

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE AGRONOMÍA

MANEJO QUÍMICO DE LA SALIDA DE LA
DORMICIÓN EN MANZANO
(*Malus domestica* Borkh.) cv. Brasil Gala

por

Lucía SORIA RONDEAU

TESIS presentada como uno de
los requisitos para obtener el
título de Ingeniero Agrónomo

MONTEVIDEO
URUGUAY
2009

Tesis aprobada por:

Director: -----

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Nombre completo y firma

Fecha: -----

Autor: -----

Nombre completo y firma

AGRADECIMIENTOS

A mi padre, por todo.

A todo el equipo de Ecofisiología de cultivos. En primer lugar, al grupo de Caducas, en especial a la directora de la tesis Vivian Severino, a Héctor Arbiza y Mercedes Arias, por todo el apoyo y empuje. A Javier Calcetto y Marcia García, por toda la ayuda y consejos. También al equipo de Cítricos: a Sebastián, Cristian y Cecilia, por la ayuda, a Ximena por la traducción, a Alfredo por todo el apoyo y las correcciones.

A los productores, Julio Yaquina y Daniel Rodríguez Maestro, y los encargados de las quintas, Roberto y Martín Chapper, por permitirnos desarrollar el ensayo.

A Gustavo y Ale por las correcciones y aportes.

A Franco, Amandi y mamá. A todos mis amigos.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES.....	VIII
 1 <u>INTRODUCCIÓN</u>	 1
1.1 OBJETIVO PRINCIPAL	2
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	2
 2 <u>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</u>	 3
2.1 LA DORMICIÓN DENTRO DEL CICLO ANUAL DEL ÁRBOL FRUTAL CADUCO	3
2.2 CONCEPTO DE DORMICIÓN	3
2.3 FASES DE LA DORMICIÓN	4
2.4 PROGRESO DE LA DORMICIÓN	5
2.5 ENTRADA EN ENDODORMICIÓN	7
2.6 REGULACION AMBIENTAL DEL MANTENIMIENTO Y SALIDA DE LA ENDODORMICIÓN	9
2.6.1 <u>Temperaturas efectivas</u>	9
2.6.2 <u>Efecto de las altas temperaturas</u>	10
2.6.3 <u>Efecto de ciclos de alternancia de temperaturas</u>	11
2.6.4 <u>Implicancia de otros factores</u>	11

2.7	REGULACION ENDÓGENA DEL MANTENIMIENTO Y SALIDA DE LA ENDODORMICIÓN	12
2.7.1	<u>Balance hormonal</u>	13
2.7.1.1	Auxinas	13
2.7.1.2	Ácido abscísico (ABA)	13
2.7.1.3	Giberelinas (GAs)	15
2.7.1.4	Citoquininas (Cks)	16
2.7.1.5	Etileno	17
2.7.2	<u>Cambios en el estado del agua en la yema</u>	17
2.7.3	<u>Cambios en la composición y permeabilidad de las membranas celulares</u>	19
2.7.4	<u>Cambios en el potencial anabólico de las yemas</u>	20
2.7.4.1	Metabolismo energético de la yema	20
2.7.4.2	Cantidad y actividad de la ATP-asa de las membranas	20
2.8	SALIDA DE LA DORMICIÓN	21
2.8.1	<u>Condición en la planta</u>	21
2.8.2	<u>Consecuencias de la falta de frío invernal</u>	23
2.8.3	<u>Mecanismos para compensar la falta de frío invernal</u>	24
2.8.3.1	Utilización de compuestos químicos	25
2.8.3.2	Aceite mineral	26
2.8.3.3	Cianamida hidrogenada (H ₂ CN ₂)	28
2.8.3.4	Mezclas con cianamida	31
2.8.3.5	Erger G [®]	32
2.8.3.6	Sales – Nitrato de potasio (KNO ₃)	33
2.8.3.7	Selección de variedades adaptadas, mejoramiento genético	33
2.8.3.8	Físicos - Hidrocooling	34
2.8.3.9	Físicos - Poda y arqueado de ramas	34
2.8.3.10	Otros métodos físicos	35
2.8.4	<u>Algunos indicadores de la salida de la dormición</u>	35
2.8.4.1	Cambios en la respiración de las yemas	35
2.8.4.2	Cambios en el contenido de proteínas y carbohidratos de las yemas	36
2.8.5	<u>Requerimientos de calor para la brotación</u>	38
2.9	FRÍO INVERNAL – REQUERIMIENTOS Y DISPONIBILIDAD	39
2.9.1	<u>Requerimiento de frío</u>	39
2.9.1.1	Diferencias entre tipos de yemas	39
2.9.1.2	Diferencias entre variedades	41
2.9.1.3	Factores moduladores	42

