 horas. A pesar de que los efectos variaron en función de la fecha de cosecha y de las especies, la prueba PER fue significativamente mayor en plantas con más estrés del total de especies evaluadas y sus tratamientos.

Uso de la PER para pronosticar el desempeño de la plantación. El objetivo final de cualquier prueba de calidad de planta es el predecir qué tan bien sobrevivirán y crecerán una vez establecidas en campo, por ello, muchos estudios han usado la prueba PER con este propósito obteniendo diferentes resultados. La prueba PER estuvo estrechamente correlacionada con el contenido de humedad relativa en plantas de *Pinus radiata* veinte días después de su plantación (Mena-Petite *et al.*, 2004). Con plantas de *Picea sitchensis* y *Larix kaempferi*, la PER tuvo una correlación estrecha con la supervivencia y el crecimiento en altura (Figura 7.2.23). En plantas de *Picea sitchensis* y *Pseudotsuga menziessii*, la PER estuvo correlacionada con la supervivencia en algunos sitios, aunque en otros no (McKay y White, 1997). La PER predijo hasta cierto punto, el establecimiento de plantas de *Larix kaempferi* aunque el pronóstico del potencial de crecimiento radical resultó ser mejor (McKay y Morgan, 2001). Resultados similares fueron encontrados con *Pinus nigra* (Chiatante *et al.*, 2002), mientras que Harper y O'Reilly (2000) determinaron que la PER fue mala para predecir el potencial de

supervivencia para plantas de *Pseudotsuga menziessii* en un almacenamiento cálido.

Limitantes de la PER. ¿Por qué la prueba PER puede predecir la supervivencia de las plantas en algunos casos, pero no en todos? Como sucede con muchas cosas, “el diablo tiene los detalles”.

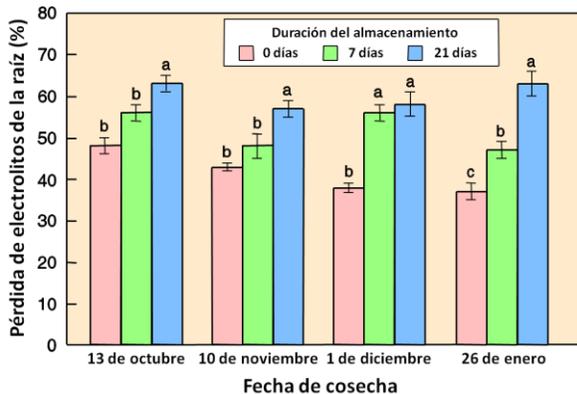


Figura 7.2.22 La PER puede ser utilizada para determinar la época de cosecha y dar seguimiento a la calidad de la producción durante su almacenamiento. Las plantas de *Pseudotsuga menziessii* cosechadas durante la mitad del invierno mostraron niveles bajos de PER, que la producción cosechada un poco antes durante el otoño. La misma producción fue almacenada en condiciones cálidas después de su cosecha y las mediciones de PER en cada fecha mostraron que el almacenamiento menos cálido produjo niveles menores de PER (modificado de Harper y O'Reilly, 2000).

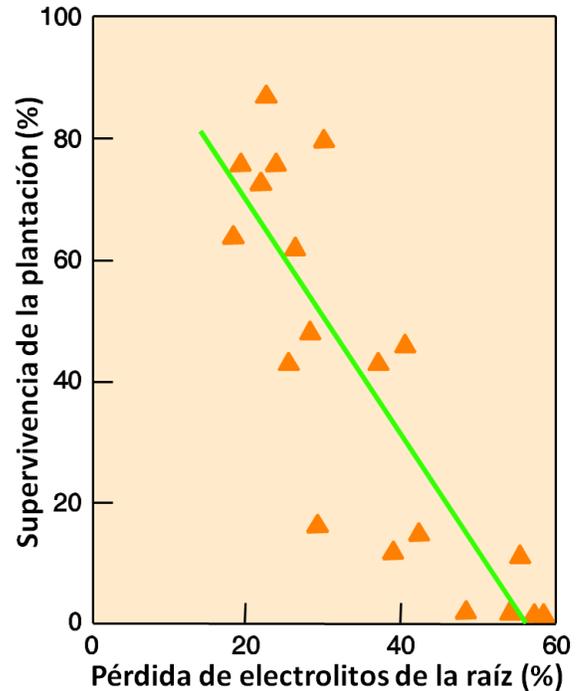


Figura 7.2.23 La pérdida de electrolitos de la raíz ha mostrado buena correlación con el desempeño de la plantación en este estudio con *Larix kaempferi* pero no así en muchos otros estudios (modificado de McKay y Mason, 1991).

Genética. La PER ha demostrado que puede variar con las especies, y aun con la procedencia dentro de especies. Por ejemplo, plantas de *Pinus banksiana* y *Picea mariana* fueron expuestas a temperaturas que dañan las raíces, y tuvieron valores de PER en un rango que va de 27 a 31 %, mientras que *Picea glauca* expuesta a la mismas temperaturas obtuvo un valor de PER de 36 y 38 % (Coursolle *et al.*, 2000). Las plantas de *Picea sitchensis* procedentes de Alaska, de las Islas Reina Carlota (QCI), y procedencias de Oregón, fueron evaluadas por su capacidad de resistir la deshidratación de la raíz y un manejo inadecuado McKay y Milner (2000). Las plantas de Oregón y de las Islas Reina Carlota que tuvieron sus raíces expuestas a la deshidratación, mostraron valores de PER más bajos que las plantas de Alaska, mientras que estas últimas y las procedentes de las Islas Reina Carlota, cuando se expusieron a un manejo rudo, tuvieron valores más bajos que las plantas de Oregón. En otro estudio, sin importar el tipo de estrés encontrado, las

plantas de *Pseudotsuga menziessii* obtuvieron valores de PER más altos que las de *Picea sitchensis*, *Pinus sylvestris* y *Larix kaempferi* (McKay y Milner, 2000). Dos lotes de semillas de *Pseudotsuga menziessii* costero (Columbia Británica), mostraron diferente relación entre la prueba PER y la supervivencia (Folk *et al.*, 1999).

Estado de dormancia. McKay y Milner (2000) encontraron que la resistencia a los diferentes niveles de estrés mencionados con anterioridad, variaron estacionalmente y estuvieron correlacionados con la intensidad de la dormancia de la yema. Un resultado similar fue reportado por Folk *et al.* (1999), para lotes de semillas de *Pseudotsuga menziessii*, quienes concluyeron que la prueba PER debe primeramente ser calibrada al estado de latencia de la yema, antes que pueda usarse con efectividad para evaluar el daño de la raíz en *Pseudotsuga menziessii*.

Edad de las plantas. La prueba PER proporcionó una buena correlación con la supervivencia de plantas de dos años de *Pinus nigra*, aun cuando dicha correlación resultó baja en plantas de un año (Chiatante *et al.*, 2002). Los autores especularon sobre la eficacia de la prueba PER, como una herramienta de evaluación de calidad, la cual podría estar estrechamente relacionada con el desarrollo del sistema radical.

Pérdida de electrolitos de la raíz: resumen.

La pérdida de electrolitos de las raíces finas (PER) es una medida de la capacidad de las membranas dentro del sistema radical para contener iones. Las membranas dañadas tienden a perder iones, de modo que si se cuantifica esta pérdida, se puede obtener un indicador de la viabilidad de la raíz. La PER es una prueba confiable, rápida y fácil de evaluar. La PER ha sido utilizada exitosamente para evaluar los efectos del daño por frío, manejo rudo de la planta, desecación, almacenamiento frío o cálido, y otros tipos de estrés en la viabilidad de la raíz y vigor de la planta. En ocasiones la prueba PER está estrechamente correlacionada con la supervivencia de la

planta, aunque en otros casos estas correlaciones sean bajas. Esto es debido a que otros factores además de los daños a la raíz, pueden afectar la PER, incluyendo la especie, el lote de semillas, la edad de la planta, la época del año y la intensidad de la dormancia de la yema. Afortunadamente, la PER puede ser calibrada para tales efectos.

7.2.4.4 Fluorescencia de la clorofila

Aún y cuando la tecnología para la medición de la fluorescencia de la clorofila (FC) ha estado en vigor por más de 50 años, ésta ha sido aplicada sólo a la fisiología de plantas arbóreas desde finales de los años 1980 (Mohamed *et al.*, 1995). En ensayos recientes investigadores forestales consideraron a la FC como una herramienta importante de investigación, para aplicaciones potenciales, tales como la evaluación de la efectividad del riego y la fertilización, para determinar la época de cosecha, así como para evaluar el vigor de la planta después del almacenamiento. La FC se previó que fuera “un método de evaluación del estado fisiológico de las plantas simple, rápido, confiable y no destructivo, durante el ciclo de producción en el vivero” (Vidaver *et al.*, 1988).

En este lapso de tiempo, la FC no estuvo a la altura de las primeras expectativas. Sin embargo, dado que la FC tiene tan gran potencial, tanto los productores como los usuarios deberán tener conocimientos básicos de la FC y qué puede o no puede hacer.

¿Qué es la fluorescencia de la clorofila?

Cuando la radiación solar impacta una hoja, parte de la energía de la luz es reflejada, parte es transmitida a través del tejido de la hoja y parte es absorbida. Las plantas absorben mucho más energía lumínica que la que es requerida para la fotosíntesis. De hecho, menos del 20% de la radiación activa absorbida por la hoja es realmente utilizada para el proceso de fotosíntesis (Figura 7.2.24). Las longitudes de onda roja y azul son absorbidas por la clorofila y otros pigmentos, pero la longitud de onda verde es reflejada, lo que proporciona el color verde de las plantas vivas. Para disipar el exceso de energía que de otra manera podría

ser dañina, las plantas han desarrollado procesos ingeniosos conocidos comúnmente como “difusores de energía”. Son reconocidos 3 tipos de difusores. El difusor foto-químico (DF) es energía utilizada en la fotosíntesis. El difusor no foto-químico (DNF) es energía disipada principalmente como calor sensible, y el difusor fluorescente (DFL) el cual es energía emitida como fluorescencia, y es la base de la prueba de la fluorescencia de la clorofila. La mayor cantidad de la energía absorbida se disipa como calor sensible (CS), mientras que una mucho menor cantidad se desprende como luz fluorescente (LF) (Figura 7.2.24). Estos tres mecanismos de difusión operan de manera simultánea y en competencia entre sí.

Si estos mecanismos de difusión son sobrecargados por una luz intensa, la energía excedente conduce a un proceso bioquímico denominado “Reacción Moehler”. Este proceso genera radicales libres generalmente óxidos y peróxidos que son tóxicos para la planta. Para autoprotgerse, las hojas sintetizan moléculas de barrido que limpian los radicales libres haciéndolos inofensivos. Por ejemplo, los pigmentos amarillos carotenoides cumplen esta función. Sin embargo, cuando la intensidad de luz es tan alta como para saturar estos sistemas de barrido, entonces se presenta un foto-daño (Demig-Adams y Adams, 1992). Esto comúnmente se presenta como un “achicharramiento” de las hojas y es común en plantas producidas en vivero que han sido movidas de la sombra al pleno sol, de una manera muy rápida.

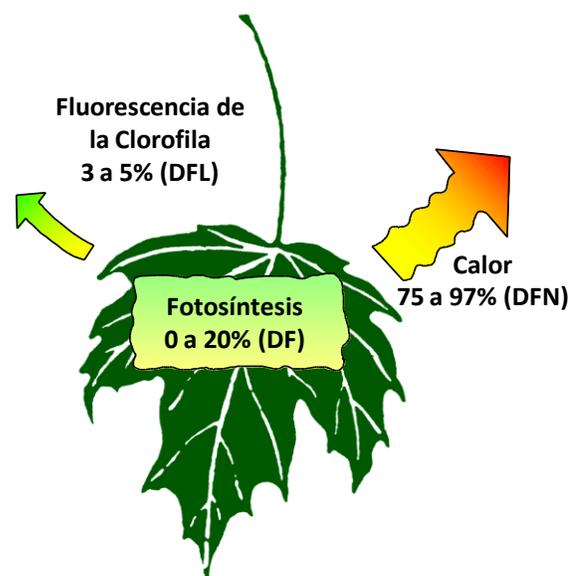


Figura 7.2.24. Sólo una pequeña cantidad de la radiación fotosintéticamente activa es absorbida por las hojas y en realidad utilizada (difundida) para la fotosíntesis. La energía restante es difundida como pérdida de calor o como fluorescencia.

La forma en que una planta es capaz de manejar la energía de la luz que absorbe, es un indicador sensible del estrés (Krause y Weis, 1991). La técnica FC, la cual cuantifica la energía disipada, es útil para conocer la respuesta de la planta al estrés, y por tanto, la calidad de planta.

Fotosíntesis y fluorescencia de la clorofila.

La fotosíntesis contiene tres procesos secuenciales (Vidaver *et al.*, 1991):

1. Captura de luz. – la energía lumínica es absorbida en las hojas por los pigmentos sensibles a la luz (incluyendo a la clorofila).
2. Fotoquímico – la energía lumínica absorbida es convertida en energía química.
3. Bioquímico – la energía química es utilizada para conducir las reacciones del ciclo de Calvin, que convierte carbón atmosférico en azúcares simples.

La FC proporciona una panorámica del proceso fotoquímico. Debido a que los tres procesos están íntimamente interconectados,

la alteración de una parte de cualquiera de los procesos afecta la serie total de reacciones. Estos cambios en el proceso fotosintético son reflejados en variaciones de la cantidad y tasa de emisiones de la fluorescencia de la clorofila.

La energía lumínica entra a la hoja de la planta y es “capturada” por los pigmentos que recogen la luz (Figura 7.2.25). Dependiendo de la longitud de onda de la luz capturada, esta entra en uno de los dos centros de reacción: Fotosistema I (FSI) y Fotosistema II (FSII), los cuales están ubicados en las membranas en el cloroplasto. Cuando la molécula de la clorofila α (CLF α) en FSII absorbe un fotón de energía, uno de sus electrones es elevado a un estado alto de energía. Mientras se encuentra en este estado de excitación, éste es capturado por un electrón que lo acepta, y lo conduce mediante una especie de embudo, a través de una cadena de electrones que lo transportan dentro del FSI, donde se gesta un proceso similar (FSI y FSII fueron nombrados en el mismo orden en el cual fueron descubiertos, y no en el orden de la reacción). Esta transferencia de energía lleva a la generación de ATP y por último, a la reducción de NADP a NADPH. La energía contenida en ATP y la reducción de fuerza de NADPH contribuye a la fijación de las moléculas de CO $_2$, y su última transformación será en azúcares simples en el Ciclo de Calvin.

La “partición del agua” es otra pieza clave de la reacción de la luz. Para la reposición de los electrones que se han perdido de la CLF α en la FSII, la planta divide las moléculas del agua, liberando átomos de oxígeno hacia la atmósfera y con ello proporciona electrones que alimenta a la FSII (Fig. 7.2.25).

Por la razón que sea, muchos de los electrones excitados de la CLF α en la FSII no son aceptados por el receptor, y éstos decaen regresando a su estado original. La energía perdida en el proceso de descomposición se libera como luz fluorescente (DFL), la cual emana completamente del CLF α en la FSII (Krause y Weis, 1991), conforme va decayendo y regresando a su estado original. Lo anterior se muestra en la Figura 7.2.25 como una línea

ondulada y se presenta cuando el receptor está completamente reducido, o cuando el camino de electrones que la transporta está bloqueado. En otras palabras, cuando se producen más electrones excitados de los que se pueden procesar, éstos regresan a su estado original liberando esa energía de excitación como fluorescencia.

La emisión de la fluorescencia es demasiado débil para ser percibida a simple vista, aunque puede ser fácilmente detectada por un instrumento denominado fluorómetro de la clorofila. Este aparato mide y cuantifica la naturaleza de esta emisión de fluorescencia y conforma las bases de la prueba de la FC.

Medición de la fluorescencia de la clorofila.

El bioquímico alemán Hans Kautsky especialista en plantas, fue el primero en observar la fluorescencia de la clorofila a finales de los años 1920 (Govindjee, 1995). Kautsky oscureció una hoja, y posteriormente la iluminó con breve destello de una luz intensa, observando la emisión de una luz fluorescente, seguido del pulso de luz. Sorpresivamente encontró que en el tejido sano, la emisión desapareció en pocos minutos, pero cuando el tejido estaba muerto con cianuro o por congelación, la emisión de la fluorescencia permanecía por mucho más tiempo. Desde entonces se ha determinado que envenenando o congelando el tejido de las hojas, desactiva la vía del flujo de electrones, provocando que los electrones excitados regresen a su estado original, emitiendo una fluorescencia medible. Contrariamente en el tejido sano, más electrones son reprimidos en la vía de transporte de electrones, reduciendo así la emisión de la fluorescencia.

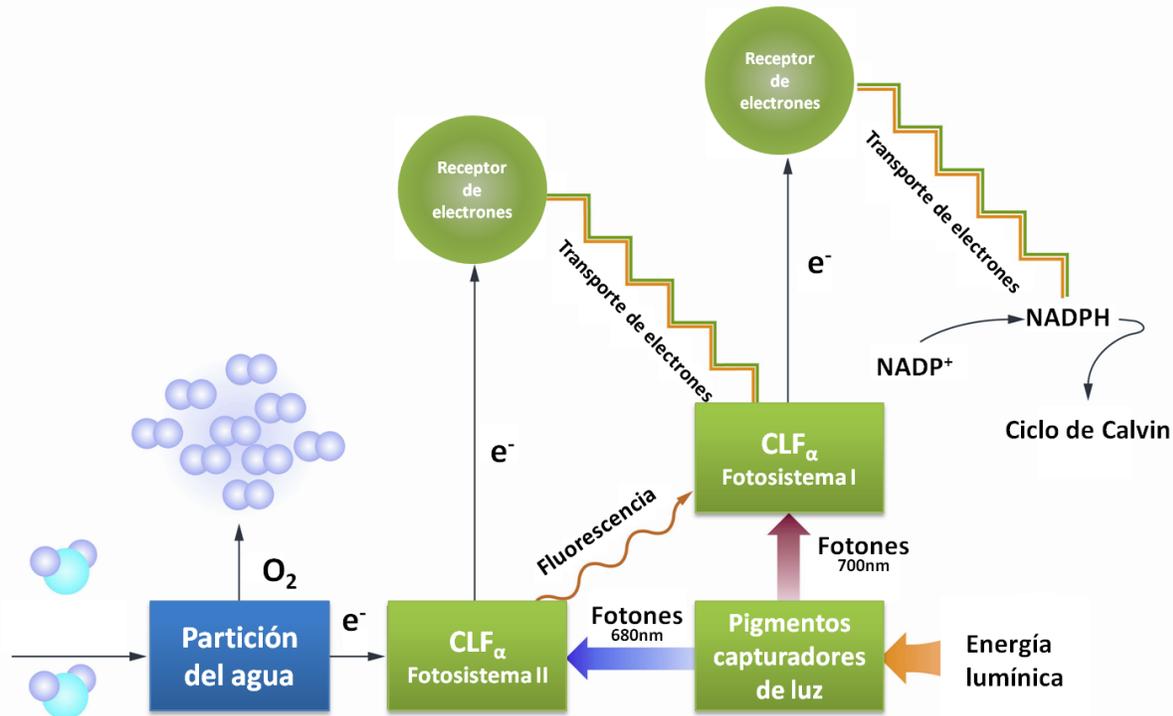


Figura 7.2.25 Diagrama simplificado de la reacción de la luz en la fotosíntesis. La fluorescencia de la clorofila emana del Fotosistema II. Esta fluorescencia puede ser medida con un Fluorómetro y puede ser usada para diagnosticar el estrés.

Fluorómetros Kautsky. Las observaciones de Kautsky llevaron al desarrollo de instrumentos denominados Fluorómetros Kautsky. Los primeros fluorómetros eran grandes e incómodos y han evolucionado a dispositivos pequeños, portátiles, accesibles y de manejo amigable, los cuales siguen siendo los instrumentos básicos para los laboratorios de investigación en la fotosíntesis. Contienen una fuente de luz, dos grupos de filtros, un microprocesador y un fotosensor, comúnmente con una interface a una computadora portátil (Figura 7.2.26A). La fuente de luz envía un pulso de luz fotosintéticamente activo, mediante un cable de fibra óptica hacia la superficie de la hoja, donde éste activa la CLF α en el FSII. La emisión regresa a través del cable y pasa un segundo filtro que transmite la luz fluorescente al fotosensor, el cual registra la emisión. El proceso es controlado por un microprocesador, el cual es programado utilizando una computadora portátil.

El proceso de medición de la FC inicia “adaptando a la obscuridad” la hoja por cerca de 20 minutos. Esto asegura que: 1) toda la clorofila está sin excitación o en su estado original; 2) los receptores se encuentren vacíos; y 3) el camino para transportar los electrones está despejado antes de que se reciba el pulso de luz.