2.9.2	<u>Métodos de cálculo del frío</u>	42
2.9.3	<u>Caracterización del frío invernal en Uruguay</u>	43
3	<u>MATERIALES Y MÉTODOS</u>	45
3.1	UBICACIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL DEL ENSAYO	45
3.2	CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL VEGETAL	45
3.3	DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS	45
3.4	VARIABLES EVALUADAS	46
3.4.1	<u>Acumulación del frío</u>	46
3.4.2	<u>En brotación</u>	47
3.4.3	<u>En cosecha</u>	48
3.5	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	48
4	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u>	50
4.1	ACUMULACION DE FRIO	50
4.2	BROTACIÓN	55
4.2.1	<u>Porcentaje de brotación total</u>	55
4.2.1.1	Efecto del momento de aplicación	57
4.2.1.2	Efecto del producto aplicado	62
4.2.1.3	Comparación entre el efecto momento de aplicación y producto aplicado	65
4.2.2	<u>Evolución de la brotación</u>	66
4.2.3	<u>Brotación final</u>	68
4.3	EVALUACIÓN DE LA FRUTA AL MOMENTO DE LA COSECHA	69
4.3.1	<u>Peso de fruto</u>	70
4.3.2	<u>Estado de madurez del fruto</u>	72
5	<u>CONCLUSIONES</u>	74
6	<u>RESUMEN</u>	76

7	<u>SUMMARY</u>	77
8	<u>BIBLIOGRAFÍA</u>	78
9	<u>ANEXOS</u>	86

LISTA DE CUADROS E ILUSTRACIONES

Cuadro No.	Página
1. Características de los productos compensadores de frío Utilizados	45
2. Fechas de las aplicaciones.....	46
3. Tratamientos realizados.....	46
4. Velocidad de brotación (1/días) según fecha de extracción.....	51
5. Unidades de frío acumuladas considerando velocidad de brotación.....	51
6. Unidades de frío acumuladas considerando porcentaje de brotación.....	51
7. Significancia de los tratamientos por fecha	55
8. Tratamientos diferentes estadísticamente del testigo.....	55
9. Significancia de los efectos principales y la interacción para el factorial 3 x 2.....	56
10. Significancia de los efectos principales y la interacción para el factorial 2 x 5	56
11. Significancia por fecha de evaluación.....	56
12. Porcentaje de brotación por fecha según momento de aplicación.....	57
13. Fecha en la cual los tratamientos alcanzan el 20%, 40% y 60% de brotación.....	59
14. Porcentaje de brotación por fecha de evaluación según producto.....	62

15.	Temperaturas promedio y máxima durante las aplicaciones.....	64
16.	Porcentaje de brotación por fecha según edad de la rama.....	66
17.	Brotación final (%) según edad de la rama en cada momento de aplicación.....	68
18.	Brotación final (%) según estructura en cada momento de aplicación.....	69
19.	Peso de fruto (grs) según producto aplicado.....	70
20.	Peso de fruto (grs) según momento de aplicación	70
21.	Presión de pulpa de los frutos según tratamiento.....	73
22.	Contenido de sólidos solubles según tratamiento	73

Figura No.

1.	Porcentaje de brotación en cámara según fecha de extracción	50
2.	Unidades de frío acumuladas durante la endodormición por fecha según modelo.....	53
3.	Temperatura media por fecha según datos de casilla de la estación meteorológica Las Brujas (mediana, superior, inferior y 2008) y datos de campo.....	53
4.	Porcentaje de brotación por fecha según momento de aplicación	57
5.	Porcentaje de brotación por fecha de evaluación según producto.....	62
6.	Porcentaje de brotación por fecha según estructura	66

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de manzana en Uruguay, con cerca de 3.500 hectáreas plantadas, es la principal especie dentro de los frutales de hoja caduca, tanto en superficie (47%) como en volumen producido (60%), según datos de DIEA para la zafra 2008/09.

Si bien el destino principal de la fruta es el mercado interno, el volumen y el ingreso en dólares por exportaciones de manzanas ha ido en aumento, principalmente a partir del año 2003, llegando a exportarse 10 mil ton en 2007, que reeditaron casi 5 millones de dólares (URUGUAY. MGAP. OPYPA, 2008). Este factor ha funcionado como impulsor del crecimiento del rubro. El principal mercado comprador de dicha fruta es la Unión Europea, 70% del volumen en 2007, fundamentalmente Holanda (URUGUAY. MGAP. OPYPA, 2008). Estos mercados exigen alta calidad de la fruta que se exporta.

Para satisfacer las demandas de una clientela con mayores exigencias en cuanto a la calidad y preocupado por la seguridad alimentaria, los productores deben ser cada vez más competitivos para así lograr mantener el mercado y captar precios que le permitan asegurar la viabilidad económica de su empresa (INIA, Programa de fruticultura). Para ello es necesario obtener altos rendimientos, con buena calidad, sin aumentar excesivamente los costos.

La brotación es una de las etapas fundamentales dentro del ciclo del árbol que afectan el rendimiento y calidad de la fruta. La deficiencia de frío invernal, común en regiones con inviernos benignos y variables, como ocurre en Uruguay, produce en los árboles una brotación tardía, dada solo en yemas terminales, una floración pobre e irregular, gran cantidad de yemas sin brotar, poco cuajado, y por lo tanto, baja producción y de mala calidad (Quintana et al., 2006). El frío ocurrido depende de factores climáticos, y por lo tanto, sujeto a variaciones no controladas por los productores, más aún en el actual panorama de cambio climático global. En este sentido, la práctica más comúnmente utilizada en Uruguay y en el mundo para superar esta problemática es la aplicación de productos químicos. Las dosis, mezclas, y épocas de aplicación son sumamente variables, así como los resultados obtenidos.

Pero a pesar de lo común de la práctica, el problema no se ha resuelto. El producto más utilizado y con probada eficiencia, plantea por un lado problemas de fitotoxicidad en algunas situaciones, y por otro lado se encuentra altamente cuestionado en los mercados de destino de la fruta por su efecto negativo en la salud humana. Más allá de cuál sea el producto a utilizar, la respuesta de la planta a la técnica no es igual todos los años, lo que deriva de la alta influencia en este proceso por un lado del ambiente, fundamentalmente el clima, el cual es cambiante, y de la fisiología de la planta en relación a la dormición, la que algunos autores todavía consideran una “caja negra” (Seeley, 1994).

1.1. OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo principal es evaluar la respuesta en la salida de la dormición de manzanos (*Malus domestica* B.) cv. 'Brasil Gala' frente a la aplicación de diferentes principios activos con citado efecto en la promoción de la brotación, bajo condiciones de frío naturales.

1.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el efecto del momento de aplicación de los productos, asociado a la acumulación de frío ocurrido, sobre la magnitud y distribución de la brotación.
- Analizar comparativamente el efecto momento y producto utilizado en la respuesta de la planta.
- Identificar productos promisorios para futuras investigaciones.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 LA DORMICIÓN DENTRO DEL CICLO ANUAL DEL ÁRBOL FRUTAL CADUCO

A lo largo del ciclo del árbol frutal caduco ocurre una alternancia entre actividad y reposo en las estructuras de la planta (Quintana, 2006).

El crecimiento de los brotes comienza típicamente en la primavera con el aumento de la temperatura y el fotoperíodo, continuándose con un período de rápida elongación del brote, el cual dura algunas semanas en plantas sanas y con buena nutrición (Powell, 1987). Esta elongación eventualmente cesa con la formación de la yema terminal al final de la primavera, probablemente debido a la competencia entre varias fosas de metabolitos (Powell, citado por Powell, 1987).

Este período de actividad vegetativa que comienza en primavera, acaba en otoño con la caída de hojas en frutales caducos. Luego se observa un período de reposo que se inicia a fin de otoño, después de haber cesado el crecimiento de verano, y termina con la siguiente brotación (Agustí, 2004).

Si durante este período, se colectan ramas o yemas, y se las coloca en condiciones que fuerzan la brotación, se observará un aumento en la incapacidad de brotar, y posteriormente un gradual descenso de la misma, adquiriendo paulatinamente las yemas una mayor capacidad de brotación (Saure, 1985).

Aquel período dentro del ciclo en donde se observa que estructuras de la planta que podrían potencialmente estar creciendo no lo hacen se identifica bajo el término o concepto de DORMICIÓN (Lang et al., 1987).