Siguiendo el pulso de luz, el fluorómetro genera una curva en la cual la intensidad de la emisión de la fluorescencia resultante es graficada contra el tiempo (Figura 7.2.26B). En la curva de Kautsky, F_0 es la fluorescencia emanada de los pigmentos de la hoja que se encargan de capturar la luz, y no del FSII. F_m es la fluorescencia máxima y F_v es la fluorescencia variable que procede del FSII.

Esta curva tiene muchas características de diagnóstico, aunque la más útil es la proporción de la fluorescencia variable con respecto a la

fluorescencia máxima, o F_v/F_m . Este valor proporciona una estimación directa de la eficiencia de la reacción de la luz (Genty *et al.*, 1989) y es la más comúnmente utilizada en la emisión de la FC.

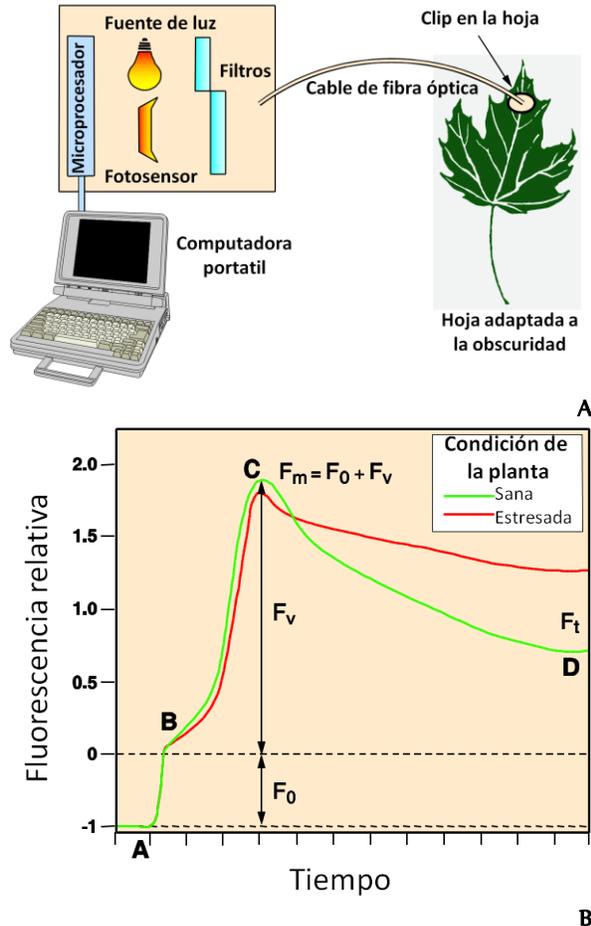


Figura 7.2.26 El fluorómetro Kautsky consta de una fuente de luz, dos filtros, un fotosensor, un microprocesador y un cable de fibra óptica que va adherido a la hoja. Las instrucciones son enviadas al fluorómetro mediante una computadora portátil (A). La curva de difusión es generada después de que se libera un pulso de luz a la hoja adaptada a la oscuridad. Estas curvas son elementos de diagnóstico dado que las plantas sanas y estresadas difieren en la cantidad y duración de la emisión de fluorescencia (B). Por ejemplo, la proporción de la variable a la máxima fluorescencia de la clorofila (F_v/F_m) es un buen indicador de la eficiencia fotosintética. Ver tabla 7.2.7 para la explicación de los símbolos (B, modificado de Rose y Haase, 2002).

Fluorómetros de pulso de amplitud modulada. El más reciente desarrollo en fluorimetría es un instrumento denominado el fluorómetro de pulso de amplitud modulada (IAM) (Schreiber *et al.*, 1995). Después de liberar un pulso de luz para la excitación inicial, el IAM genera un rápido flujo de alta intensidad, saturando los pulsos de luz que abruma los grupos de receptores, cancelando con ello la difusión fotoquímica. La emisión de fluorescencia se diferencia entre estos picos y la curva de fluorescencia decrece, por lo tanto, no es un difusor fotoquímico.

Este poderoso procedimiento permite la medición simultánea de los tres componentes de la difusión de la energía, junto con la determinación de todo el proceso de eficiencia, a diferentes niveles. Uno de estos aparatos, el PAM-2000, es desarrollado en Alemania por Heinz Walz (<http://www.walz.com>). Este instrumento ha llegado a ser una herramienta fundamental para la investigación de la fisiología de las plantas. Una corrida del PAM-2000 produce estimaciones del rendimiento cuántico (F_v/F_m), del rendimiento cuántico efectivo (Y), de la difusión fotoquímica (DF) y no fotoquímica (DNF), de la tasa de transporte de electrones (TTE), y muchas otras variables.

Valores normales de los parámetros de la FC en las plantas. La bioquímica de la fotosíntesis es esencialmente uniforme en todas las especies de plantas C3. Por lo tanto, se esperará que los parámetros de la FC en plantas sanas “normales” no varíen a lo largo del amplio rango de especies. Discusiones con otros científicos así como de búsqueda precisa de la literatura sobre la FC, han permitido el desarrollo del Cuadro 7.2.7. Éste proporciona los valores que comúnmente son considerados como “normales” para los parámetros de la FC, y pueden utilizarse como referencia para la interpretación de estos valores encontrados en la literatura.

Uso de la FC en la evaluación de la calidad de la planta. En la actualidad, la FC es primordialmente una herramienta de investigación, aunque se está comenzando

a utilizar en algunos viveros a nivel operativo.

Dormancia. Aunque ha habido intentos por usar la FC como un indicador de la condición fenológica de la planta o de su estado de latencia, no se tiene seguridad de que dichos estudios sean verificables o repetibles.

Resistencia al frío. Actualmente, el uso más común del uso de la FC es la detección y evaluación de los daños por frío (Binder *et al.*, 1997). Por ejemplo, cuando se evaluaron 17 especies de *Abies* en cuanto a su resistencia al frío, las lesiones a las yemas, follaje y cambium lateral estuvieron muy correlacionados con los niveles de la FC (Jones y Cregg, 2006). Cuando se compararon con otras pruebas de resistencia al frío, la FC resultó ser un indicador rápido y no destructivo de los daños por frío del follaje y tallos, de la producción de *Pinus sylvestris* en contenedor (Peguero-Pina *et al.*, 2008). En lugar de cuantificar el daño por frío de forma visual, por medios electrolíticos o cualquier otro método, (ver Sección 7.2.4.2), el enfoque de la FC es usar la respuesta del proceso fotosintético como un índice de daño. Las plantas “normales” comúnmente tendrán valores de Fv/Fm de 0.700 a 0.830, o ligeramente menores durante el invierno. Cuando este valor desciende a valores < 0.600 después de un proceso de congelación, indica un daño significativo al proceso fotosintético (Cuadro 7.2.7).

Desempeño de la plantación. Algunos estudios han intentado correlacionar las variables de la FC con el desempeño de la plantación. Por ejemplo, mediciones del rendimiento cuántico efectivo predijeron variaciones en la supervivencia y salud de las plantas almacenadas y no almacenadas de *Pseudotsuga menziesii*, en un vivero Irlandés (Perks *et al.*, 2001).

Efectos del almacenamiento. Almacenamiento bajo refrigeración de plantas de *Pinus radiata* durante un corto tiempo (dos semanas) provocó una reducción de Fv/Fm, Fv/Fo y de otros parámetros, a medida que los valores del

potencial hídrico de la hoja, la conductancia estomatal y la fotosíntesis neta también se redujeron (Mena-Petite *et al.*, 2003). Lo anterior refleja un daño relacionado con el almacenamiento al aparato fotosintético, y augura un reducido desempeño después de la plantación. La FC también es usada como una prueba de calidad de la planta después del almacenamiento, en algunos viveros de Ontario (Colombo, 2009).

Estrés por sequía. La sequía prolongada afecta directamente la fotosíntesis al reducir el potencial hídrico de las hojas, las cuales cierran sus estomas. Evidencias recientes sugieren que una sequía prolongada también interrumpe la fotosíntesis a un nivel fotoquímico. Cuando plantas de *Picea glauca* fueron expuestas durante 21 días sucesivos sin agua en una cámara con un ambiente controlado (Brigas, 2005), los parámetros de Fo y DNF no se vieron afectados, pero los de Fm, Fv, Fv/Fm y DF se redujeron cuando el potencial hídrico cayó por debajo de -1.0 Mpa (10 bares EHP). La medición de la proporción Fv/Fm en plantas de *Picea abies* en dormancia, no se vieron afectadas durante las 4 semanas posteriores a su plantación en el campo, bajo condiciones de sequía, aunque la misma exposición a la sequía redujo el valor de Fv/Fm de 0.83 a cerca de 0.28, en aquellas plantas que no tenían dormancia de la yema (Helenius *et al.*, 2005).

Fluorescencia de la clorofila: resumen. Las plantas han desarrollado intrincados mecanismos para disipar o difundir la energía lumínica que absorben. Parte de esta energía es utilizada en la fotosíntesis (difusión fotoquímica-DF), mientras que la restante es disipada mediante la difusión no fotoquímica (DNF) o difusión de la fluorescencia (DFL).

El estrés provocado por altas o bajas temperaturas, muerte, sequía, nutrición inadecuada y demás, reduce la capacidad de las plantas para manejar la difusión de la energía. Por ello, la medición e interpretación de estos tres componentes de difusión con la FC, es posible detectar el daño producido por un estrés fugaz y pasajero, así como un estrés

severo de larga duración. Los tres parámetros importantes de la FC que han sido comúnmente reportados en la literatura de viveros son el DF, DNF y el Fv/Fm.

Las plantas que han sufrido daño o estresadas tienen la capacidad de recuperarse rápidamente, por lo cual es importante medir los parámetros de la FC por un periodo de varios días, seguidos de eventos estresantes, antes de que se pueda llegar a conclusiones acerca del daño en la planta. Si el valor de Fv/Fm se mantiene en niveles bajos, y el DNF alto por varios días, indicará que posiblemente ha ocurrido un daño significativo al sistema fotosintético. Aun así, se requiere de una mayor investigación antes de que la FC pueda considerarse una prueba de calidad a nivel operativo.

7.2.4.5 Contenido de nutrientes minerales

Por intuición, la cantidad de nutrientes minerales que es almacenada en una planta puede ser relacionada con su calidad. Los nutrientes minerales como el nitrógeno y el fósforo suministran los requerimientos para un nuevo crecimiento, por lo que las plantas recién establecidas en campo deberán disponer de los nutrientes almacenados, hasta que puedan lograr establecerse en el sitio. Dado que éstas reflejan el consumo actual de nutrientes minerales, las pruebas sobre el tejido de las plantas son la mejor forma de monitorear un programa de fertilización. Los laboratorios para análisis son capaces de medir con mucha precisión, los niveles de los 13 nutrientes minerales, en una pequeña muestra de tejido de la planta, y los gerentes de viveros pueden disponer de los resultados en una semana. Además, al medir la biomasa de los tejidos a partir de los resultados del laboratorio, puede calcularse la concentración de nutrientes. Los datos pueden entonces ser analizados mediante el uso de diagramas vectoriales para diferencias relativas entre regímenes de fertilización, para una dilución de nutrientes, su toxicidad, suficiencia o deficiencia (Haase y Rose, 1995). Aunque existen guías tentativas para analizar los niveles de nutrientes minerales, éstas son para grupos generales de

especies, como las “plantas de coníferas” (Cuadro 7.2.8), son de uso limitado para monitorear con precisión los programas de fertilización. La mayoría de los resultados de pruebas publicadas son para especies de árboles comerciales, y casi no existen con otras especies de plantas nativas (Landis *et al.*, 2005).

Otro problema es que la correlación entre los niveles de nutrientes del follaje y la supervivencia en campo, no es buena. El asunto es que la planta puede estar severamente estresada o incluso muerta, y mantener sus niveles ideales de nutrientes minerales. Aunque los niveles de nutrientes minerales no son una garantía de vitalidad, los niveles de nitrógeno foliar parecen ser un elemento para predecir el crecimiento después de la plantación (Landis, 1985). Por ejemplo, van den Driessche (1984) encontró una fuerte correlación entre el nitrógeno foliar y el crecimiento del tallo, en plantas de *Picea sitchensis* cuando fueron medidas a los tres años de haberse establecido en campo (Figura 7.2.27A). Esto tiene sentido sólo porque después de que la planta es establecida, ésta requiere de buenas reservas de nitrógeno para reparar cualquier tipo de daño y construir nuevas células. Algunos viveros han establecido niveles máximos de nitrógeno foliar al momento de la cosecha, como un indicador de calidad de planta; por ejemplo, los viveros de la provincia de Quebec especifican un nivel mínimo de nitrógeno foliar para su producción, dependiendo del tamaño del contenedor (Government of Quebec, 2007). Por lo tanto, la mejor recomendación es que los viveros desarrollen sus propios estándares de nutrición foliar, para el conjunto de plantas que producen.

Cuadro 7.2.7 Rangos normales de los parámetros de emisiones de la fluorescencia de la clorofila en plantas C4 (extraído de la literatura)

Parámetro FC	Definición	Descripción	Rango normal	Rango de estrés
Fo	Fluorescencia en su estado normal	Fluorescencia que emana de los pigmentos de la hoja que capturan la luz; generalmente considerada como una fluorescencia de "segundo plano" que llega a cero cuando se mide la fluorescencia de la clorofila en FSII	0.2 a 0.4	>0.7
Fs	Fluorescencia en estado de reposo	Nivel de fluorescencia (algunas veces referido como Ft)		Valor bajo de Ft indica estrés
Fv	Fluorescencia variable	Altura del pico de fluorescencia por encima de Fo seguido de exposición a un pulso de luz actínica (Fv=Fm-Fo)		
Fm	Fluorescencia máxima	Fv+Fo	1.2 a 1.5	
Fv/Fm	(Máximo rendimiento cuántico)	Una estimación de la proporción del mols de carbono fijado por mol de energía lumínica absorbida (Genty <i>et al.</i> , 1989); el valor teórico máximo para la fotosíntesis C ₃ es aproximadamente de 0.83	0.7 a 0.83	< 0.6
Y	Rendimiento efectivo)	cuántico (Fm-Fs)/Fs	0.4 a 0.6	0.1 a 0.2
DNF	Difusor no fotoquímico	Disipación de la energía lumínica absorbida por otros medios diferentes a la fotosíntesis (principalmente como calor sensible)	0.4 a 0.6	Valores prolongados > a 0.6
DF	Difusor fotoquímico	Uso de energía lumínica absorbida vía la fotosíntesis	0.7 a 0.8	Valores prolongados < a 0.6
TTE (a pleno sol)	Tasa de transporte de electrones	Velocidad a la cual los electrones son transportados a través del fotosistema	< 300 μmol Electrones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$	

Cuadro 7.2.8. Concentraciones ideales para los nutrientes minerales esenciales en el follaje, de la producción de coníferas en vivero (modificado de Landis, 1985).

Nutriente	Símbolo	Rango aceptable
Macronutrientes (%)		
Nitrógeno	N	1.3 a 3.5
Fósforo	P	0.2 a 0.6
Potasio	K	0.7 a 2.5
Calcio	Ca	0.3 a 1.0
Magnesio	Mg	0.1 a 0.3
Azufre	S	0.1 a 0.2
Micronutrientes (ppm)		
Hierro	Fe	40 a 200
Manganeso	Mn	100 a 250
Zinc	Zn	30 a 150
Cobre	Cu	4 a 20
Boro	B	20 a 100
Molibdeno	Mo	0.25 a 5.00
Cloro	Cl	10 a 3,000

Las últimas investigaciones de las relaciones entre los niveles de nutrición de las plantas y su desempeño en la plantación, involucra un concepto denominado "carga de nutrientes" con nitrógeno. La idea es que "supercargando" a una planta con nitrógeno, le ayudará a sobrevivir y tener mejor crecimiento en el sitio de plantación, donde los nutrientes minerales son comúnmente limitados. La carga de nutrientes implica la fertilización de las plantas durante la fase de endurecimiento, hasta que su contenido de nitrógeno se encuentre en el área de consumo de lujo, de la curva de crecimiento (Figura 7.2.27B). Este proceso ha sido exitoso con *Picea mariana* en sitios que presentan una alta competencia vegetal, tal como fue narrado por Timmer y sus asociados (por ejemplo, Timmer, 1997). El concepto de la carga de nutrientes con nitrógeno es ciertamente atractivo, y se espera que esta técnica sea

probada con un mayor número de especies en una amplia variedad de sitios de plantación (Landis *et al.*, 2005). Deberán también ser investigados los posibles problemas con el incremento de la depredación animal, y la baja resistencia al frío.

7.2.4.6 Reservas de carbohidratos

Parece lógico que la cantidad de alimento almacenado como carbohidratos en la producción del vivero puede ser un buen indicador de planta de calidad. Después de su establecimiento en campo, las plantas deben valerse de ese “alimento” almacenado para estimular nuevo crecimiento hasta que éstas pueden reiniciar el proceso fotosintético. Marshall (1983) proporciona una excelente reseña de los carbohidratos en las plantas, y presenta una buena comparación de cómo los carbohidratos almacenados podrían usarse en dos diferentes tipos de plantas. La planta 1 contiene niveles adecuados cuando es cosechada, aunque los carbohidratos son consumidos gradualmente durante su almacenamiento; posterior a su plantación se usan aún más hasta que la planta logra su establecimiento, y genera nuevos carbohidratos mediante la fotosíntesis (Figura 7.32.28A). Las plantas que sufrieron estrés o daños usarán más carbohidratos para reparar el tejido y promover la recuperación metabólica. De hecho, se descubrió que la reserva de carbohidratos influye en el crecimiento de la producción del vivero, por hasta 2 años después de la plantación (Ronco, 1973).

Desafortunadamente, los ensayos de investigación no han mostrado que las reservas de carbohidratos puedan ser un buen elemento para predecir la calidad de la planta, y se ha hecho muy poco con planta de vivero producida en contenedor. Por ejemplo, se evaluaron las reservas de carbohidratos en plantas de *Pinus sylvestris* producidas a raíz desnuda, como un indicador de la calidad de planta, y los resultados siguieron la tendencia general mostrada en la Figura 7.2.28A. Cuando las reservas cayeron por debajo del 2% de glucosa total durante el almacenamiento, se

presentó una mortandad importante (Figura 7.2.28B). El autor concluyó que las dificultades para medir las concentraciones de carbohidratos y la dinámica del metabolismo de los carbohidratos, vuelven a estas pruebas de reservas de carbohidratos, imprácticas para su uso a una escala operativa, como un índice de calidad de planta (Puttonen, 1986).

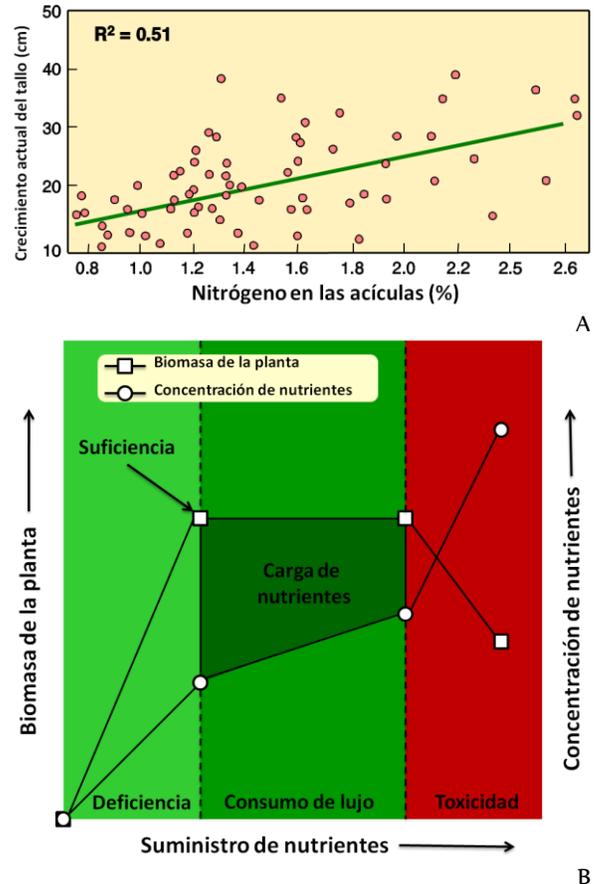


Figura 7.2.27. La concentración de nitrógeno en el follaje (N) demostró ser un buen elemento para predecir el crecimiento del tallo en plantas de *Picea sitchensis*, cuando se midió a los 3 años después de haber sido establecida en campo (A). La “carga de nutrientes” en plantas de coníferas con altos niveles de nitrógeno (B), demostró ser de beneficio en sitios de plantación húmedos donde existe una alta competencia vegetal (A, modificado de van den Driessche, 1984; B, modificación de Timmer, 1997).