2.2 CONCEPTO DE DORMICIÓN

Según Lang et al. (1987), la definición de dormición en general debe satisfacer tres puntos cruciales:

- 1) Conocimiento de que el crecimiento, desarrollo u actividad se enlentece o detiene
- 2) Descripción de los tejidos en los que se pueden presentar
- 3) Indicación de que el crecimiento puede reasumirse

En relación al punto 1, estos autores plantean que la actividad metabólica y el desarrollo de los tejidos raramente cesan completamente a escala microscópica o bioquímica, por lo que es necesario usar un término relativo, como lo es “reducción”. A su vez, al no existir hasta el momento un factor universal, fácilmente medible y aplicable

a todos los fenómenos de dormición, se utiliza el término “crecimiento visible”, reconociendo que puede ocurrir desarrollo microscópico o actividad metabólica. En relación al punto 2, en un intento por generalizar el concepto, de forma que sea utilizable para todas las estructuras de la planta, es que se considera tejido meristemático a los tejidos que potencialmente pueden crecer, y por lo tanto, entrar en dormición. El último punto hace referencia al aspecto temporal de la dormición.

Considerando los aspectos anteriores, se define a la dormición como: *“suspensión temporal del crecimiento visible de cualquier estructura de la planta que contenga un meristema”* (Lang et al., 1987).

La dormición en frutales caducos de zonas templadas es una fase del desarrollo que ocurre anualmente y que le permite a los árboles sobrevivir a condiciones desfavorables durante el invierno (Saure 1985, Powell 1987, Erez 1995, Ramina et al. 1995, Faust et al. 1997, Agustí 2004). La dormición asegura la sobrevivencia mediante un mecanismo de sincronización ambiental y estacionalidad del crecimiento (Olsen, 2006).

2.3 FASES DE LA DORMICIÓN

Al término dormición se le han agregado ciertos prefijos, que tratan de ubicar con más precisión a qué tipo de inhibición se están refiriendo y cuáles son sus causas (Lang et al., 1987). Esta clasificación ha sido aceptada por la mayoría de los autores contemporáneos (Faust et al. 1997, Agustí 2004).

La dormición se identifica como:

* para-dormición, cuando implica una señal bioquímica específica, originada en otra (“para”) estructura vegetal diferente a la estructura afectada. La señal bioquímica puede ser provocada por el ambiente o no, por ejemplo, el efecto inhibitorio de la yema terminal sobre la actividad de las yemas laterales, en el fenómeno conocido como dominancia apical, y la presencia de las hojas sobre la actividad de su yema axilar (Lang et al. 1987, Quintana 2006); estos efectos pueden terminarse si se elimina el efecto causal, en el primer caso con una poda de despunte, y en el segundo caso la defoliación del árbol (Quintana, 2006).

* eco-dormición, cuando es debida a uno o más factores ambientales que limitan el crecimiento (como agua, temperaturas, nutrientes, etc), en general con un efecto no específico en el metabolismo de toda la planta (Lang et al., 1987)

* endo-dormición, cuando la reacción inicial que conduce a la inhibición del crecimiento, es una percepción específica de una señal, ambiental o endógena, dentro (“endo”) de la estructura afectada (Lang et al., 1987).

La endodormición se la ha dividido en dos etapas: una primera, conocida como endodormición profunda o d-endodormición (deep-endodormancy), y una segunda, como endodormición superficial o s-endodormición (shallow-endodormancy). La primera etapa se caracteriza por la incapacidad de inducir a las yemas al crecimiento bajo condiciones naturales, mientras que en la segunda, es posible quebrar la dormición mediante la aplicación de tratamientos artificiales (Faust et al., 1997).

2.4 PROGRESO DE LA DORMICIÓN

La dormición no es un estado uniforme dentro del desarrollo de las plantas, es más bien un fenómeno que abarca un espectro de condiciones fisiológicas diferentes (Saure, 1985). Todos los estados de la dormición están superpuestos debido por un lado, a las variaciones en las poblaciones de yemas, ya que no todas las yemas se encuentran en la misma fase del proceso de dormición en un momento dado (Saure, 1985), y por otro lado a la naturaleza cuantitativa de la respuesta (Faust et al., 1997).

Fuchigami y Nee (1987) señalan que partes del mismo árbol pueden estar en dormición mientras otras partes pueden estar creciendo activamente al mismo tiempo. A su vez, algunos o todos los estados diferentes de la dormición pueden ocurrir simultáneamente incluso dentro de la misma parte de la planta (Olsen, 2006), y en la transición entre una fase y la siguiente no hay características observables específicas que permitan una clasificación no equivocada (Saure, 1985).