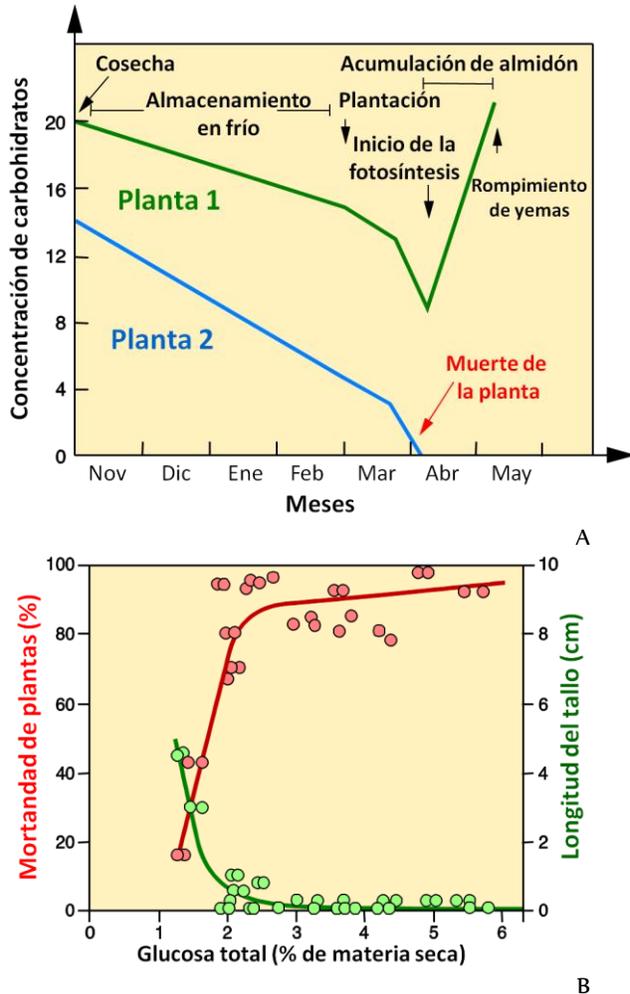


Figura 7.2.28. Las plantas de vivero consumen una gran cantidad de sus carbohidratos acumulados desde el momento de la cosecha, durante su almacenamiento y hasta el momento de la plantación. La Planta 1 tenía suficientes reservas y sobrevivió hasta que fue establecida en campo, reponiendo los carbohidratos mediante la fotosíntesis. La Planta 2 comenzó con un inadecuado almacenamiento de carbohidratos y murió poco después de haber sido plantada (A). Con plantas de *Pinus sylvestris*, la mortandad se incrementó y el crecimiento del tallo disminuyó después de su plantación, cuando los niveles de glucosa total cayeron por debajo del 2% (B) (A, modificado de Marshall, 1983; B, modificado de Puttonen, 1986).

Al medir los atributos de desempeño debe pensarse como un “bio-ensayo” que integra el funcionamiento del sistema de la planta en su totalidad, en una variable de desempeño. Aunque éstos son con frecuencia indicadores robustos del potencial de desempeño de la

planta, éstos no identifican qué es específicamente lo que anda mal cuando el potencial de desempeño es bajo. Además, éstos tienen la desventaja de consumir mucho tiempo para medirlos directamente, lo cual limita su utilidad para los productores de planta y sus consumidores.

7.2.5 Atributos de desempeño

7.2.5.1 Dormancia de la yema

La idea de que la calidad de la planta producida en vivero está relacionada con su estado de dormancia, está fuertemente arraigada en la mente de los viveristas y los usuarios de la planta, especialmente los forestales. Sin embargo, cuando se les pide que expliquen esta relación y por qué es tan importante, muy pocos son capaces de expresar una visión clara de lo que significa la dormancia, cómo opera, o cómo afecta a la calidad. Por ello se intentará discutir este importante concepto, haciendo la aclaración que la intensidad de la dormancia puede variar entre especies y ecotipos. En particular, las plantas que crecen en altas latitudes y altitudes, mostrarán un estado de dormancia más fuerte que aquéllas de bajas latitudes y altitudes.

El concepto de dormancia. La dormancia es uno de los conceptos más antiguos en la fisiología. Los viveristas han aprendido mediante prueba y error que las plantas pueden ser trasplantadas y establecidas en campo de forma más exitosa, cuando éstas no se encuentran creciendo activamente. En las zonas templadas, esto se presenta durante el invierno, por lo que los viveros cosechan de manera tradicional en esta época. El concepto de la “época de cosecha” fue desarrollado por la salida de las plantas del vivero y su establecimiento en campo, desde finales del otoño hasta el inicio de la primavera, midiendo su supervivencia y crecimiento (Jenkinson *et al.*, 1993). Estos ensayos apoyaron la práctica tradicional de la cosecha durante mediados del invierno, por lo que la gente interpretó estos resultados para entender que las plantas están “dormidas” durante este periodo. Sin embargo, tal como se mostrará, este concepto de un pico máximo de dormancia a mediados del invierno no es correcto.

Definición de dormancia. La dormancia (o latencia) puede ser ampliamente definida como el estado de mínima actividad metabólica, o cualquier momento en el que el tejido de la

planta está predispuesto a crecer, pero no lo hace (Lavender, 1984). En otras palabras, la dormancia es la condición en la cual el crecimiento de la planta – la división y expansión celular – no se presenta. En la horticultura, la dormancia puede referirse a la dormancia de la semilla o de la planta. En la literatura, la dormancia de la planta ha sido estudiada mucho menor que la dormancia de la semilla, pero la dormancia de la planta es lo que nos interesa.

Son reconocidos dos tipos de dormancia en las plantas:

Dormancia externa, también conocida como “quiescencia”, se presenta cuando las condiciones ambientales (por ejemplo, un estrés hídrico severo) no ayudan al crecimiento (Lavender, 1984). Las plantas mostrarán una dormancia impuesta, retomando su crecimiento cuando mejoran estas condiciones desfavorables (cuando llueve).

Dormancia interna, o “dormancia profunda” es una condición en la cual las plantas no retoman su crecimiento hasta que éstas hayan experimentado un largo periodo de exposición a bajas temperaturas (Perry, 1971). Esta condición es también denominada “reposo invernal”. En este capítulo se discutirá la dormancia profunda y como esta condición fisiológica afecta las prácticas culturales en el vivero y el éxito de la plantación.

La dormancia se refiere a los tejidos, no a la planta en su totalidad. En el argot coloquial nos referimos a que las plantas o incluso, que la totalidad del cultivo está bajo dormancia. Mientras ésta sea una terminología común, es muy importante entender que la dormancia de la planta se refiere a un tejido meristemático específico, comúnmente las yemas (Figura 7.2.29). En la misma planta, las yemas pueden estar en latencia mientras que los meristemos laterales pueden no estarlo. Los meristemos de

la raíz en realidad nunca entran en dormancia y crecerán en cualquier momento cuando las condiciones ambientales, especialmente la temperatura, sean favorables. Dado que nuestra preocupación son las pruebas de calidad, se discutirá la dormancia de la yema, la cual se observa con más claridad en el comportamiento de las yemas terminales.

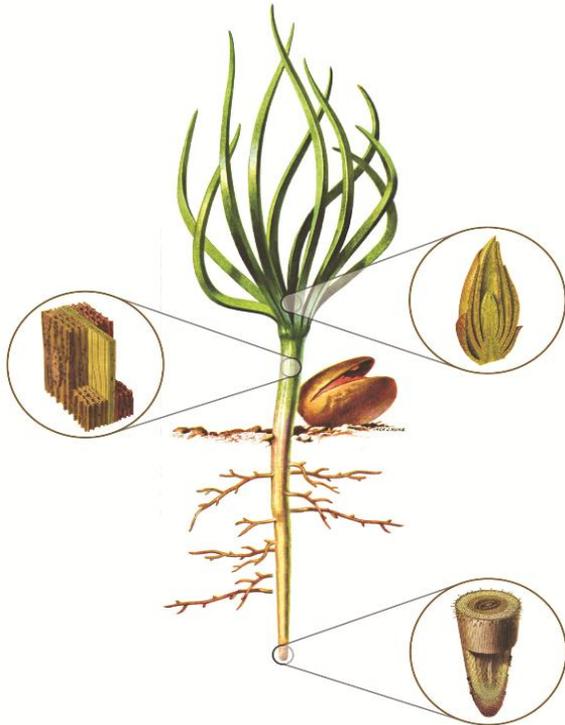


Figura 7.2.29. La dormancia se refiere a la actividad de los tejidos meristemáticos: yemas, meristemos laterales en el tallo, y las puntas de la raíz. En el contexto normal de la calidad de la planta, la dormancia de la yema es la preocupación principal.

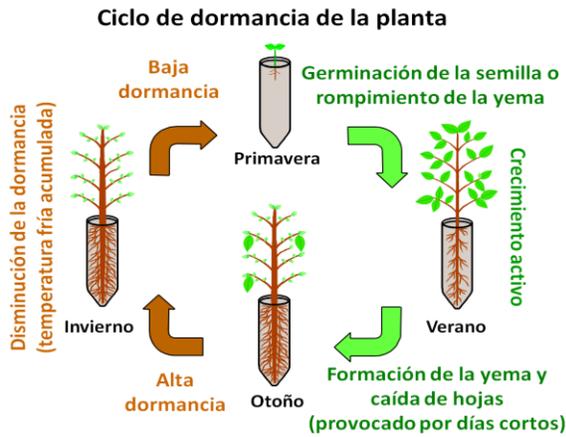
El ciclo de la dormancia. Las plantas perennes que crecen en regiones templadas muestran un marcado “ciclo de dormancia” estacional (Figura 7.2.30A). Durante la primavera, conforme incrementa la duración del día y la temperatura, las yemas de las plantas comienzan a mostrar un incremento dimensional, el cual se refleja tanto en la división celular, como en la expansión – en otras palabras, éstas inician su crecimiento. El crecimiento del tallo se mantiene durante la primavera y el verano. En el verano, a medida que la longitud del día (fotoperiodo) comienza a decrecer, el incremento de la longitud en el periodo de obscuridad es percibido por el

sistema fitocrómico en las hojas, como una señal de iniciar la preparación para el invierno. A este punto el crecimiento del tallo disminuye, y las yemas del invierno están listas para su desarrollo (Burr, 1990). A inicios del otoño algunas plantas forman una yema latente y muestran otros cambios morfológicos, tales como variaciones en el color de las hojas, la abscisión en la producción de especies de madera dura (Figura 7.2.30A), incremento de agujas cerosas en las hojas de las coníferas (Figura 7.2.30B) y la coloración púrpura de las acículas en otras plantas. Sin embargo, estos cambios visuales no deben ser considerados como prueba de dormancia, debido a la presencia de fuertes variaciones entre individuos del mismo lote de semillas (Figura 7.2.30C). En un estudio con plantas de *Pinus sylvestris* no pudo desarrollarse una relación de predicción entre el follaje púrpura y los resultados de las pruebas de resistencia al frío (Toivonen *et al.*, 1991).

El requerimiento de horas frío. A finales del verano las yemas de las plantas entran a la condición de una dormancia impuesta. Conforme el verano da paso al otoño, la dormancia impuesta gradualmente da paso a la dormancia profunda y las yemas alcanzan su latencia máxima a finales del otoño (Figura 7.2.30A). Tal como se ha mencionado, la dormancia se da por la exposición de las plantas a un periodo prolongado de bajas temperaturas; esto es conocido como requerimiento de “horas frío” y es detectado por las yemas. Esta adaptación evolutiva asegura que las plantas no reanuden el crecimiento del tallo (rompimiento de yema) durante una onda de calor de mediados del invierno, sólo para morir cuando retorne el clima frío. Una vez que se han satisfecho las horas frío, las temperaturas cálidas de la primavera y, en menor medida, la ampliación del fotoperiodo, detonarán y mantendrán la reanudación del crecimiento del tallo (Campbell, 1978). Aunque las temperaturas en un rango de 3 a 5 °C (37 a 41 °F) son más eficientes para liberar la dormancia de la yema (Anderson y Seeley, 1993), temperaturas por

arriba y debajo de este rango también son efectivas a un menor grado (Figura 7.2.31).

Hortelanos y horticultores han desarrollado modelos para predecir la fecha de la apertura de la yema de la flor, en cultivos sensibles al frío tales como los duraznos (ver, por ejemplo, Richardson *et al.*, 1974). Estos modelos toman en cuenta la eficiencia de las horas frío y el hecho de que las interrupciones cálidas durante finales del otoño pueden obstaculizar algo del frío, que pudo haberse presentado en este tiempo. Sin embargo, en los viveros forestales y de conservación es comúnmente utilizado un proceso simple para calcular la suma de frío o el total de horas frío. Los detalles son dados en la siguiente sección.



A

B



C

Figura 7.2.30 Las yemas de las plantas perennes de zonas templadas, incluida la producción de los viveros forestales y de conservación, experimentan un ciclo estacional de crecimiento del tallo y dormancia. Observe que el punto máximo de latencia se presenta a finales del otoño, en lugar de mediados del invierno como comúnmente se cree, y que la dormancia se libera por la exposición acumulada al frío ("requerimiento de horas frío"). Algunas plantas en estado latente muestran cambios morfológicos: yemas de invierno duras, y acículas azuladas debido a los depósitos cerosos (B), y follaje púrpura en otras especies. Debido a la variación extrema entre individuos (C), este cambio de color no debe ser usado para predecir la dormancia.

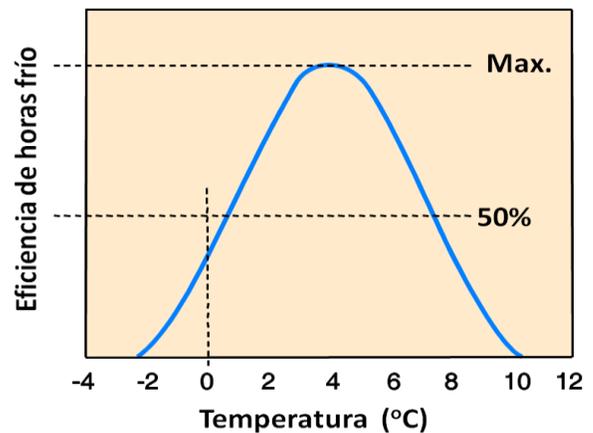


Figura 7.2.31 La temperatura fría y su eficacia para romper la dormancia de la yema (modificado de Anderson y Seeley, 1993). Observe que la temperatura en el rango de almacenamiento refrigerado (-1 a 1 °C [30 a 33 °F]), libera la dormancia muy lentamente.

Medición de la dormancia. Dada la gran importancia de medir la dormancia para el manejo del vivero, se han realizado múltiples intentos para desarrollar una forma simple de medirla. Como se discutirá a continuación, este objetivo ha sido difícil de alcanzar.

Medidores de dormancia. En los años 1970, los investigadores observaron que los cambios en la resistencia eléctrica de los tejidos de las plantas, proporcionaron una forma útil para determinar si los tejidos estaban dañados o muertos. Basándose en estas observaciones, construyeron un “medidor de dormancia” (Figura 7.2.32), con el objetivo de cuantificar la dormancia durante el otoño y comunicarle a los viveristas cuando era seguro cosechar la producción. Desafortunadamente, pruebas posteriores mostraron que estos medidores no eran confiables (Timmis *et al.*, 1981). La idea de una simple “caja negra” para evaluar la calidad sigue siendo atractiva, pero sigue siendo dudoso que un equipo o técnica sea capaz de medir en forma instantánea la dormancia de la yema.



Figura 7.2.32 El “medidor de dormancia” fue un intento simple y fácil para determinar cuándo es que las plantas están listas para la cosecha. La prueba operativa demostró que tales aparatos no eran del todo confiables.

Horas frío. Es el método más fácil y práctico para estimar la intensidad de la dormancia de la yema, y está basado en el requerimiento de las horas frío que se acaba de discutir. Las horas frío tienen una aplicación inmediata ya que pueden ser usadas para determinar la época de cosecha o para monitorear la dormancia de la yema, a medida que ésta se

debilita en el invierno. El concepto es lo suficientemente lógico: la exposición acumulada de las plantas a temperaturas frías controla la liberación de la dormancia. Por ello, al medir la duración de esta exposición, es posible estimar de forma indirecta la intensidad de la dormancia.

En la práctica se usan las horas frío o días con un grado de endurecimiento (DGE). El proceso implica medir diariamente la temperatura y calcular la cantidad de tiempo por debajo de una temperatura de referencia. Este método, utilizado algunas veces en los viveros forestales y de conservación, consiste en contar el número de horas durante las cuales la temperatura del aire es, o está, por debajo de un valor umbral, tal como 5°C (42°F) (Richie *et al.*, 1985). Las temperaturas de referencia variarán con la ubicación del vivero y las especies; por ejemplo, una temperatura de 8°C (46°F) ha sido utilizada para pinos del sur (Grossnickle, 2008). Un método breve es registrar diariamente las temperaturas máximas y mínimas, promediarlas y restar este promedio a la temperatura base. Considere que cuando se calcula la suma de horas frío sólo se registran valores negativos (Cuadro 7.2.9).

Prueba del rompimiento de la yema. Entre mayor sea la dormancia de una planta, las yemas terminales retomarán su crecimiento más lentamente (rompimiento), bajo condiciones ideales de crecimiento. Este fenómeno forma la base de la única forma directa de medir la intensidad de la dormancia – la prueba de rompimiento de la yema. Teniendo acceso a un invernadero u otras estructuras para promover el crecimiento, que puedan mantener durante el invierno condiciones ideales de crecimiento, la intensidad de la dormancia en la producción del vivero puede ser medida mediante la observación de los días para el rompimiento de la yema (DRY), en este ambiente “forzado”.

El procedimiento es relativamente simple. Desarrolle plantas a un tamaño transportable, y a finales del verano endurezcalas hasta una condición de dormancia total, mediante su

exposición a condiciones ambientales. Para inicios del otoño las plantas habrán formado comúnmente la dormancia de la yema y mostrarán otros cambios morfológicos, como el cambio en el color del follaje, la abscisión en la producción de madera dura (Figura 7.2.30 C), y el incremento ceroso de las hojas en las coníferas (Figura 7.2.30 B). Coloque un dispositivo para registrar la temperatura a la altura de la planta y verifique estas temperaturas al menos una vez a la semana, para calcular la cantidad de horas frío (Cuadro 7.2.9).

Coloque los controles ambientales dentro del invernadero de prueba, a fin de mantener condiciones forzadas de primavera, con días cálidos, noches frías y generación de largos fotoperiodos mediante el uso de luz fotoperiódica. Después, a finales de octubre (fecha de Halloween), extraiga una muestra de plantas, enváselas, etiquételas y colóquelas en un invernadero de condiciones forzadas. Manténgalas irrigadas y contabilice el número de días requeridos por las yemas terminales para retomar su crecimiento – esto es, DRY. Repita este proceso en cada fecha de festividad importante: a finales de noviembre (Día de Acción de Gracias), finales de Diciembre (Navidad), inicios de enero (Año Nuevo), mediados de febrero (Día de San Valentín) y mediados de marzo (día de San Patricio). Inicie en septiembre con la primera muestra, realice

un seguimiento de la suma de horas frío, es decir, aquellas horas en que la temperatura fue de 5°C (41°F) o menor, durante el periodo de prueba.

Una vez terminado este proceso, grafique los valores de DRY sobre las horas frío. El número de días requeridos para que las yemas terminales se rompan, es la medida directa de la intensidad de la dormancia. (Nota: las plantas de finales de octubre pudieran nunca llegar a romper la yema). Es muy probable que los resultados se parezcan a los mostrados en el Figura 7.2.33, los cuales corresponden a la especie *Pseudotsuga menziesii* de la costa occidental en los estados de Washington y Oregón (Ritchie, 1984a), los cuales concuerdan con la curva propuesta por Lavender (1984). Conforme se acumulaban las horas frío durante el invierno, los días para romper las yemas se disminuirán de manera impresionante. Experimentos similares con numerosas especies arbóreas, incluyendo varias latifoliadas (Abedul, Corno, *Crataegus* y Robles), que han producido resultados similares (Sorensen, 1983; Lindqvist, 2000). Una vez que esta curva se haya desarrollado para usarse en un vivero, ésta puede aplicarse posteriormente para estimar la intensidad de la dormancia de determinadas especies, y de las áreas semilleras, directamente de la suma de horas frío.

Cuadro 7.2.9. Un ejemplo de cómo calcular la suma de horas frío utilizando los grados de cada día, calculando el promedio de las temperaturas máximas y mínimas, a una temperatura base de 4.5°C (40°F).

Día	Temperatura base (°F)	Temperatura diaria (°F)			Grados por día	Suma de horas frío
		Máxima	Mínima	Promedio		
Uno	40	40	20	30	10	10
Dos	40	45	35	40	0	10
Tres	40	50	40	45	0	10
Cuatro	40	40	30	35	5	15

Partiendo de este experimento queda claro que la intensidad de la dormancia de la yema es muy alta en el otoño y que cae de manera repentina a principios del invierno, contrariamente con la falsa creencia muy común, por cierto, de que la latencia más profunda ocurre a mitad del invierno, cuando las plantas son más resistentes al estrés. Además, esta prueba ilustra que no existe un simple “requerimiento de horas frío” para cualquier especie. Más bien, hay una relación curvilínea entre las horas frío y la dormancia en la que a mayor frío, bajo condiciones forzadas, más rápido será el rompimiento de la yema. Por ejemplo, plantas de *Pseudotsuga menziesii* con solamente 800 horas de exposición al frío, eventualmente romperán la yema, aunque no tan rápido como aquellas expuestas a 2,000 horas frío (Figura 7.2.33).

Cálculo del índice de liberación de dormancia. Ahora que DRY para cierto cultivo puede ser estimado mediante la suma de horas frío, ¿Cómo se utiliza esta información? Si los DRY se tomaron de un grupo de plantas de *Pseudotsuga menziesii* que fueron liberadas completamente de su latencia (es decir, que el requisito de horas frío se cumplió en su totalidad), las yemas romperán en aproximadamente 10 días. Tomando este número como un denominador, se puede calcular un índice que exprese la intensidad de la dormancia en una escala lineal:

$$\text{Índice de liberación de dormancia (ILD)} = \frac{10}{\text{DRY}}$$

DRY son los días que tarda la yema en romperse de un grupo de plantas evaluadas, como fue descrito en el experimento antes mencionado.

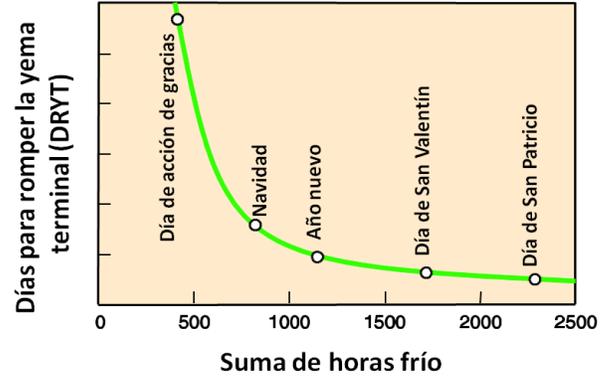


Figura 7.2.33 La única prueba confiable para la determinación de la intensidad de la dormancia de la yema es la prueba del rompimiento de la yema, la cual puede ser desarrollada mediante la cosecha de plantas a intervalos regulares durante finales del otoño e invierno, moviéndolas después a un invernadero. A medida que rompen la yema, el número de días para realizar esta acción (DRY) es graficado contra la suma de horas frío para cada fecha de cosecha. Los datos mostrados son típicos de las plantas de *Pseudotsuga menziesii* (modificado de Ritchie, 1984a).

Las yemas en su máximo estado latente tienen un valor del ILD cercano a cero (por ejemplo, $ILD = 10/300 = 0.03$). A medida que la dormancia se debilita, el ILD se acerca a 1 (por ejemplo, $ILD = 10/15 = 0.67$). Esta relación se muestra en el Figura 7.2.34. El ILD es útil porque éste transforma la relación curvilínea que existe entre la intensidad de la dormancia y la suma de horas frío, a una forma lineal más útil. Esta regresión lineal puede ser usada como un punto de partida y como una escala común, para comparar los lotes de plantas de una cierta especie en particular.

McKay y Milner (2000) desarrollaron una variante a este planteamiento: estimaron el ILD, contando los días necesarios para que se rompiera el 50 % de las yemas terminales en *Picea sitchensis*, *Pseudotsuga menziesii*, *Larix kaempferi* y *Pinus sylvestris*. Los resultados que obtuvieron son muy parecidos a los de la Figura 7.2.34. El IRY ha sido particularmente útil como un indicador de la resistencia de la planta al estrés – un atributo clave de desempeño. Sobre esta relación y de cómo se ha usado se hablará ampliamente en la Sección 7.2.5.2.

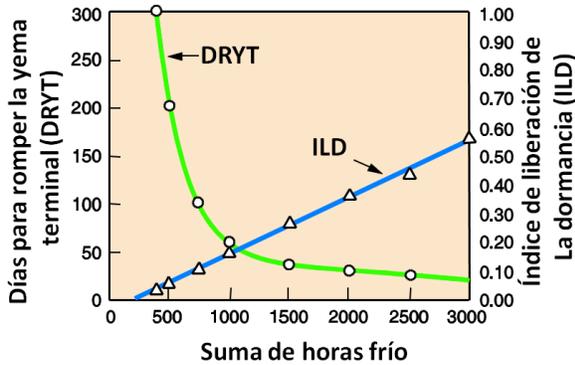
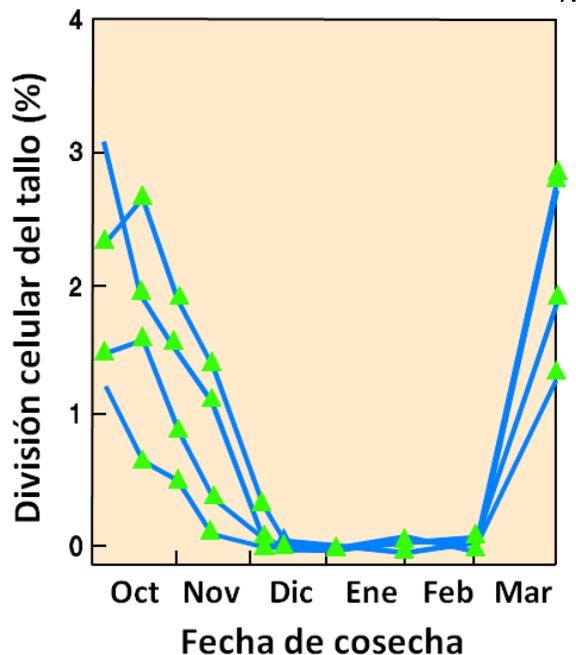
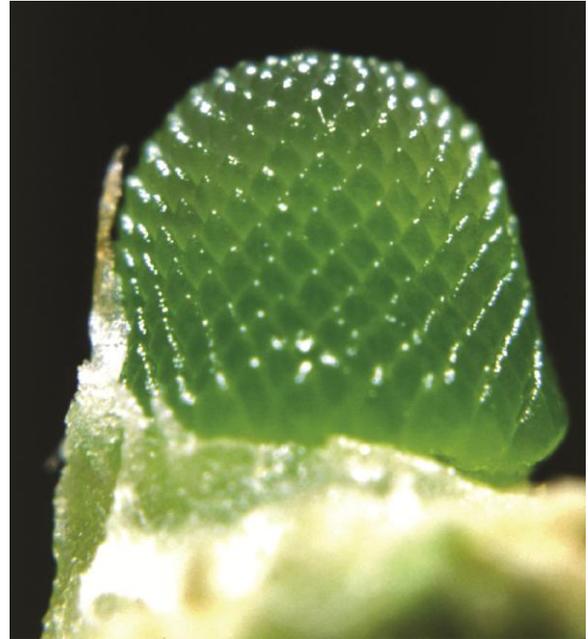


Figura 7.2.34 Debido a que los días para el rompimiento de la yema (DRYT) sobre la suma de horas frío es una relación curvilínea, es útil convertirla a un índice lineal de la liberación de la dormancia (ILD). En este ejemplo, $ILD=10/DRYT$ debido a que las plantas de *Pseudotsuga menziesii* retoman su crecimiento (rompimiento de la yema) en 10 días, cuando sus requerimientos de horas frío han sido completamente satisfechos. (modificado de Ritchie, 1984a).

Medición del índice mitótico. En nuestra definición de dormancia, hemos enfatizado que la dormancia se refiere sólo a las yemas, o a otros meristemos de la planta (Figura 7.2.29). Se han desarrollado técnicas de laboratorio para medir el número de células meristemáticas que se están dividiendo en un momento dado (Figura 7.2.35A). Aunque en un principio estas medidas fueron usadas con propósitos de investigación, con ellas también se ilustran los patrones de dormancia.

Por ejemplo, las puntas del final de los tallos y de las largas raíces de plantas de *Pseudotsuga menziesii* producidas a raíz desnuda, fueron extirpadas y después de examinar las células meristemáticas con un microscopio de 400X, se calculó el índice mitótico (O'Reilly *et al.*, 1999). Los resultados indicaron que la actividad de la yema terminal muestra un patrón estacional muy definido; la división celular se reduce gradualmente durante el otoño y se detiene completamente en el invierno. Con temperaturas más cálidas y días más largos a finales del invierno y principios de la primavera, la división celular aumenta rápidamente (Figura 7.2.35B). Lo anterior es un contraste directo a los patrones de actividad del meristemo de la raíz, mostrando que las raíces nunca están verdaderamente inactivas,

aunque crecerán cuando las temperaturas del suelo lo permitan (Figura 7.2.35C). Aunque es muy útil para los investigadores, esta prueba consume mucho tiempo para ser utilizada de manera operativa.



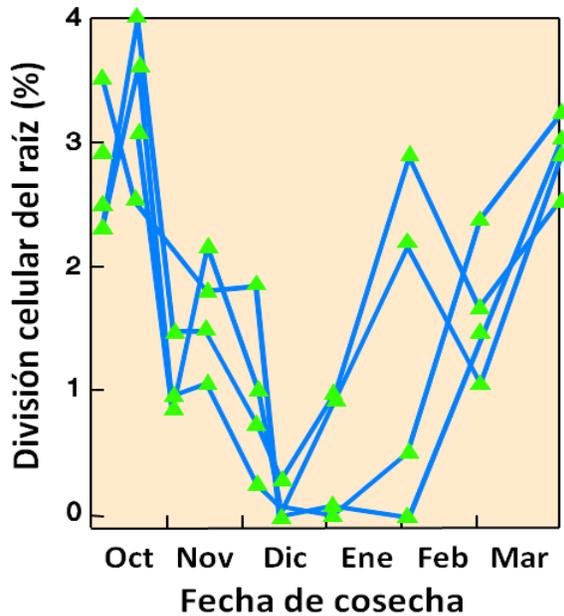


Figura 7.2.35 La medición del grado de división celular en las yemas (A) es una medición de la dormancia realizada en laboratorio. La actividad del tallo durante 4 años muestra un patrón característico de inactividad durante el invierno (B), pero las raíces (C) continúan su crecimiento cuando las condiciones son favorables (modificado de O'Reilly *et al.*, 1999).

Tamaño y desarrollo de la yema. Aunque ni el tamaño ni el desarrollo de la yema son por sí mismos indicadores de la intensidad de la dormancia, estos tradicionalmente han sido vistos por los viveristas como indicadores de la calidad de planta. Por ejemplo, el Ministerio de Recursos Naturales de Ontario desarrolló un protocolo para medir el tamaño de la yema, como parte de una primera prueba de calidad. En el proceso se cortaban las yemas por la mitad y se contaba el número de primordios de las acículas. Al final de la fase de endurecimiento, el bajo número de primordios se interpretaba como condiciones estresantes e incremento de la susceptibilidad de sufrir lesiones durante el invierno. Contrariamente, los lotes de semillas que tuvieron yemas con gran número de primordios, fueron clasificados como de alta calidad (Colombo *et al.*, 2001).

Dormancia: resumen. Aunque el término “dormancia de las plantas” es común en el léxico de los viveros, la dormancia se refiere únicamente al tejido meristemático del tallo:

yemas y el cambium lateral. La dormancia de la yema ha sido estudiada con mayor intensidad y es de mucho interés para los viveristas y sus usuarios.

El cultivo en los viveros forestales y de conservación, así como de todas las plantas perennes, son sometidas a ciclos anuales de actividad. A finales del verano, el acortamiento del fotoperiodo provoca que las plantas inicien el proceso de dormancia de la yema, el cual culmina a finales del otoño. Esta condición es conocida como dormancia profunda, y puede ser liberada mediante la exposición a periodos de bajas temperaturas. Este proceso es conocido como el cumplimiento del requerimiento de horas frío, y las temperaturas en el rango de 3 a 5°C (37 a 41°F) son más eficientes. Para mediados del invierno, el requerimiento de horas frío se ha cumplido y se presentará el rompimiento de yemas cuando las temperaturas lo permitan.

Desafortunadamente la dormancia de la yema no puede ser medida rápida o fácilmente. El único método confiable es llevar a cabo la prueba de rompimiento de yemas mediante la colocación de muestras de plantas, dentro de un invernadero forzado, a intervalos regulares durante el invierno, y registrando los días requeridos para que las yemas logren el rompimiento (DRY). Después de que se ha desarrollado la relación entre DRY y las horas frío para un vivero en particular, ésta puede ser utilizada para establecer la época de cosecha y para estimar la intensidad de la dormancia de los cultivos en los inviernos siguientes.

Un índice útil de la intensidad de la dormancia, es decir, el índice de liberación de dormancia hace que la información de DRY sea más práctica al convertir los datos en una línea recta.

Aunque se carece de una prueba rápida para la dormancia de la yema, ésta puede ser estimada a partir de la relación conocida entre las horas frío y la intensidad de la dormancia la cual es medida mediante DRY. Los viveros pueden medir el requerimiento de horas frío para sus

propios cultivos, y utilizar esta información para monitorear la liberación de la dormancia de la yema.

7.2.5.2 Resistencia al estrés

En la sección previa se indicó que la dormancia está estrechamente relacionada con la resistencia al estrés (RE). Desde un punto de vista operacional se presentan algunas técnicas que los viveristas pueden usar para estimar la relativa RE de un cultivo en cualquier momento, durante el proceso de la cosecha a la plantación.

El concepto de la resistencia al estrés. Las plantas están sometidas a una variedad de factores de estrés (mecánicos, exposición de raíces, manejo rudo, y desecación, por nombrar algunos), desde el momento en que son cosechadas en el vivero hasta que éstas son plantadas. Los viveristas usan una variedad de técnicas culturales comúnmente denominadas “endurecimiento”, para preparar su cultivo que le permita tolerar estos factores de estrés. Al darse cuenta de su importancia y aplicaciones prácticas, los fisiólogos de plantas han venido estudiando la RS por al menos 40 años.

Hermann (1967) determinó que la RS estaba relacionada con la función del sistema radical en los cultivos a raíz desnuda, mientras que Lavender (1984) determinó que la RS varía estacionalmente, alcanzando su máximo a mediados del invierno, después de que la intensidad de la dormancia de la yema comenzó a declinar (Figura 7.2.36). Los datos para esta curva estacional provienen principalmente de ensayos en plantaciones, razón por la cual éstos corresponden exactamente con la época de cosecha tradicional de mediados del invierno.

Es claro que los viveristas quieren maximizar la RS en sus cultivos y mantener esta condición hasta que ellos estén transportando la planta hacia los consumidores para su plantación, o para ser trasplantadas de vuelta en un vivero. Pero ¿cómo pueden ellos medir o estimar la RE y cómo ellos deben cultivar su producción para obtener una máxima RE?

Medición de la resistencia al estrés. Una forma fácil y rápida de medir la RS de la producción del vivero sería una herramienta invaluable, y ha habido muchos intentos para desarrollar una prueba que permita comprobar este importante aspecto de calidad.

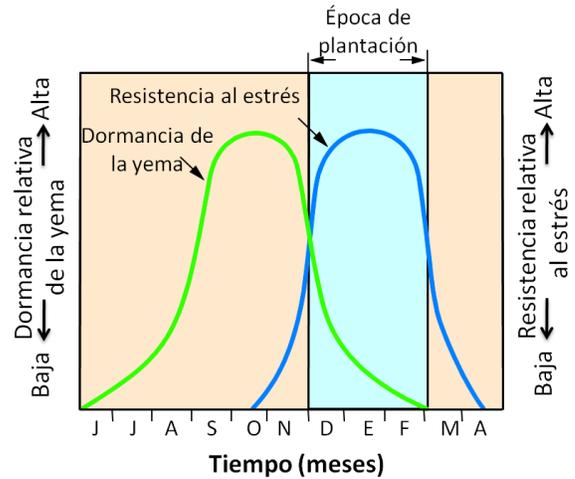


Figura 7.2.36 Esta clásica ilustración muestra que la dormancia de la yema y la resistencia al estrés siguen una trayectoria similar en forma de campana, aunque ocurren en tiempos diferentes. Comparando la época de cosecha tradicional de mediados del invierno muestra que la resistencia al estrés es el mejor indicador de cuándo se debe cosechar (época de cosecha) y cuándo deben almacenarse los cultivos (modificado de Lavender, 1984).

Pruebas de estrés. Durante los años 1970 y 1980, fueron realizados varios intentos para desarrollar pruebas rápidas de RE. Por ejemplo, una prueba de estrés fue desarrollada en la Universidad Estatal de Óregon (McCreary y Duryea, 1984) la cual consistió en cosechar plantas, envasarlas y exponerlas a condiciones estresantes, principalmente una alta temperatura, baja humedad relativa y bajo contenido de humedad del suelo. Después de un tiempo predeterminado, las plantas fueron trasladadas a un invernadero y después de varias semanas, fueron evaluadas en cuando a supervivencia, crecimiento de la raíz, rompimiento de yemas y otros indicadores de vigor (Figura 7.2.37). A pesar de haber logrado algunos resultados preliminares prometedores, los alcances de literalmente, cientos de tales pruebas, demostraron su dificultad para

interpretarlas además de no ser muy replicables. En consecuencia, estas pruebas de calidad fueron abandonadas.

Otro método más preciso y más elaborado para medir la RE, aunque consume mucho tiempo, implica un procedimiento similar para probar la resistencia al frío (Ritchie, 1986). Éste consiste de tres etapas secuenciales:

1. Exposición de las plantas a un tratamiento de estrés controlado. Los tratamientos de estrés más comúnmente utilizados emplean algún tipo de trauma controlado al sistema radical. Esto puede consistir en su exposición a altas o bajas temperaturas, sequía prolongada o una simulación de manejo rudo, como dejarlas caer o aventarlas.
2. Establecimiento de las plantas estresadas en un ambiente natural donde su crecimiento responda al tratamiento y éste pueda ser expresado. Por “natural” se debe entender que las plantas deben crecer en el suelo y ser expuestas al aire libre, aunque deben ser capaces de expresar el crecimiento potencial sin confundir los efectos de haber sido dañadas por animales, por un estrés hídrico o competencia por malezas. Las camas de crecimiento a raíz desnuda que son irrigadas regularmente y libres de malezas, son ideales. Las plantas a evaluar son colocadas a lo largo en bloques replicables, con controles (plantas) sin estrés, de tamaño inicial similar y de la misma procedencia o familias.
3. Evaluación del impacto de los tratamientos de estrés mediante la comparación de las plantas estresadas con los controles, después de un periodo de tiempo determinado, comúnmente una estación completa de crecimiento. Las evaluaciones pueden ser tan simples como medir el crecimiento del tallo, o tan complicadas como la destrucción total de la muestra y medir la biomasa total. Se ha encontrado que la remoción del tallo de la planta y determinar su peso seco es una buena base de comparación. En este enfoque, la RE es

caracterizada como la diferencia del crecimiento entre las plantas estresadas y los controles sin estrés. Una forma útil de expresar esta diferencia numéricamente, es mediante el cálculo del Índice de Daño por Estrés (IDE), usando el crecimiento del tallo en el primer año de las plantas estresadas (P_E) y de las no estresadas (P_C):

$$IDE = 100 - (P_E/P_C \times 100)$$

El IDE expresa el porcentaje de reducción del crecimiento máximo resultante del daño por estrés, por lo tanto, a menor valor mayor será la resistencia al estrés de las plantas evaluadas (Ritchie *et al.*, 1985).

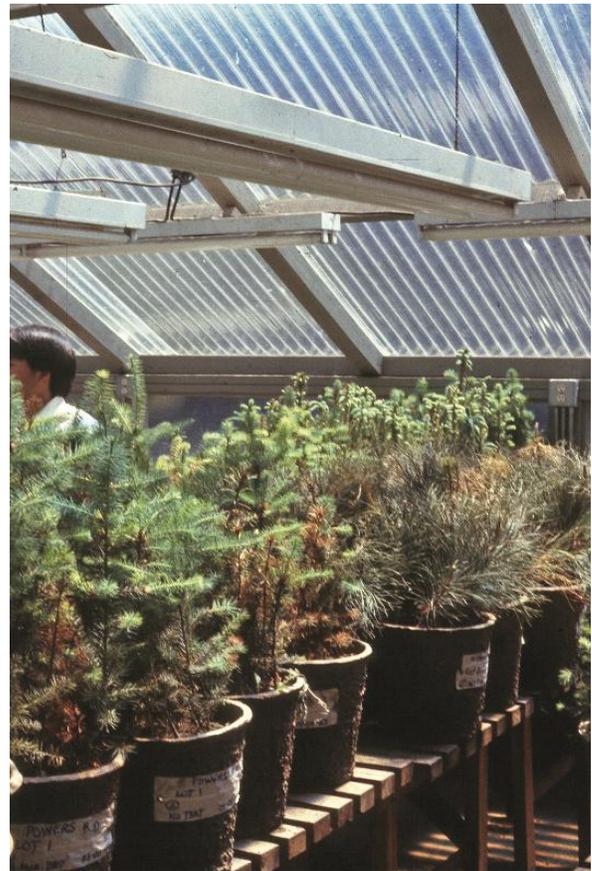


Figura 7.2.37 Las pruebas de estrés consideran la cosecha de plantas y su exposición a un ambiente estresante. En la Universidad Estatal de Óregon, el estrés fue un invernadero seco y caliente.

Uso de las pruebas de resistencia al frío para estimar la resistencia al estrés total.

Por décadas la experiencia de los viveros ha mostrado que, cuando las plantas se encuentran en su máximo nivel de endurecimiento, éstas serán más resistentes a muchos factores de estrés derivados de la cosecha, manejo, almacenamiento, transporte y plantación. De hecho, recientes investigaciones sobre genética han revelado que algunos de los mismos complejos de genes (dehydrin) que están involucrados en la aclimatación al frío, también juegan un papel importante en la resistencia al estrés hídrico (Wheeler *et al.*, 2005).

Los viveros del oeste de Canadá que producen en contenedor usan una “prueba de almacenabilidad” para determinar si las plantas están fisiológicamente listas para la cosecha, empaclado y almacenamiento en frío (Simpson, 1990). Esencialmente, si las plantas son resistentes al frío, a un umbral de temperatura de -18°C (0°F), entonces estarán listas para resistir el estrés producto del almacenamiento. Una reciente modificación utiliza la fluorescencia de la clorofila (ver sección 7.2.4.4) para determinar si ha habido daño al tejido, produciendo resultados hasta 6 días antes que con una evaluación visual (L’Hirondelle *et al.*, 2007). Dado que este método evalúa directamente las muestras de plantas, éste ha probado ser un predictor confiable del desempeño de la plantación (Kooistra, 2003). Una prueba similar de almacenabilidad basada en la PEIC, es usado en los viveros de contenedor en Ontario (Colombo, 2009). Para utilizar esta prueba en un área más templada y costera, se requerirá que se determine un umbral de mayor temperatura.

Uso de las horas frío para predecir la resistencia al estrés. Se intuye que la RE está estrechamente relacionada con la dormancia, y esto ha sido corroborado mediante una investigación en la fisiología de las plantas (Ritchie, 1986, 1989; Ritchie *et al.*, 1985). A medida que la intensidad de la dormancia se debilita durante el invierno como respuesta a las horas frío, la RE aumenta gradualmente

hasta un máximo a mediados del invierno. Después cae rápidamente cuando la dormancia concluye completamente, y se aproxima la primavera (Figura 7.2.38). Los mecanismos fisiológicos detrás de esta relación no son comprendidos completamente, pero se repiten año con año en diferentes tipos de cultivos (raíz desnuda y contenedor), de especies (Abetos, Pinos y algunas especies latifoliadas), y en los viveros (Burr *et al.*, 1989; Cannell *et al.*, 1990; Ritchie *et al.*, 1985). Esto significa que si se puede dar seguimiento al estado de dormancia del cultivo durante el invierno, ésta información puede ser usada para estimar la RE sin medirla directamente.

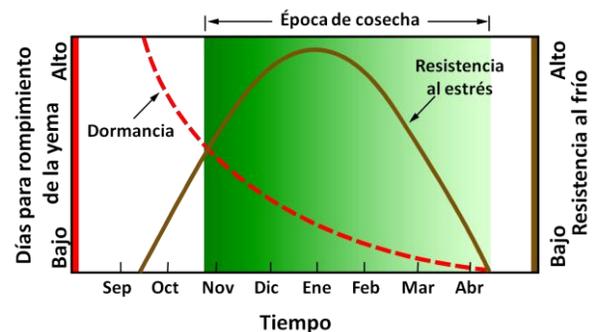


Figura 7.2.38 Tanto la dormancia de la yema, medida como los días para el rompimiento de la yema (DRY), y la resistencia al estrés RE, medida a partir de las pruebas de resistencia al frío, pueden ser usadas para determinar el mejor momento para cosechar las plantas del vivero (época de cosecha). Sin embargo las pruebas de resistencia al frío son mucho más rápidas y fáciles por lo cual se han convertido en las pruebas estándar para la cosecha y el almacenamiento refrigerado posterior.

Como se discutió en la sección previa, el punto máximo de la dormancia de la yema se alcanza en el otoño y se libera gradualmente durante el invierno, a medida que las plantas son expuestas a bajas temperaturas – el requisito de “horas frío”. Transformando esta relación de curva a una línea – Índice de liberación de la Dormancia (ILD), es hace que sea mucho más fácil de usar. El ILD = 0 en el pico más alto de dormancia durante el otoño, y se aproxima a 1, a medida que se va liberando durante la primavera.

Investigaciones con *Pseudotsuga menziesii* han revelado una relación consistente entre el ILD y la RE (Ritchie, 1986). A principios del invierno, cuando el ILD se encuentra en un rango de 0 y 0.25, la RE es baja, pero incrementando. Entre 0.26 y 0.40 (a mitad del invierno) la RE alcanza su máximo estacional, pero cuando el ILD supera el 0.40 (inicios de la primavera), la RE disminuye y las plantas se vuelven más sensibles a los daños. Estos resultados conducen a la definición de tres clases de calidad de planta, basadas en la intensidad de la dormancia y la RE (Cuadro 7.2.10).

Una vez que la relación entre las horas frío y el ILD ha sido establecido para ciertas especies, en viveros en particular, ésta puede ser usada para estimar la RE en cualquier momento durante el invierno, para los cultivos posteriores en ese vivero. Digamos por ejemplo, que estamos a finales de diciembre y la suma de horas frío en el vivero es de cerca de 1,000 horas. Usando la Figura 7.2.39, se podrá estimar que el ILD se acercó a 0.2. Del Cuadro 7.2.10 se puede ver que la producción a este momento se ubica con una RE de clase 2 – sin llegar a su pico más alto, pero mejorará con más horas frío. Ahora, digamos que es febrero y que se cuenta con cerca de 2,000 horas frío en el vivero. El ILD es cercano a 0.38, lo cual indica que la RE está en su rango estacional más alto, pero pronto empezará a disminuir.

Ajuste por el efecto adicional del almacenamiento refrigerado. Para los cultivos trasplantados o establecidos en campo sin un almacenamiento frío o de congelación (“plantación caliente”), el ILD es muy útil. Simplemente debe observarse la suma de horas frío en cualquier punto y, por medio de ella, estimar la resistencia al estrés. Sin embargo, muchos cultivos de vivero son refrigerados desde algunas semanas hasta varios meses, antes de ser trasplantados o establecidos en campo. Entonces, ¿Cómo afecta esto la RE?

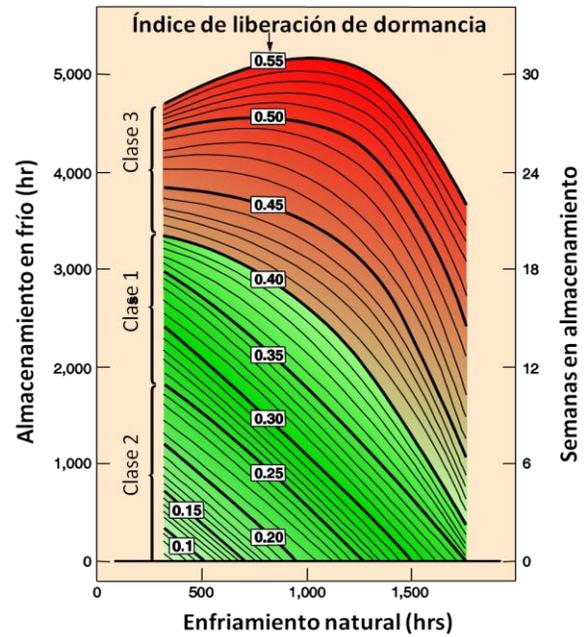


Figura 7.2.39 La gráfica muestra cómo la suma de horas frío al momento de la cosecha, combinada con el tiempo de almacenamiento frío o en congelación, puede usarse para predecir el Índice de Liberación de la Dormancia (ILD) y la clase de resistencia al estrés (Cuadro 7.2.10) de la producción. La gráfica integra en el eje de las X la suma de horas frío en el vivero, en la cual las plantas fueron colocadas en almacenamiento. La duración del almacenamiento se encuentra en el eje de las Y. Estas líneas se intersectan en el valor del ILD de las plantas en ese momento. Así, su clase de calidad puede leerse desde el eje Y. (modificado de Ritchie, 1989).

Las bajas temperaturas en el almacenamiento refrigerado están dentro del rango de las horas frío, por lo tanto, contribuyen a la liberación de la dormancia. Sin embargo, lo hacen con poca eficacia, debido a que las temperaturas del almacenamiento son más bajas que la temperatura fría óptima (Ritchie, 1984a; van den Driessche, 1977). Por lo tanto, *el almacenamiento refrigerado tiene el efecto de disminuir la liberación de la dormancia*. Esto significa que las plantas cosechadas y colocadas en un almacén refrigerado pasarán por la RE clases 2, 1 y 3, más lentamente que si se hubieran dejado en un almacén abierto (ver Capítulo 7.4). Las plantas que son colocadas en un almacén congelado acumulan muy pocas horas frío debido a que las temperaturas están por debajo del óptimo. Estas plantas deberán

acumular un nivel adecuado de horas frío previo a ser colocadas en almacenamiento.

Para usar la gráfica, seleccione las horas frío totales del ambiente del vivero sobre el eje X. Para este ejemplo se usarán 1,000 horas. En este punto, la producción tendrá un valor de ILD cercano a 0.20, colocándola en la Calidad de Clase 2 (Cuadro 7.2.10). Ahora, si las plantas son colocadas en un almacén refrigerado por cerca de 4 semanas, éstas entrarán a la Clase 1 y tendrán una RE más alta. Sin embargo, si éstas mismas plantas se hubieran dejado dentro del vivero por unas cuantas semanas más, hasta que hubieran acumulado más de 1,300 horas frío, excederían el límite del ILD de 0.25 y entrarían a la Clase 1, y tendrán una RE máxima. Entonces, si éstas se hubieran colocado en almacenamiento en congelación, y mantenidas ahí por al menos 15 semanas (eje derecho), antes que su ILD se aproximara a 0.40, su calidad caería a la Clase 3. (Nota: como regla general, el almacenamiento frío no debe exceder las 6 semanas. Si fuera necesario un almacenamiento más prolongado, debe usarse el almacenamiento en congelación – ver Capítulo 7.3).

Con base en la práctica, en la Figura 7.2.39 se integra el efecto tanto de la fecha de la cosecha y la duración del almacenamiento con el ILD y, por lo tanto, de la resistencia al estrés. Si es conocida la suma de horas frío al momento de la cosecha, entonces la duración del almacenamiento puede ser planeada para la entrega de la producción cuando ésta tenga el máximo de su RE: Clase 1. Si la fecha de plantación es conocida, entonces la fecha de cosecha y el tiempo de almacenamiento pueden ser preestablecidos para la entrega de la producción al sitio de plantación, y ésta se encontrará en la Clase 1. Esta gráfica ilustra el punto muy importante de que, para los sitios de plantación a los que no se puede tener acceso previo, la cosecha a principios del invierno con un almacenamiento en frío durante el invierno, es preferible a cosechar a finales de la primavera, con o sin almacenamiento.

Aplicación a otras especies y regiones. Los datos que fueron usados para producir la

Figura 7.2.39 vinieron de plantas costeras de *Pseudotsuga menziesii*, de cuatro diferentes procedencias (lotes de altitudes altas y bajas de los Estados de Washington y Óregon), que fueron producidas en dos viveros diferentes en la misma zona costera (Washington y Óregon). Estos resultados han sido probados operativamente con plantas de *Pseudotsuga menziesii* provenientes de otras procedencias y durante otras temporadas de crecimiento con resultados consistentes. Por lo tanto, para los viveros de la costa oeste que producen plantas de *Pseudotsuga menziesii*, es una forma práctica de estimar la RE mediante las horas frío.

Sin embargo, para los viveros ubicados en la zona norte, o del interior, la relación entre las horas frío y el ILD puede ser muy diferente. Esto fue probado en un vivero del interior occidental canadiense con *Pinus contorta* y *Picea glauca x engelmannii* (Ritchie *et al.*, 1985). Los resultados mostraron que las horas frío comenzaron a acumularse en los primeros días del otoño y mucho más a lo largo del invierno. Los resultados también sugirieron que estas especies podrían requerir más horas frío para la liberación total de la dormancia, en comparación con el *Pseudotsuga menziesii* costero, el cual tuvo resultados similares a los del *Pinus ponderosa* (Wenny *et al.*, 2002). Sin embargo, las relaciones en general (si no es que los mismos números), se muestran en la Figura 7.2.39, y fueron similares a las que se había encontrado con *Pseudotsuga menziesii*. Por lo tanto, para predecir con más precisión la RE por medio de las horas frío para otras especies y viveros, es necesario desarrollar una “curva de calibración” de horas frío con respecto al ILD.

Cuadro 7.2.10 Clases de calidad de planta basadas en el índice de liberación de dormancia (ILD) y la resistencia al estrés (RE) (modificado de Ritchie, 1989).

Tipo de calidad	Valor de ILD	Grado de RE
Clase 2	< 0.25	Plantas por debajo del pico de RE, pero incrementando
Clase 1	0.26 a 0.40	Plantas en el pico de RE
Clase 3	> 0.40	Plantas más allá del pico y RE decreciendo

Resistencia al estrés: resumen. La resistencia al estrés (RE) es un importante pero elusivo atributo de desempeño, que describe la capacidad de las plantas para tolerar factores de estrés asociados con la cosecha, manejo, almacenamiento y plantación. La RE varía de forma estacional; es baja en el otoño, alta a mediados del invierno, y baja en la primavera.

La RE es muy laboriosa de medir, por lo que hasta hoy ninguna de las pruebas ha sido utilizada de manera operacional. Sin embargo, debido al patrón estacional de la RE coincide estrechamente con el patrón de resistencia al frío, las pruebas estándares de resistencia al frío pueden proporcionar una estimación rápida y útil de la RE.

Estudios han mostrado que la RE está relacionada con la intensidad de la dormancia expresada como el índice de liberación de la dormancia (ILD). Cuando el ILD se encuentra en un rango entre 0 y 0.25, la RE es baja pero aumentando; entre 0.25 y 0.40, la RE se encuentra en su máximo estacional; arriba de 0.40, la RE está disminuyendo. Muy importante es que esta relación tiende a ser consistentes si las plantas han sido o no almacenadas.

Debido a que el almacenaje en frío o congelación reduce la liberación de la dormancia, el almacenamiento prolonga el periodo de alta RE. Estas relaciones pueden utilizarse para calendarizar la cosecha y el almacenamiento, que permita el envío de la producción al sitio de plantación, de aquellas plantas que tienen una alta resistencia al estrés. Aunque la mayor parte de estas investigaciones se han realizado con producciones a raíz desnuda de coníferas comerciales, los principios básicos se pueden aplicar a la producción en contenedor de otras especies.

7.2.5.3 Potencial del crecimiento de la raíz

Aunque Wakeley (1954) publicó el primer reporte de la relación entre el crecimiento de nuevas raíces y la calidad de planta, fue Stone (1955), quien después de varios experimentos acuñó el término “potencial de regeneración de la raíz” para describir su nuevo indicador de la calidad fisiológica de la planta.

Basándose en la investigación original de Stone, otros investigadores comenzaron a desarrollar y a usar este método de evaluación de planta (por ejemplo, Burdett, 1979; Jenkinson, 1975). Una exhaustiva reseña sobre el potencial de crecimiento de la raíz (PCR) realizada por Ritchie y Dunlap (1980) fue la responsable de que surgiera una oleada de investigaciones y adopción del PCR, como la primera prueba de calidad usada operativamente en los viveros forestales. Debido a este gran interés, un capítulo sobre la Evaluación de la Calidad de Planta en el Manual del Viveros Forestales (Duryea y Landis, 1984) ofreció un espacio de discusión y fuerte respaldo al PCR (Ritchie, 1984b). Revisiones posteriores (Duryea, 1985; Ritchie, 1985; Ritchie y Tanaka, 1990) hicieron de esta prueba de calidad la más popular y la más ampliamente usada (Figura 7.2.40A). Las pruebas de PCR han sido empleadas por todo el mundo y han estado sujetas a muchas discusiones (Binder *et al.* 1988; Landis y Skagel, 1988; Sutton, 1983;) y aún a debates (Simpson y Ritchie, 1997).

Procedimiento de la prueba PCR. La prueba PCR consiste en colocar una muestra aleatoria de plantas en un ambiente que promueva el rápido crecimiento de la raíz. Después de 7 a 28 días, se evalúa el nuevo crecimiento de la raíz. En la siguiente sección, se examinará cada paso del proceso.

Muestreo. Como en todas las evaluaciones si la muestra es parcial (no aleatoria), los resultados de la prueba no tendrá ningún sentido. El número de plantas usas en una prueba común de PCR es más bien pequeño y debe ser elegido al azar de entre una gran población, para que sea lo más representativa posible. En una muestra de 60 plantas, el cual es el número comúnmente requerido en los laboratorios de pruebas, es sólo el 0.12 % de un lote moderado de 50,000 plantas. Una muestra 25 a 30 plantas debe ser el mínimo número para evaluar.

El principio es simple el recolectar una muestra al azar cuando las plantas se encuentran en contenedores, o sobre la mesa de clasificación, aunque el muestreo llega a ser más difícil cuando la producción ha sido empacada y almacenada. Cuando han sido almacenadas en

refrigeración, es operativamente difícil obtener la muestra de las plantas embolsadas, ya que será necesario acceder a las bolsas, abrirlas y tomar las muestras de entre todas las plantas que hay en las bolsas, y no solamente de las que se encuentran en la parte superior. Muestrear durante el almacenamiento en congelación necesitará de un empaque especial (Landis y Skakel, 1988).

Tiempo de recolección de las muestras. Las pruebas realizadas a las plantas al momento de la cosecha son útiles para evaluar las prácticas culturales en el vivero, aunque muchas no reflejen la condición de la planta al momento de su plantación. Si existe interés en conocer el desempeño de la plantación, el mejor momento para tomar la muestra será durante los días previos a la plantación, tanto como sea posible (Landis y Skakel, 1988).

Prueba ambiental. Esta prueba es particularmente importante porque puede proporcionar condiciones que sean cercanas a lo “óptimo”, para el crecimiento de la raíz (Landis y Skagel, 1988). La temperatura debe ser de 19 a 25 °C (66 a 77 °F). El sustrato para el enraizamiento debe estar bien aireado e hidratado, debiendo contar con una luz adecuada y días largos. Debido a que estos factores afectarán los resultados de la prueba, es importante mantener estas condiciones de manera constante durante las pruebas, aunque esto pueda ser difícil.

Se han utilizado tres tipos de pruebas ambientales:

Contenedores en invernaderos. La mayoría de las instalaciones donde se realizan las pruebas de calidad usan este método, en el cual las plantas se colocan en contenedores de 3.8 a 7.6 litros (1 a 2 galones), llenados con un sustrato artificial con buen drenaje. Estos contenedores se mantienen bien irrigados en un invernadero durante todo el periodo de prueba (Figura 7.2.40B) (Ritchie, 1985, Tanaka *et al.*, 1997). Después de 7 a 28 días, se lavan las raíces para remover el sustrato, y se registra la cantidad de nuevas raíces (Figura 7.2.40C).

Hidroponía. Las plantas son suspendidas con sus raíces en agua con buena aireación y cálida, como si estuvieran en un acuario. Este método se ha aplicado a varias especies de árboles caducifolios (Wilson y Jacobs, 2006).

Aeroponía Las plantas son suspendidas dentro de una cámara cerrada y se rocían las raíces con agua tibia (Figura 7.2.40D). Los Viveros del Servicio Forestal del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA-FS) han usado esta técnica con buenos resultados (Rietveld y Tinus, 1990). Uno de los beneficios es que la estructura para colgar las plantas puede ser fácilmente removida de la cámara de rocío para monitorear el desarrollo de la raíz durante el tiempo de la prueba (Figura 7.2.40E).

Evaluación. Una vez que la prueba se ha completado, debe cuantificarse el crecimiento de nuevas raíces. Los investigadores han intentado acortar este tedioso proceso usando fotografías, tintes, mediciones del volumen de la raíz, y otros enfoques. A pesar de esto, la técnica probada y verdadera del “conteo de raíz” ha prevalecido. Esta requiere realizar una estimación visual del número de nuevas raíces mayores a 1 cm (0.4 in) de longitud, en la planta. Un técnico experimentado podrá realizar la prueba en unos cuantos minutos. El conteo puede ser registrado como un dato simple (por ejemplo, 120 raíces/planta), o ser transformado en un índice como lo reportó Burdett (1979) modificado por Tanaka *et al.* (1997) (Cuadro 7.2.11). El número de raíces y la longitud total, comúnmente están bien correlacionados.

El PCR como pronóstico del desempeño de la plantación. La interpretación de los resultados de las pruebas de PCR sigue siendo un reto. Un concepto erróneo común ha sido el asumir que los resultados del PCR predicen directamente el desempeño de la plantación. En otras palabras, un índice alto del PCR asegurará una alta supervivencia, mientras que un bajo nivel del PCR tendrá una baja supervivencia (Figura 7.2.41A). A lo mucho, el PCR está positivamente correlacionado con la

supervivencia sólo en un 75% de las veces (Ritchie y Dunlap, 1980; Ritchie y Tanaka, 1990). A veces estas correlaciones son débiles, otras son fuertes. Bindder *et al.* (1988) no encontraron una correlación del PCR y la mortalidad en la plantación, en 8,600 ensayos realizados en la Columbia Británica. Esto es porque el ambiente en la plantación (el cual comúnmente es muy diferente al ambiente del PCR donde se hizo la prueba), ha tenido una influencia decisiva en el desempeño (Binder *et al.*, 1988; Landis y Skakel, 1988; Simpson y Ritchie, 1997; Sutton, 1983). El desempeño de la producción con un bajo nivel del PCR en lugares extremos, y con un alto PCR en sitios templados, casi siempre son predecibles. Sin embargo, la producción con un bajo PCR en lugares templados, y uno alto PCR de la producción en sitios extremos, no es predecible (Figura 7.2.41B).

Parece lógico que para que las plantas recién establecidas en campo puedan crecer y sobrevivir, deben regenerar rápidamente nuevas raíces para mantener un adecuado balance hídrico. Esta lógica ha sido usada para explicar porqué se puede esperar que el ICR prediga la supervivencia. Sin embargo, Simpson y Ritchie (1997) hacen hincapié en que la nueva planta establecida casi nunca es capaz de generar raíces después de la plantación, porque, aunque el suelo tenga humedad suficiente, la temperatura del suelo durante el invierno o a principios de la primavera, en temporadas de plantación, en la mayoría de los lugares el umbral está muy por debajo de la temperatura deseable para el crecimiento de nuevas raíces (Figura 7.2.41C). Bajo estas condiciones, el sistema radical existente es adecuado para suministrar de agua a la planta hasta que el suelo se torne más cálido y las raíces comiencen a crecer (McKay, 1998). Por lo tanto, sea o no que el nuevo crecimiento de las raíces se presente después de la plantación, esto tiene mínimas consecuencias en el desempeño en campo.

¿Por qué el PCR en ocasiones funciona? El descubrimiento de que muchas plantas de coníferas, especialmente de *Pseudotsuga menziesii* requieren mayormente de un flujo de

fotosintatos para el crecimiento de nuevas raíces (van den Driessche, 1987, 1991), ha probado ser una base lógica para la interpretación de los resultados de la prueba del PCR. Para que una planta desarrolle nuevas raíces en el ambiente de prueba, el follaje debe estar fotosintetizando (Figura 7.2.42). Por lo tanto, los estomas deben estar abiertos, las hojas deben estar sanas y el aparato fotosintético debe funcionar adecuadamente. Los fotosintatos deben moverse al sistema radical, de modo que la vía del floema hacia las raíces debe estar libre, y las raíces deben por sí mismas, metabolizar normalmente. Si alguno de estos sistemas llegara a comprometerse por alguna causa, digamos que por un daño ocasionado por el frío, estrés hídrico, una enfermedad, foto-daños, u otros agentes, se presentará un abatimiento del PCR.

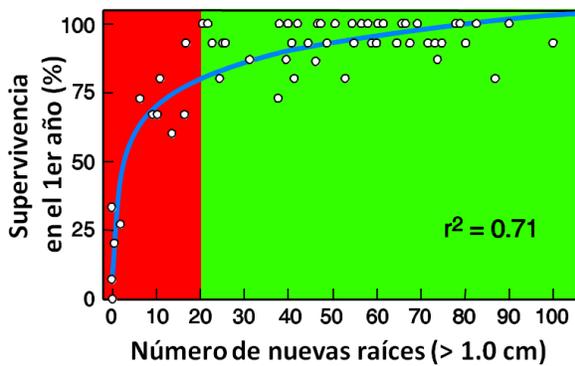
Viéndolo desde esta perspectiva, y con una visión más realista, la prueba del PCR es análoga a la prueba que se hace a las semillas, la cual proporciona una panorámica de su viabilidad al momento en que las semillas son evaluadas. Nadie esperaría que las semillas que tienen un 95 % de germinación en el laboratorio, siempre dará el mismo 95 % de emergencia en el vivero. Pero si la prueba muestra un valor bajo fuera de lo normal, es un indicador de la poca viabilidad de la semilla. Este es el modelo a usar cuando se interpretan los resultados de la prueba del PCR, la cual es como una “bandera roja” que identifica los lotes de la producción que, por la razón que sea, no se encuentran al mismo nivel.



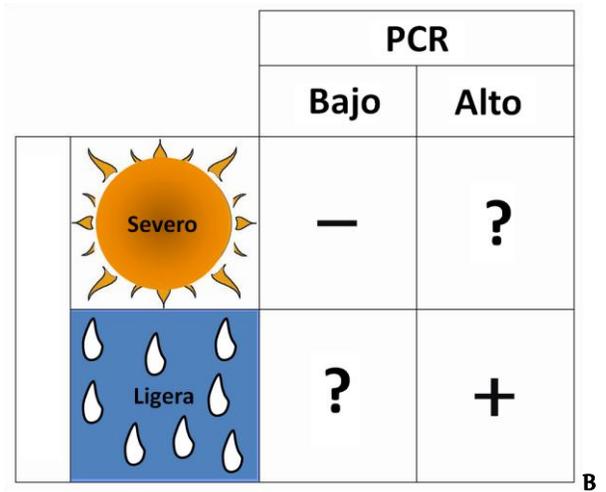
Figura 7.2.40 Debido a que la relación entre las nuevas raíces y el éxito de la plantación es intuitivamente importante (A), la prueba del potencial de crecimiento de la raíz rápidamente se convirtió en la más popular y ampliamente usada para evaluar la calidad de la planta. Uno de los procedimientos consiste en colocar las plantas a evaluar en contenedores dentro del invernadero (B), lavado de sus raíces (C), y después clasificar la cantidad de crecimiento de nuevas raíces. En el segundo procedimiento, las plantas son colocadas dentro de una cámara de rocío (D), y posteriormente se mide la longitud y el número de nuevas raíces (E).

Cuadro 7.2.11 La escala del índice de crecimiento de raíz (ICR) desarrollado por Tanaka *et al.* (1997) para cuantificar el crecimiento radical, siguiendo la prueba del potencial de crecimiento de la raíz (PCR).

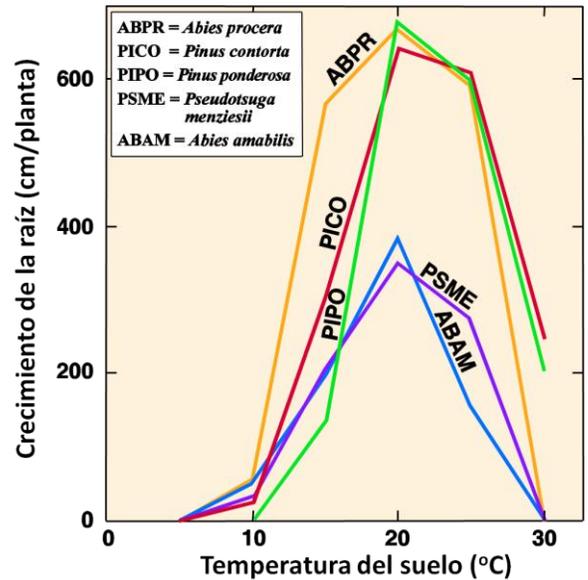
Índice de crecimiento de la raíz (ICR)	Número de nuevas raíces de 1 cm o mayor
0	Ninguna
1	Algunas, pero ninguna > a 1 cm
2	1-3
3	4-10
4	11-30
5	31-100
6	101-300
7	Más de 300



A



B



C

Figura 7.2.41 Aunque una buena relación entre los valores de la prueba del potencial de crecimiento de la raíz (PCR) y el éxito de la plantación algunas veces se presenta (A), los factores limitantes en el sitio de

plantación en ocasiones evitan una buena previsibilidad. El desempeño de plantas con un bajo PCR establecidas en sitios extremos, o con un alto PCR en sitios moderados, generalmente es predecible. Sin embargo, el desempeño de plantas con un alto PCR en un sitio severo, o con un bajo PCR en sitios moderados, no lo es (B). Un problema frecuente es que la temperatura del suelo en los sitios de plantación, es mucho menor que las temperaturas ideales usadas en las pruebas ambientales (C). (A, modificado de Grossnickle, 2000; C, modificado de Lopushinsky y Max, 1990).

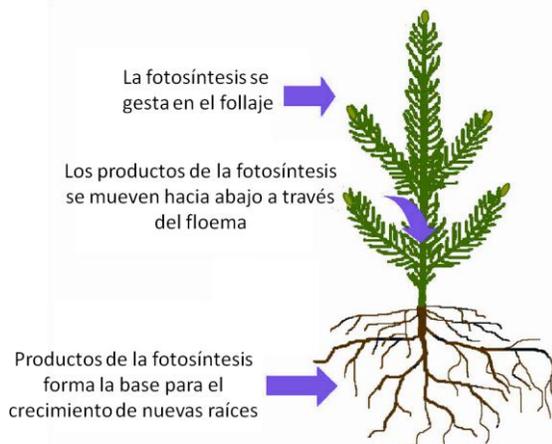


Figura 7.2.42 El crecimiento de la raíz en muchas coníferas depende del flujo de fotosintatos del tallo (van den Driessche, 1987, 1991). Cualquier factor que reduzca la fotosíntesis o impida el flujo fotosintatos de las hojas hacia las raíces, dará como resultado una reducción del potencial de crecimiento de la raíz.

Potencial de crecimiento de la raíz: resumen. El PCR sigue siendo la más popular de las pruebas de calidad porque es intuitiva, consistente y sencilla. Sin embargo, como en cualquier prueba, el PCR tiene sus limitaciones. La mayor desventaja es el tiempo que se lleva realizarla y la capacidad limitada de predicción. Las pruebas del PCR ofrecen sólo una “panorámica en el tiempo”, ya que la calidad fisiológica de la planta puede cambiar en cualquier momento, hasta que la planta es establecida en campo.

El PCR algunas veces predice la supervivencia y otras veces no. Esto se debe a las condiciones del sitio, las cuales son muy diferentes a las del ambiente de la prueba, lo cual puede anular la calidad de la producción. El PCR no predice el crecimiento de la raíz después de la plantación;

y el crecimiento de la raíz después de la plantación, generalmente tiene poco que hacer con la supervivencia.

El PCR es una prueba de viabilidad muy valiosa – es decir, determina si las plantas están vivas y funcionales al momento de realizarla. Los resultados integran muchos sistemas fisiológicos en las plantas, tales como la función estomatal, el mecanismo fotosintético, la integridad del floema, la viabilidad de la raíz, la nutrición de la planta, entre otros. Si alguno de estos sistemas se ve alterado, se manifestará una reducción del PCR.

Sin importar su valor predictivo, estas pruebas se han llevado a cabo lo suficiente como para mostrar que la producción de los viveros con un alto valor del PCR, tendrán una mayor supervivencia y crecimiento (Maki y Colombo, 2001). Los resultados del PCR deberán ser interpretados de la misma forma que con las pruebas de germinación de las semillas. Esta prueba debe verse como una “bandera roja” que identifica los lotes de plantas que no estarán al mismo nivel que los demás, y puede o no predecir el desempeño en campo.

7.2.6 Correlación de las combinaciones de las pruebas de calidad de planta para predecir el desempeño de la plantación.

Como se habrá dado cuenta hasta ahora, la calidad de la planta en los viveros es un tema complicado. Por ello, en lugar de tratar de predecir el desempeño de la plantación con sólo una variable, tiene sentido el intentar correlacionar con dos o más índices de calidad de planta. Se han realizado investigaciones para desarrollar un enfoque exhaustivo que use una serie de pruebas (Grossnickle *et al.*, 1991), aunque aún no se han adaptado a nivel operativo. En recientes investigaciones en la Columbia Británica se midió el potencial del crecimiento de la raíz, la fluorescencia de la clorofila, y la conductancia estomatal, de plantas de coníferas y, posteriormente las correlacionaron de manera individual y combinada, con la supervivencia y crecimiento después de la plantación. (L'Hirondelle *et al.*, 2007). Ellos encontraron que, mientras la supervivencia estuvo altamente correlacionada con el potencial del crecimiento de la raíz ($R^2=0.72$), la combinación del potencial del crecimiento de la raíz y la fluorescencia de la clorofila fue un buen elemento para predecir la supervivencia y el crecimiento del tallo, medido a partir del peso seco (Figura 7.2.43). Se espera que exista más investigación a futuro en este campo que permita afinar la capacidad para predecir matemáticamente la calidad de la producción en el vivero.

(supervivencia + crecimiento del tallo), en plantas de coníferas (Modificado de L'Hirondelle *et al.*, 2007).

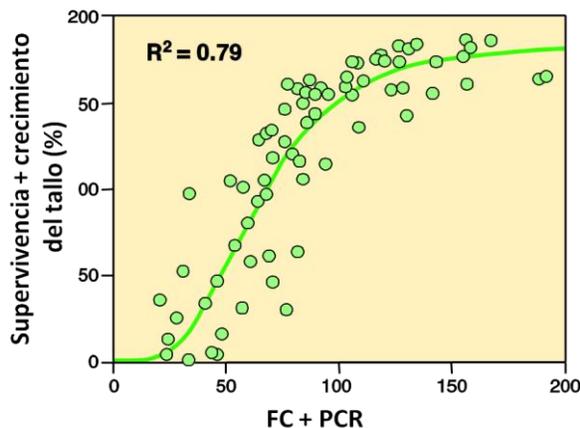


Figura 7.2.43 La medición del potencial del crecimiento de la raíz y la fluorescencia de la clorofila, probaron ser un buen predictor del desempeño total de la plantación

7.2.7 Limitaciones de las pruebas de calidad de planta.

7.2.7.1 Calendarización

Cada prueba de calidad de planta que se ha discutido debe realizarse en un momento específico, durante el ciclo desde el vivero hasta la plantación. Los atributos morfológicos cambian a medida que el cultivo en el vivero se desarrolla, pero permanecen constantes después de su cosecha. Sin embargo, los atributos fisiológicos y de desempeño, varían considerablemente dependiendo de cuándo sean medidos. Por ejemplo, el estrés hídrico de la planta tiene un patrón diurno muy marcado, mientras que la resistencia al frío incrementa durante el otoño y puede perderse durante el almacenamiento refrigerado (Sundheim y Kohmann, 2001). La pérdida de electrolitos de la raíz y la fluorescencia de la clorofila (FC) han sido utilizadas principalmente para detectar daños generados de un evento estresante. Por lo tanto, éstos deben ser medidos inmediatamente después del evento, manteniendo en mente dos consideraciones importantes. Primero, para saber si los resultados de la prueba son “normales”, debe estar disponible la información de línea base de estas variables. Esto comúnmente llama a realizar seguimientos de rutina de estas variables en cultivos sanos, antes que se dé el evento estresante. El segundo y muy importante punto es que las plantas pueden requerir tiempo para evidenciar síntomas del estrés y también, tener la capacidad de recuperarse del él. Así, por ejemplo, los valores de FC medidos al día siguiente del evento de frío, podrían no proporcionar una imagen precisa del daño sufrido del cultivo o de su respuesta a largo plazo.

Tanto los viveristas como los clientes de la producción pueden usar las pruebas de calidad de planta, pero deben hacerse en diferentes momentos. Por ejemplo, el viverista podrá usar el estrés hídrico de la planta para programar el riego y las pruebas de resistencia al frío, para definir la época de cosecha y almacenabilidad, mientras que el cliente puede utilizar el estrés hídrico de la planta para asegurarse que la producción no haya estado sujeta a este tipo de

estrés antes de la plantación, y las pruebas de resistencia al frío que le indicarían que la planta es resistente a todo tipo de estrés antes de la plantación. (Figura 7.2.44).

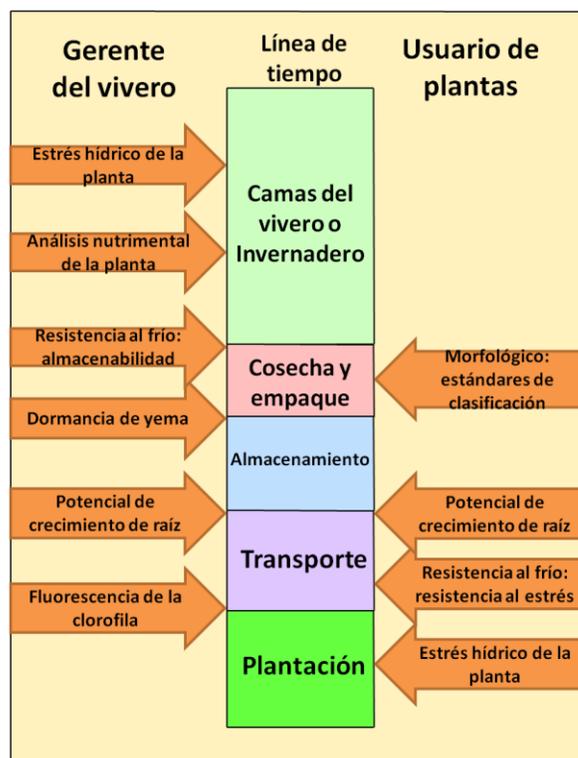


Figura 7.2.44 Las pruebas de calidad de planta pueden realizarse por el viverista o por los clientes de las plantas. El tiempo que se lleven las diferentes pruebas dependerá de la interpretación que desee obtener.

7.2.7.2 Muestreo

Un muestreo apropiado es crítico para la efectividad de las pruebas de calidad de planta. Si la muestra es parcial, el resultado será parcial y por lo tanto, inútil. Un cuestionamiento es ¿Cuántas de las pruebas de calidad que fracasaron para predecir el desempeño en campo fueron realizadas con muestras que no representaban adecuadamente las poblaciones de las cuales fueron extraídas? Es importante seguir la base de un buen muestreo: aleatorio, replicable y representativo. Múltiples muestras recolectadas aleatoriamente de un cultivo determinado, producirá los datos más útiles. Muchos productores son renuentes a gastar su

tiempo o dinero para recolectar y evaluar las muestras de esta forma. Sin embargo, si se piensa sobre ello, el gastar una cantidad relativamente pequeña de tiempo y dinero en una sola prueba parcial, es simplemente tirar el tiempo y dinero para generar información sin sentido, mientras que gastando un poco más de tiempo y dinero con los protocolos de muestreo producirá información valiosa que le apoyará para tomar decisiones de manejo.

7.2.7.3 Expectativas poco razonables.

Es muy importante que los productores y los consumidores de plantas empleen la prueba correcta en el tiempo correcto y que permanezcan prevenidos de las trampas de involucrarse demasiado con los resultados de las pruebas. Una discusión de este tema puede encontrarse en Simpson y Ritchie (1997) quienes proponen el siguiente modelo conceptual del desempeño en campo:

$$\text{Desempeño en Campo} = f(\text{CS, AMP, RE, VP})$$

Donde: CS = condiciones del sitio (todas las características físicas, químicas y biológicas del sitio durante y después de la plantación),

AMP = atributos morfológicos de la planta (diámetro y altura del tallo, relación tallo/raíz, calidad de raíz y demás),

RE = resistencia al estrés (capacidad para soportar factores de estrés asociados con la cosecha, almacenamiento, manejo y plantación), y

VP = viabilidad de la planta (libre de enfermedades, lesiones o desordenes inducidos por el estrés); una planta "íntegramente funcional" (Grossnickle y Folk, 1993) es una buena forma de expresar esta idea.

Obviamente, las pruebas de calidad no proporcionan información de las condiciones del sitio, pero éstas pueden producir información detallada de los atributos morfológicos de la planta y pueden ofrecer entonces una intuición de la resistencia al estrés mediante el monitoreo de la resistencia al frío e intensidad de la dormancia. La viabilidad de la planta puede también ser aproximada utilizando el potencial de

crecimiento de la raíz, la fluorescencia de la clorofila, la pérdida de electrolitos de la raíz y hasta cierto punto, el estrés hídrico de la planta.

Con este "paquete" de pruebas y protocolos de calidad disponibles, los viveristas cuentan con suficientes herramientas para hacer más de una deducción profesional acerca de la calidad de cualquier tipo de producción en un momento dado. Sin embargo, se debe recordar que la calidad debe ser vista dentro de un contexto de las condiciones del sitio de plantación, de las que nunca se puede tener completa certeza.

7.2.8 Laboratorios comerciales para las pruebas de calidad de planta

Varias de las pruebas enumeradas anteriormente se pueden realizar en el mismo vivero (por ejemplo: la pérdida de electrolitos de la raíz, el potencial de crecimiento de la raíz y la acumulación de horas frío). Sin embargo, ciertas pruebas (por ejemplo: resistencia al frío y la fluorescencia de la clorofila), requieren un equipamiento costoso y detallado. En los laboratorios donde se evalúa la calidad de la planta comúnmente se usa equipo tal como las cámaras de crecimiento las cuales generan condiciones de prueba más uniformes y replicables. El uso de un servicio de prueba, tiene el beneficio adicional de obtener una evaluación independiente de la calidad de la planta. Con el tiempo, estas evaluaciones pueden ser organizadas en bases de datos para revelar patrones que de otra forma no hubieran podido obtenerse (Colombo, 2009).

Al momento de la escritura de este texto (2009), sabemos que existen cuatro laboratorios en América del Norte que ofrecen los servicios de estas pruebas de calidad. Estos son listados en el Apéndice 7.2.1.

7.2.9 Resumen y conclusiones

La calidad de planta se ha dividido en tres amplias categorías: morfológica, fisiológica y desempeño. Los atributos morfológicos son fáciles de observar y medir, además de que no cambian rápidamente después de que las plantas son cosechadas y almacenadas. El tamaño del contenedor y la densidad de la planta originan los efectos morfológicos más marcados. A pesar de que muchas de las características pueden medirse, (por ejemplo, la altura, el diámetro del tallo y la biomasa), y la proporción de esas características se pueden calcular (por ejemplo, la relación tallo/raíz); la altura del tallo y el diámetro del cuello de la raíz (conocido también como diámetro del tallo), son las cualidades morfológicas más frecuentemente medidas, y son los criterios de clasificación más comúnmente utilizados. La altura inicial del tallo tiende a estar correlacionada con el crecimiento en altura después de la plantación, mientras que el diámetro inicial del tallo está mejor correlacionado con la supervivencia.

Los atributos fisiológicos no son fácilmente visibles y se requiere equipo y pruebas especializadas para determinarlos. Las evaluaciones del estrés hídrico de la planta, la resistencia al frío, la pérdida de electrolitos de la raíz y la fluorescencia de la clorofila, son los más comunes.

Las plantas pierden agua con mayor rapidez a través de la transpiración que la que puede ser absorbida del suelo, poniendo a las plantas bajo un “estrés hídrico de la planta” (EHP). Este nivel de estrés puede ser cuantificado mediante el uso de una cámara de presión (también conocida como bomba de presión). Aun y cuando no hay una correlación directa entre el EHP y cualquiera de los indicadores clásicos de calidad de planta, los encargados de los viveros pueden usar las mediciones de EHP obtenidas antes del amanecer para programar el riego y para monitorear el estrés durante los procesos de endurecimiento, cosecha y plantación.

El desarrollo de la resistencia al frío de las plantas en vivero se activa debido a cambios en

el fotoperiodo a finales del verano, y se incrementa rápidamente a fines del otoño y principios del invierno, cuando las plantas experimentan bajas temperaturas. Para las plantas de zonas templadas, el pico más alto de endurecimiento se presenta en enero y se pierde rápidamente a medida que el fotoperiodo se alarga, y las temperaturas aumentan. Las diferentes partes de la planta pueden tener diferentes niveles de resistencia al frío; las yemas son por lo general más resistentes al frío, mientras que las raíces no lo son tanto. Los niveles de resistencia al frío se pueden determinar por medio de la prueba de congelación total de la planta, por medio de la pérdida de electrolitos inducida por congelamiento (PEIC), o por medio del análisis de indicadores genéticos. Los resultados de las pruebas pueden ser utilizados por los administradores de los viveros para determinar la época apropiada de cosecha, para proporcionar protección a las plantas de las heladas y como una opción más para calcular la resistencia total al estrés.

La evaluación de la pérdida de electrolitos de la raíz (PER) es similar a PEIC, pero esta es más amplia, dado que esta prueba busca la pérdida potencial de la viabilidad de la raíz desde muchos factores, como son enfermedades, el manejo rudo de la planta y la desecación, y no solamente los daños provocados por temperaturas frías. Es difícil correlacionar la PER con la supervivencia de las plantas, pues hay muchos otros factores aparte de los daños a la raíz, que pueden influir en la PER.

La fluorescencia de la clorofila nos permite determinar la habilidad de las plantas para fotosintetizar eficazmente. Los factores de estrés, ya sean a corto plazo y leves, o a largo plazo y severos, pueden impedir este importante proceso fisiológico. Esta medición puede identificar cuándo ha habido un daño significativo en el sistema fotosintético, indicando que el desempeño de las plantas se puede ver comprometido. Se requiere más trabajo antes que esta pueda ser considerada una prueba de calidad a nivel operativa.

Los atributos de desempeño integran características morfológicas y fisiológicas. Aunque los atributos de las pruebas de desempeño son de gran valor, estas pruebas pueden ser laboriosas y caras. Las mediciones de la dormancia, de la resistencia al estrés, y del potencial de crecimiento de la raíz (PCR) son las más comunes.

Aunque los encargados de los viveros hablan sobre la dormancia de las plantas, la dormancia solo se refiere los tejidos meristemáticos y sólo la latencia de las yemas ha sido estudiada extensamente. Los tallos dejan de crecer y elongarse, formando yemas como respuesta a las cambiantes condiciones ambientales que le son menos favorables para su crecimiento (quiescencia), o como respuesta a la reducción del fotoperiodo (dormancia profunda), la cual culmina en otoño. Una vez que se encuentran en latencia profunda, las yemas necesitan un tiempo específico de exposición a bajas temperaturas (frío) antes que el tallo reinicie su crecimiento. El requerimiento de horas frío es el periodo de exposición a bajas temperaturas que necesitan las yemas, antes de regresar a su estado de quiescencia y estar listas para retomar su crecimiento en cuanto la temperatura lo permite. La única forma confiable de estimar la intensidad de la dormancia de la yema es medir el tiempo que ha estado expuesta al frío, registrando después cuántos días fueron necesarios para que esas yemas continuaran con su crecimiento (días para romper la yema - DRY), una vez que vuelven a tener condiciones favorables de crecimiento. La relación entre las horas frío y el DRY es una curva, pero un simple índice de la liberación de la dormancia (ILD) puede usarse para convertir los datos en una línea recta y así facilitar su uso; por ejemplo, para establecer la época de cosecha y estimar la intensidad de la dormancia de los cultivos durante los inviernos subsecuentes.

La medición de la resistencia al estrés (RE) puede llegar a ser un proceso muy laborioso pero muy importante dado que ésta describe la habilidad de las plantas para tolerar el estrés asociado con el proceso desde la cosecha hasta la plantación. Debido al patrón estacional de la

RE coincide muy de cerca con el patrón de la resistencia al frío, las pruebas estándares de resistencia al frío pueden proporcionar una estimación rápida y útil de la RE. Más aún, la RE está relacionada con la intensidad de la dormancia expresada como el índice de liberación de la dormancia (ILD). Debido a que el almacenamiento refrigerado reduce la liberación de la dormancia de la yema, el almacenamiento prolonga el periodo de una alta RE.

El potencial de crecimiento de la raíz (PCR) es la prueba de desempeño más popular. Esta prueba proporciona un indicador de la viabilidad total de la planta al momento de la prueba, dado que muchos de los procesos fisiológicos integrados en las plantas son los responsables de la producción de nuevas raíces. Esta prueba proporciona solo una panorámica en el tiempo de la evaluación de la planta; es importante recordar que la calidad fisiológica puede cambiar en cualquier momento hasta que la planta sea establecida en campo. El PCR puede o no estar bien correlacionado con la supervivencia, dado que las condiciones del sitio de plantación pueden anular la calidad de la producción, aunque las plantas con un bajo PCR deben ser nuevamente evaluadas con respecto a las condiciones potenciales del sitio.

En general, los atributos morfológicos casi nunca cambian durante el proceso de cosecha-plantación, por lo cual, pueden medirse en cualquier momento. Sin embargo y dado que los atributos fisiológicos cambian con mucha frecuencia, brindan solamente un análisis momentáneo de la calidad de la planta. Evaluar el estrés hídrico de la planta en diversas etapas del proceso cosecha-plantación, puede asegurar que el estrés de la planta sea minimizado. Las pruebas de la fluorescencia de la clorofila y de la pérdida de electrolitos de la raíz se pueden aplicar inmediatamente después de algún evento estresante inesperado, para comprobar los niveles de daños o de recuperación de estos eventos. La prueba de resistencia al frío se puede llevar a cabo para definir la época de cosecha más apropiada, y antes de la plantación para asegurar que la

resistencia al estrés siga siendo alta. Los atributos de desempeño tales como la resistencia al estrés pueden realizarse en cualquier momento durante el proceso cosecha-plantación; aunque la del potencial del crecimiento de la raíz es mejor hacerla inmediatamente antes de la plantación para asegurar la viabilidad total de la planta.

Ninguna de estas pruebas de calidad producirá frutos significativos a menos que la población de las plantas sea muestreada de una forma aleatoria y de toda la población. Tanto los productores como los clientes de las plantas deberán estar consientes de lo que cada prueba puede o no puede inferir acerca de la calidad de la planta, y deben tomar en cuenta que los resultados de la pruebas deben ser considerados dentro de un contexto de probabilidad y nunca como un pronóstico seguro, tratándose de las condiciones del sitio.

7.2.10 Literatura citada

- Adams, G.T., T.D. Perkins, and R.M. Klein. 1991. Anatomical studies on first-year winter injured red spruce foliage. *Amer. J. Bot.* 78:1199-1206.
- Anderson, J.L. and S.D. Seeley. 1993. Bloom delay in deciduous fruits, Pp 97-144, In: *Horticultural Reviews*, (Ed.) J. Janick, John Wiley and Sons.
- Arnott, J.T. and D. Beddows. 1982. Influence of Stryoblock™ container size on field performance of Douglas-fir, western hemlock and Sitka spruce. *Tree Planters' Notes*, Summer 1982: 31-34.
- Balk, P.A.; Bronnum, P.; Perks, M.; Statten, E.; van der Geest, L.H.M.; van Wordragen, M.F. 2007. Innovative Cold Tolerance Test for Conifer Seedlings. In: Riley, L.E.; Dumroese, R.K.; Landis, T.D., tech. coords. *National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2006*. Proceedings RMRS-P-50. Fort Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station: 9-12.
- Balk, P.A.; Haase, D.L.; van Wordragen, M.F. 2008. Gene activity test determines cold tolerance in Douglas-fir seedlings. In: Dumroese, R.K.; Riley, L.E., tech. coords. *National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2006*. Proceedings RMRS-P-50. Fort Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station: 9-12.
- Becwar, M.R., C. Rajashekar, Hanson Bristow, K.J., and M.J. Burke. 1981. Deep undercooling of tissue water and winter hardiness limitations in timberline flora. *Plant Physiol.* 68:111-114.
- Bigras, F.J. 2005. Photosynthetic response of white spruce families to drought stress. *New Forests* 29:135-148.
- Bigras, F.J., A. Ryyppo, A. Lindstrom and E. Statten. 2001. Cold acclimation and deacclimation of shoots and roots of conifer seedlings. Pp 57-88, In: *Conifer Cold Hardiness*, F. J. Bigras and S.J. Colombo (Eds.), Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.
- Binder W.D., R.K. Skagel and G.K. Krumlik. 1988. Root growth potential: facts, myths, value? In: Landis, TD, ed. *Proceedings, Combined Meeting of the Western Forest Nursery Associations; 1988, August 8-11; Vernon, BC. Ft. Collins, CO: Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. General Technical Report RM-167: 111-118.*
- Binder, W.D., P. Fielder, G.H. Mohammed and S.J. L'Hirondelle. 1997. Applications of chlorophyll fluorescence for stock quality assessment with different types of fluorometers. *New Forests* 13:63-89.
- Burdett AN. 1979. New methods for measuring root growth capacity: their value in assessing lodgepole pine stock quality. *Canadian Journal of Forest Research* 9:63-67.
- Burdett, A.N. and D.G. Simpson. 1984. Lifting, grading, packaging and storing. Pp. 227-234 In: *Forest Nursery Manual: Production of bareroot seedlings*. M.L. Duryea and T.D. Landis (Eds.), Martinus Nijhoff/Dr.W. Junk, Publishers. For Oregon State University, Corvallis.
- Burr, K.E. 1990. The target seedling concepts: bud dormancy and cold hardiness. Rose, R, Campbell SJ, Landis TD. (Eds.) Pp 79-90 In: *Target seedling symposium: proceedings, combined meeting of the Western Forest Nursery Associations*, p. 79-90. USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, General Technical Report RM-200.
- Burr, K., R. W. Tinus, S. J. Wallner and R. M. King. 1989. Relationships among cold hardiness, root growth potential and bud dormancy in three conifers. *Tree Physiology* 5:291-306.
- Burr, K.E., R.W. Tinus, S.J. Wallner and R.M. King. 1990. Comparison of three cold hardiness tests for conifer seedlings. *Tree Physiol.* 6:351-369.

- Burr, K.E., C.D.B. Hawkins, S.J. L'Hirondelle, W.D. Binder, M.F. George and R. Tapani. 2001. Methods for measuring cold hardiness of conifers. F.J. Bigras and S.J. Colombo (eds.), *Conifer Hardiness*, p. 369-401, Kluwer Academic Press, The Netherlands.
- Campbell, R.K. 1978. Regulation of bud burst timing by temperature and photoperiod regime during dormancy. Pp 19-34 In: *Proceedings of Fifth North American Forest Biology Workshop*, (Eds.) C.A. Hollis and A.E. Squillace, Southeastern Forest Experiment Station, USDA Forest Service.
- Cannell, M.G.R. and L.J. Sheppard. 1982. Seasonal changes in the frost hardiness of provenances of *Picea sitchensis* in Scotland. *Forestry* 55:137-153.
- Cannell, M.G. R., P.M. Tabbush, J.D. Deans, M.K. Hollingsworth, L.J. Sheppard, J.J. Phillipson and M. B. Murray. 1990. Sitka spruce and Douglas-fir seedlings in the nursery and in cold storage: root growth potential, carbohydrate content, dormancy, frost hardiness and mitotic index. *Forestry* 63:9-27.
- Chiatante, D., A. Di Iorio, M. Sarnataro and G.S. Scippa. 2002. Improving vigour assessment of pine (*Pinus nigra* Arnold) seedlings before their use in reforestation. *Plant Biosystems* 136:209-216.
- Colombo S.J. 2005. The thin green line: a symposium on the state-of-the-art in reforestation, proceedings. Ontario Ministry of Natural Resources, Forest Research Information Paper 160. 175 p.
- Colombo, S.J. 2009. Personal communication. Sault Saint Marie, ON: Ontario Ministry of Natural Resources.
- Colombo S.J., P.H. Sampson, C.W.G. Templeton, T.C. McDonough, P.A. Menes, D. DeYoe and S.C. Grossnickle. 2001. Assessment of nursery stock quality in Ontario. Pp 307-323 In: *Regenerating the Canadian forest: principles and practice for Ontario*, (Eds.) R.G. Wagner and S.J. Colombo, Ontario Ministry of Natural Resources and Fitzhenry & Whiteside Ltd.
- Colombo, S.J., S. Zhao, and E. Blumwald. 1995. Frost hardiness gradients in shoots and roots of *Picea mariana* seedlings. *Scand. J. For. Res.* 9:1-5.
- Coursolle, C. F. J. Bigras, and H.A. Margolis. 2000. Assessment of root freezing damage of two-year-old white spruce, black spruce and jack pine seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research* 15:343-353.
- Demig-Adams, B. and W.W. Adams. III. 1992. Photoprotection and other responses of plants to high light stress. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 43:599-626.
- Dexter, S.T., W.E. Tottingham, and L.F. Graber. 1932. Investigations of the hardiness of plants by measurement of electrical conductivity. *Plant Physiol.* 7:63-78.
- Dixon, H.H. 1914. *Transpiration and the ascent of sap in plants.* MacMillan, New York.
- Dominguez-Lerena S, Herrero Sierra H, Carrasco Manzano I, Ocana Bueno L, Penuelas Rubira JL, Mexal, JG. 2006. Container characteristics influence *Pinus pinea* seedling development in the nursery and field. *Forest Ecology and Management* 221(1-3): 63-71.
- Duryea M.L. 1985. *Evaluating Seedling Quality: principles, procedures and predictive abilities of major tests.* For. Res. Lab., Oregon State Univ., Corvallis. 143 p.
- Duryea, M.L. and T.D. Landis (Eds.) 1984. *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings.* Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers, The Hague/Boston/Lancaster, for Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis, 385 p.
- Folk, R.S., S.C. Grossnickle, P. Axelrod and D. Trotter. 1999. Seed lot, nursery, and bud dormancy effects on root electrolyte leakage of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii*) seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 29:1269-1281.
- Frampton, J. F. Ksik and B. Goldfarb. 2002. Effects of nursery characteristics on field survival and growth of loblolly pine rooted cuttings. *Southern Journal of Applied Forestry.* 26:207-213.

- Genty, B., J.-M. Briantais and N.R. Baker. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochemica et Biophysica Acta* 990:97-92.
- George, M.F., M.J. Burke, H.M. Pellett, and A.G. Johnson. 1974. Low temperature exotherms and woody plant distribution. *HortScience* 9:519-522.
- Glerum, C. 1976. Frost hardiness of forest trees. Pp. 403-420 In: *Tree Physiology and Yield Improvement*. Ed. M.G.R. Cannell and F.T. Last. Academic Press, New York, London.
- Government of Quebec, 2007. [Field guide : Grading of containerized conifer stock]. Guide terrain : Inventaire de qualification des plants résineux cultivés en récipient. Québec, QC (Canada). Ministère des Ressources Naturelles et de la Faune, Direction de la production des semences et des plants, 128 pages.
- Govindje. 1995. Sixty-three years since Kautsky: Chlorophylla fluorescence. *Australian Journal of Plant Physiology*. 22:131-160.
- Greer, D.H.; Leinonen I.; Repo, T. 2001. Modelling cold hardiness development and loss in conifers. In: Bigras, F.J.; Colombo, S.J. eds. *Conifer cold hardiness*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers: 437-460.
- Grossnickle, S.C. 2000. *Ecophysiology of northern spruce species: the performance of planted Seedlings*, NRC Research Press and National Research Council of Canada. 409 p.
- Grossnickle, S. C. 2005. Seedling size and reforestation success. How big is big enough? IN: Colombo SJ, comp. *The Thin Green Line : a symposium on the state-of-the-art in reforestation, proceedings*. Forest Research Information Paper 160. Sault Ste. Marie, ON: Ministry of Natural Resources, Ontario Forest Research Institute: 144-149.
- Grossnickle, S.C. 2008. Personal communication
- Grossnickle, S.C. and R.S. Folk. 1993. Stock quality assessment: forecasting survival or performance on a reforestation site. *Tree Planters Notes* 44:113-121.
- Grossnickle, S.C.; Major, J.E.; Arnott, J.T.; Lemay, V.M. 1991. Stock quality assessment through an integrated approach. *New Forests* 5(2): 77-91.
- Haase, D.L. 2008. Understanding forest seedling quality: measurements and interpretation. *Tree Planters' Notes* 52(2): 24-30.
- Haase, D.L.; Rose, R. 1995. Vector analysis and its use for interpreting plant nutrient shifts in response to silvicultural treatments. *Forest Science* 41(1): 54-66.
- Harper, C.P. and C.O. O'Reilly. 2000. Effect of warm storage and date of lifting on the quality of Douglas-fir seedlings. *New Forests* 20:1-13.
- Harrington JT, Mexal JD, Fisher JT. 1994. Volume displacement method provides a quick and accurate way to quantify new root production. *Tree Planters' Notes* 45:121-124.
- Helenius, P., J Luoranen and R. Rikala. 2005. Physiological and morphological responses of dormant and growing Norway spruce container seedlings to drought after planting. *Annals of Forest Science* 62:201-207.
- Hermann, R.K. 1967. Seasonal variation in sensitivity of Douglas-fir seedlings to exposure of roots. *Forest Science* 13:140-149.
- Hines FD, Long JN. 1986. First and second-year survival of containerized Engelmann spruce in relation to initial seedling size. *Canadian Journal of Forest Research* 16(3): 668-670.
- Howell, K.D. and T.B. Harrington. 2004. Nursery practices influence seedling morphology, field performance, and cots efficiency of containerized cherrybark oak. *Southern Journal of Applied Forestry*. 28:152-162.
- J.H. Stone Nursery. 1996. *Nursery Handbook-Folder 6075 Quality Monitoring*. USDA Forest Service, J.H. Stone Nursery, Central Point, OR
- Jenkinson JL. 1975. Seasonal patterns of root growth capacity in western yellow pines. Washington, DC: *Proceedings of Society of American Foresters.. 75th National Convention*. 9 p.

- Jenkinson, J.L.; Nelson, J.A.; Huddleston, M.E. 1993. Improving planting stock quality — the Humboldt experience. General Technical Report PSW-143. Berkeley, CA: USDA Forest Service, Pacific Southwest Research Station. 219 p.
- Jobidon, R., L. Charette and P.Y. Bernier. 1998. Initial size and competing vegetation effects on water stress and growth of *Picea mariana* (Mill.) seedlings planted in three different environments. *Forest Ecology and Management* 103:293-305.
- Jones GE, Cregg BM. 2006. Budbreak and winter injury in exotic firs. *HortScience* 41(1): 143-148.
- Kooistra CM. 2003. Seedling storage and handling in western Canada. In: Riley LE, Dumroese RK, Landis TD, technical coordinators. National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2003. Ogden (UT): USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Proceedings RMRS-P-33: 15-21.
- Krause GH and Weis E. 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 42:313-349.
- Landis, TD. 1985. Mineral nutrition as an index of seedling quality. IN: Duryea ML, ed. Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests: proceedings of a workshop. Oregon State University, Forest Research Lab. p. 29-48.
- Landis TD. 2007. Miniplug transplants: Producing Large Plants Quickly. In: Riley LE, Dumroese RK, Landis TD, technical coordinators. National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2006. Ogden (UT): USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Proceedings (In Press).
- Landis T.D. and R.G. Skakel. 1988. Root growth potential as an indicator of outplanting performance: problems and perspectives. In: Landis TD, ed. Proceedings, Combined Meeting of the Western Forest Nursery Associations; 1988, August 8-11; Vernon, BC. Ft. Collins, CO: Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. General Technical Report RM-167:106-110.
- Landis TD, Tinus RW, McDonald SE, Barnett JP. 1989. Seedling Nutrition and Irrigation, Vol. 4, The Container Tree Nursery Manual. Agric. Handbk. 674. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Forest Service. 119 p.
- Landis, T.D.; Haase, D.L.; Dumroese, R.K. 2005. Plant nutrient testing and analysis in forest and conservation nurseries. IN: National proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations, 2004. Ft. Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station, Proceedings RMRS-P-35, p.76-84.
- Lavender DP. 1984. Bud dormancy. Pages 7-15 In: Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests. (Ed.) M. L. Duryea. Workshop held October 16-18, 1984. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis.
- L'Hirondelle SJ, Simpson DG, Binder WD. 2007. Chlorophyll fluorescence, root growth potential, and stomatal conductance as estimates of field performance potential in conifer seedlings. *New Forests* 34: 235-251.
- Lindqvist, H. 2000. Plant vitality in deciduous ornamental plants affected by lifting date and cold storage. Doctoral Thesis, Swedish University of Agricultural Sciences, Alnarp, Sweden.
- Lindström, A. and A. Mattson. 1989. Equipment for freezing roots and its use to test cold resistance of young and mature roots of Norway spruce seedlings. *Scandinavian Journal of Forest Research* 4:59-66.

- Lopushinsky, W. 1990. Seedling moisture status. Pages 123-138 In: Target Seedling Symposium Proceedings, Combined meeting of Western Forest Nursery Associations: (Ed. R. Rose, S.J. Campbell and T.D. Landis), Aug 13-17, 1990. Roseburg, OR, U. S. Forest Service General Technical Report RM-200.
- Lopushinsky W. Max TA. 1990. Effect of soil temperature on root and shoot growth and on budburst timing in conifer seedling transplants. *New Forests* 4(2):107-124.
- Maki, D.S.; Colombo, S.J. 2001. Early detection of the effects of warm storage on conifer seedlings using physiological tests. *Forest Ecology and Management* 154(1-2): 237-249.
- Marshall JD. 1983. Carbohydrate status as a measure of seedling quality. IN: Duryea ML, ed. Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests: proceedings of a workshop. Oregon State University, Forest Research Lab. p. 49-58.
- McCreary, D and M.L. Duryea. 1984. OSU vigor tests: principles, procedures and predictive ability. Pp 85-92 In: Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests. (Ed.) M. L. Duryea. Workshop held October 16-18, 1984. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis.
- McKay, H.H. 1998. Root electrolyte leakage and root growth potential as indicators of spruce and larch establishment. *Silva Fennica* 32:241-252.
- McKay, H.H. 1992. Electrolyte leakage from fine roots of conifer seedlings: a rapid index of plant vitality following cold storage. *Canadian Journal of Forest Research* 22: 1371-1377.
- McKay, H.H. and I.M.S. White. 1997. Fine root electrolyte leakage and moisture content: indices of Sitka spruce and Douglas-fir seedling performance after desiccation. *New Forests* 13:139-162.
- McKay, H.H. and W.L. Mason. 1991. Physiological indicators of tolerance to cold storage in Sitka spruce and Douglas-fir seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 21:890-901.
- McKay, H.H. and A. D. Milner. 2000. Species and seasonal variability in the sensitivity of seedling conifer roots to drying and rough handling. *Forestry* 73:259-270.
- McKay, H.H. and J.L. Morgan. 2001. The physiological basis for the establishment of bare-root larch seedlings. *Forest Ecology and Management* 142:1-18.
- McDonald, S.E., and S.W. Running. 1979. Monitoring irrigation in western forest tree nurseries. General Technical Report RM-61. Ft. Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. 8 p.
- McMinn, R.G. 1982. Size of container-grown seedlings should be matched to site conditions. Pages 307-312 In: Proceedings, Canadian Containerized Tree Seedling Symposium, September 14-16, 1981, Toronto, Ontario, J.B. Scarratt, C. Glerum, and C.A. Paxman (Eds.), COJFRC Symposium Proceedings O-P-10. Canadian Forestry Service, Great Lakes Forestry Center, Sault Ste. Marie, Ontario.
- Mena-Petite, A., U. Ortega-Lasuen, M.B. González-Moro, M. Lacuesta and A. Muñoz-Rueda. 2001. Storage duration and temperature effect on the functional integrity of container and bare-root *Pinus radiata* D. Don seedlings. *Trees* 15:289-296.
- Mena-Petite, A., A. Robreto, S. Alcalde, M.K. Duñabeitia, M.B. González-Moro, M. Lacuesta and A. Muñoz-Rueda. 2003. Gas exchange and chlorophyll fluorescence responses of *Pinus radiata* D. Don seedlings during and after several storage regimes and their effects on post-planting survival. *Trees* 17:133-143.
- Mena-Petite, A., J.M. Estavillo, M. Duñabeitia, B. González-Moro, A. Muñoz-Rueda and M. Lacuesta. 2004. Effect of storage conditions on post planting water status and performance of *Pinus radiata* D. Don stock-types. *Annals of Forest Science*. 61:695-704.

- Mexal, J.G. and T.D. Landis. 1990. Target seedling concepts: height and diameter. Pages 17-35 In: Target Seedling Symposium, Proceedings, Combined Meeting of the Western Forest Nursery Associations; 1990 August 13-17; Roseburg, Oregon. R. Rose, S.J. Campbell and T.D. Landis (eds.); Gen. Tech. Rep. RM-200, Ft. Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service.
- Mohammed, G.H., W.D. Binder and S.L. Gillies. 1995. Chlorophyll fluorescence: a review of its practical forestry applications and instrumentation. *Scandinavian Journal of Forest Research*. 10:383-410.
- Öquist, G., P. Gardeström, and N.P.A. Huner. 2001. Metabolic changes during cold acclimation and subsequent freezing and thawing. Pp.137-163, In: *Conifer Cold Hardiness*, F. J. Bigras and S.J. Colombo (Eds.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- O'Reilly, C., N. McCarthy, M. Keane, C.P. Harper, and J.J. Gardiner. 1999. The physiological status of Douglas fir seedlings and the field performance of freshly lifted and cold stored stock. *Annals of Forest Science* 56:297-306.
- Palta, J.P., J. Levitt and E.J. Stadlemann. 1977. Freezing injury in onion bulb cells. I. Evaluation of the conductivity method and analysis of ion and sugar efflux from injured cells. *Plant Physiology* 60:393-397.
- Peguero-Pina, J.J.; Morales, F.; Gil-Pelegrin, E. 2008. Frost damage in *Pinus sylvestris* L. stems assessed by chlorophyll fluorescence in cortical bark chlorenchyma. *Annals of Forest Science* 65 (813) 6 p.
- Perks, M.P., S. Monaghan, C.O'Reilly, B.A. Osborne and D.T. Mitchell. 2001. Chlorophyll fluorescence characteristics, performance and survival of freshly lifted and cold stored Douglas-fir seedlings. *Annals of Forest Science*. 58:225-235.
- Perry, K. 1998. Basics of frost and freeze protection for horticultural crops. *HortTechnology* 8:10-15.
- Perry, T.O. 1971. Dormancy of trees in winter. *Science* 171:29-36.
- Puttonen P. 1986. Carbohydrate reserves in *Pinus sylvestris* seedling needles as an attribute of seedling vigor. *Scandinavian Journal of Forest Research* 1(2): 181-193.
- Quamme, H.A. 1985. Avoidance of freezing injury in woody plants by deep supercooling. *Acta Horticultura*, 168:11.
- Richardson, E.A., S.D. Seeley and D.R. Walker. 1974. A model for estimating the completion of rest for "Redhaven" and "Elberta" peach trees. *HortScience* 9:331-332.
- Rietveld, W.J. and R.W. Tinus. 1990. An integrated technique for evaluating root growth potential of tree seedlings. Research Note RM-497. Ft. Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station. 11p.
- Ritchie, G.A. 1984a. Effect of freezer storage on bud dormancy release in Douglas-fir seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 14:186-190.
- Ritchie, G. A. 1984b. Assessing seedling quality. Pages 243-259 In: *Forest nursery manual: production of bareroot seedlings* (Ed. M.A. Duryea and T.D. Landis), Martinus Nijhoff/Dr. W Junk Publ. The Hague/Boston/Lancaster, for Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis.
- Ritchie GA. 1985. Root growth potential: principles, procedures and predictive ability. Pages 93-104, In: *Proceedings - Evaluating seedling quality: principles, procedures and predictive ability of major tests*. Duryea, ML, (Ed.), Workshop held October 16-18, 1984. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis.
- Ritchie, G. A. 1986. Relationships among bud dormancy status, cold hardiness, and stress resistance in 2+0 Douglas-fir. *New Forests* 1:29-42.
- Ritchie, G.A. 1989. Integrated growing schedules for achieving physiological uniformity in coniferous planting stock. *Forestry (Suppl.)* 62: 213-226.
- Ritchie, G.A. 1991. Measuring cold hardiness. Pages 557-582, In: *Techniques and approaches in forest tree ecophysiology* (J.P. Lassoie and T. M. Hinckley, Eds). CRC Press, Boca Raton, FL.

- Ritchie, G.A. 2000. The informed buyer: understanding seedling quality. Pages 51-56 In: *Advances and Challenges in Forest Regeneration*, (Eds.) R. Rose and D.L. Haase, Conference Proceedings, Nursery Technology Cooperative, Oregon State University and Western Forestry and Conservation Association.
- Ritchie, G.A. and T.M. Hinckley. 1975. The pressure chamber as an instrument for ecological research. *Adv. Ecol. Res.* 9:165-254.
- Ritchie G.A., and J.R. Dunlap. 1980. Root growth potential: its development and expression in forest tree seedlings. *New Zeal. J. For. Sci.* 10:218-248.
- Ritchie, G.A. and R.G. Shula. 1984. Seasonal changes of tissue-water relations in shoots and root systems of Douglas-fir seedlings. *For. Sci.* 30:538-458.
- Ritchie, G.A., J.R. Roden and N. Kleyn. 1985. Physiological quality of lodgepole pine and interior spruce seedlings: effects of lift date and duration of freezer storage. *Canadian Journal of Forest Research* 15:636-645.
- Ritchie GA, and Tanaka Y. 1990. Root growth potential and the target seedling. In: Rose R, Campbell SJ, Landis TD. eds. *Target Seedling Symposium: roceedings, combined meeting of the western forest nursery associations; 1990 /aug 13-17; Roseburg, OR. Ft. Collins, CO: USDA Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, Gen. Tech. Rep. RM-200.: 37-51.*
- Ronco F. 1973. Food reserves of Engelmann spruce planting stock. *Forest Science* 19: 213-219.
- Rose, R.R. and D. Haase. 2002. Chlorophyll fluorescence and variations in tissue cold hardiness in response to freezing stress in Douglas-fir seedlings. *New Forests* 2381-96.
- Rose, R., D.L. Haase, F. Kroiher, and T. Sabin. 1997. Root volume and growth of ponderosa pine and Douglas-fir seedlings: A summary of eight growing seasons. *Western Journal of Applied Forestry.* 12:69-73.
- Sakai, A. and C.J. Weiser. 1973. Freezing resistance of trees in North America with reference to tree regions. *Ecology* 54:118-126.
- Scholander, P.F., H.T. Hammel, E.D. Bradstreet and E.A. Hemmingson. 1965. Sap pressure in vascular plants. *Science* 148:339-346.
- Schreiber, U., W. Bilger and C. Neubauer. 1995. Chlorophyll fluorescence as a nonintrusive indicator of rapid assessment of in vivo photosynthesis. Pp. 48-70 In: E-O Schultze and M.M. Caldwell, (Eds.) *Ecophysiology of Photosynthesis.* Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- Simpson DG. 1990. Frost hardiness, root growth capacity, and field performance relationships in interior spruce, lodgepole pine, Douglas-fir, and western hemlock seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 20:566-572.
- Simpson DG, and G.A. Ritchie. 1997. Does RGP predict field performance? A Debate. *New Forests* 13:253-277.
- Slatyer, R.O. 1967. *Plant water relationships.* Academic Press, London and New York.
- Sorensen, F. C. 1983. Relationship between logarithms of chilling period and germination or bud flush rate is linear for many tree species. *Forest Science* 29:237-240.
- South DB, Mitchell RG. 2006. A Root-Bound Index for Container-Grown Pines. IN: Colombo SJ, comp. *The Thin Green Line : a symposium on the state-of-the-art in reforestation, proceedings.* Forest Research Information Paper 160. Sault Ste. Marie, ON: Ministry of Natural Resources, Ontario Forest Research Institute: 88-93.
- Stattin, E., C. Hellqvist and A. Lindström. 2000. Storability and root freezing tolerance of Norway spruce (*Picea abies*) seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 30:964-970.
- Stone EC 1955. Poor survival and the physiological condition of planting stock. *Forest Science* 1:90-94.
- Sutinen, M-L, R. Arora, M. Wisniewski, E. Ashworth, R. Strimbeck and J. Palta. 2001. Mechanisms of frost survival and freeze-damage in nature. Pp. 89-120, In: *Conifer Cold Hardiness*, (Eds.) F. J. Bigras and S.J. Colombo, Kluwer Academic Publishers, the Netherlands.

- Sutton RF. 1983. Root growth capacity: relationship with field root growth and performance in outplanted jack pine and black spruce. *Plant and Soil* 71:111-122.
- Sundheim, I., and K. Kohmann. 2001. Effects of thawing procedure on frost hardiness, carbohydrate content and timing of bud break in *Picea abies*. *Scandinavian Journal of Forest Research* 16:30-36.
- Tanaka Y, Brotherton P, Hostetter S, Chapman D, Dyce S, Belanger J, Johnson B, Duke S. 1997. The operational planting stock quality testing program at Weyerhaeuser. *New Forests* 13:423-437.
- Thiffault N. 2004. Stock type in intensive silviculture: a (short) discussion about roots and size. *Forestry Chronicle* 80(4): 463-468.
- Thompson, B.E. 1985. Seedling morphological evaluation: what you can tell by looking. Pages 59-71, In: *Proceedings - Evaluating seedling quality: principles, procedures and predictive ability of major tests*. Duryea, ML, (Ed.), Workshop held October 16-18, 1984. Forest Research Laboratory, Oregon State University. Corvallis.
- Timmer, VR. 1997. Exponential nutrient loading: a new fertilization technique to improved seedling performance on competitive sites. *New Forests* 13:279-299.
- Timmis, R. 1976. Methods of screening tree seedlings for frost hardiness. Pp. 421-435 In: *Tree Physiology and Yield Improvement*. (Eds.) M.G.R. Cannell and F.T. Last. Academic Press, New York, London.
- Timmis, R. and J. Worrall. 1975. Environmental control of cold acclimation in Douglas-fir during germination, active growth and rest. *Can. J. For. Res.* 5:464-477.
- Timmis R, Tanaka, Y. 1976. Effects of container density and plant water stress on growth and cold hardiness of Douglas-fir seedlings. *Forest Science* 22(2): 167-172.
- Timmis K.A., Fuchigami LH, Timmis R. 1981. Measuring dormancy: the rise and fall of square waves. *HortScience* 16: 200-202.
- Toivonen, A.; Rikala, R.; Repo, P.; Smolander, H. 1991. Autumn colouration of first year *Pinus sylestris* seedlings during frost hardening. *Scandinavian Journal of Forest Research* 6(1): 31-39.
- van den Driessche, R. 1984. Relationship between spacing and nitrogen fertilization of seedlings in the nursery, seedling mineral nutrition, and outplanting performance. *Can. J. For. Res.* 14:431-436.
- van den Driessche, R. 1977. Survival of coastal and interior Douglas-fir seedlings after storage at different temperatures, and effectiveness of cold storage in satisfying chilling requirements. *Canadian Journal of Forest Research* 7:125-131.
- van den Driessche R. 1987. Importance of current photosynthate to new root growth in planted conifer seedlings. *Canadian Journal of Forest Research* 17:776-782.
- van den Driessche R. 1991. New root growth of Douglasfir seedlings at low carbon dioxide concentration. *Tree Physiology* 8:289-295.
- Balk PA, Bronnum P, Perks M, Stattin E, van der Geest LHM, van Wordragen MF. 2007. Innovative Cold Tolerance Test for Conifer Seedlings. IN: Riley, L.E.; Dumroese, R.K.; Landis, T.D., tech. coords. *National Proceedings: Forest and Conservation Nursery Associations—2006*. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. Proceedings, RMRS-P-50: 9-12.
- Vidaver W, p. Toivonen, G. Lister, R. Brooke and W. Binder 1988. Variable chlorophyll-A fluorescence and its potential use in tree seedling production and forest regeneration. In: Landis TD, technical coordinator. *Proceedings, combined meeting of the western forest nursery associations; 1988 August 8-11; Vernon, British Columbia*. General Technical Report RM-167. Fort Collins, CO: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station: 127-132.
- Vidaver, W.E., G.R. Lister, R.C. Brooke and W.D. Binder. 1991. A manual for the use of variable chlorophyll fluorescence in the assessment of the ecophysiology of conifer seedlings. FRDA Report 163, British Columbia, Canada.

- Wakeley P.C. 1954. Planting the Southern Pines. Agricultural Monograph No. 18. Washington, DC: USDA-Forest Service. 233 p.
- Wakeley P.C. 1949. Physiological grades of southern pine nursery stock. In: Shirley, H.L., ed. Proceedings Society of American Foresters Annual Meeting: 311-321.
- Waring, R.H.; Cleary, B.D. 1967. Plant moisture stress: evaluation by pressure bomb. *Science* 155: 1248- 1254.
- Weiser, C.J. 1970. Cold resistance and injury in woody plants. *Science* 169: 1269-1278.
- Wenny, D.L.; Swanson, D.J.; Dumroese, R.K. 2002. The chilling optimum of Idaho and Arizona ponderosa pine buds. *Western Journal of Applied Forestry* 17: 117-121.
- Wheeler, N.C.; Jermstad, K.D.; Krutovsky, K.; Aitken, S.N.; Howe, G.T.; Krakowski, J.; Neale, D.B. 2005. Mapping of quantitative trait loci controlling adaptive traits in coastal Douglas-fir. IV. Cold-hardiness QTL verification and candidate gene mapping. *Molecular Breeding* 15: 145-156.
- Wilner, J. 1955. Results of laboratory tests for winter hardiness of woody plants by electrolyte methods. *Proceedings of the American Horticultural Society* 66: 93-99.
- Wilner, J. 1960. Relative and absolute electrolyte conductance tests for frost hardiness of apple varieties. *Canadian Journal of Plant Science* 40: 630-637.
- Wilson, B.C.; Jacobs, D.F. 2006. Quality assessment of temperate and deciduous hardwood seedlings. *New Forests* 31: 417-433.

7.2.11 Apéndice

Apéndice 7.2.1 Laboratorios comerciales que realizan pruebas de calidad de planta y sus procedimientos

Compañía	Dirección	Pruebas que realizan			
		Morfología	Potencial de crecimiento de la raíz	Resistencia al frío	Otras
Cooperativa Tecnología Viveros	de en Universidad Estatal de Óregon Facultad de Ciencias Forestales Richardson Hall 321 Corvallis, OR 97331 Tel: 541-7376576 Fax: 541-7371393 http://ntc.forestry.oregonstate.edu/sqes	X		X	
Consultores Forestales KBM	SQA Coordinador 349 Money Avenue Thunder Bay, ON P7B 5L5 Tel: 807-3455445 ext. 34 Fax: 807-3453440 Correo-E: sgellert@kbm.on.ca	X	X	X	X
Laboratorio para Suelos Forestales y Calidad Ambiental	Centro Tweddale para la Investigación Forestal Industrial 1350 Regent Street Fredericton, NB E3C 2G6 Tel: 506-4587817 Fax: 506-4533574 Correo-E: jestey@unb.ca	X	X	X	X
Vivero Franklin H. Pitkin	Centro de Investigación de Plantas y Viveros Forestales Colegio de Recursos Naturales Universidad de Idaho Moscow, ID 83844-1137 Tel: 208-8857023 Fax: 208-8856226 Correo-E: seedlings@uidaho.edu	X	X	X	X