La paradormición, que está bajo el control de una inhibición correlativa, se inicia ya durante el verano (Faust et al., 1997). Inmediatamente después de que la yema terminal se forma, hay un período de tiempo en el que puede ser forzada a brotar (mientras se mantienen condiciones ambientales favorables para el crecimiento), mediante el suministro de una cantidad suficiente de agua y nutrientes, principalmente nitrógeno (Powell, 1987). A su vez, la paradormición en las yemas laterales puede superarse mediante tratamientos químicos o físicos, como la aplicación de un regulador de crecimiento del tipo citoquininas, o con la remoción de la yema terminal (Faust et al., 1995b) (en ambos casos se altera la relación auxinas/citoquininas). Luego, a medida que finaliza el verano, la remoción de la yema terminal no es suficiente para permitir el crecimiento de estas yemas, pero una defoliación forzada en esta época estimula su brotación (Lloyd y Couvillon, citados por Powell, 1987). Antes de que las hojas empiecen a cambiar el color, las yemas ya están en dormición por la acción hormonal, lo cual previene su brotación en caso de que el clima se tornara cálido antes del establecimiento del invierno (Larcher, 1995).

Con el acortamiento de los días y la llegada de las bajas temperaturas del invierno, la dormición se intensifica y alcanza su plenitud, la yema está en endodormición (Faust

et al., 1997) como resultado de una serie de eventos bioquímicos y fisiológicos que ocurren a nivel meristemático (Carvalho y Zanette, 2006c). En esta etapa, ni una decapitación ni una defoliación permite el crecimiento de las yemas (Lang et al., 1987). Se sintetizan dehidrinas en las yemas, proteínas hidrofílicas capaces de fijar agua, posiblemente promovidas por la hormona ácido abscísico (ABA) y debidas a la disminución de las temperaturas. Éstas intensifican la dormición porque deshidratan a la célula, lo que le permite una mayor resistencia al frío (Faust et al., 1997). Según Peerbom y Yuri (2004), el receso comienza a ser progresivamente más profundo y alcanza su máximo en otoño, cuando el 50% de las hojas han caído. Otros autores plantean que la máxima intensidad de dormición ocurre 1 semana después de caída de hoja (Fuchigami, citado por Powell et al., 1987), y hasta 1 mes después de caída de hoja (Walser et al., citados por Powell et al., 1987). Hauagge y Cummins (1991b) plantean que la máxima intensidad de la dormición ocurre en la senescencia total de las hojas.

En latitudes intermedias y del norte, la endodormición se alcanza en mayo – junio (Hemisferio sur- HS), en este punto las plantas no pueden ser activadas por condiciones cálidas temporales (Larcher, 1995). Según Carvalho y Zanette (2004), la dormición más intensa de las yemas de manzano 'Imperial Gala' en la región de Porto Amazonas (25,55° latitud Sur, 49,90° longitud Oeste, 795m altitud) ocurre en julio para yemas de 1 año y de fin de mayo hasta agosto para yemas de 2 años, sin un pico tan definido.

Con el avance del período de frío, el agua se va liberando y las yemas se hinchan, pero no desaparecen las dehidrinas. Todos estos cambios, dependientes de las condiciones climáticas, inducen a que las yemas entren en ecodormición (Faust et al., 1997).

El arqueado de brotes durante el invierno resulta en un incremento de la brotación de yemas laterales, cuando se realiza durante o después del mes de agosto (HS). Pero cuando los brotes arqueados son enderezados antes de este momento las yemas terminales imponen dormición en las yemas laterales, similar a los tratamientos control verticales (Crabe, citado por Faust et al., 1995b). Según Faust (1995b), esto plantea que el efecto de la dominancia apical (paradormición) ocurre también durante la fase tardía de la dormición, por lo que concluye que el progreso de la dormición sería: paradormición en verano-otoño, endodormición en invierno y paradormición en fin de invierno y primavera.

2.5 ENTRADA EN ENDODORMICIÓN

La dormición es una interrupción temporal del crecimiento, regulada endógenamente e influenciada ambientalmente, por lo tanto la entrada, mantenimiento y salida de la misma está determinada por factores ambientales y la respuesta de la planta a los mismos (Larcher, 1995).

La entrada en endodormición ocurriría tarde en verano y otoño (Ramina et al., 1995). En general se ha planteado que los dos factores ambientales que inducen el pasaje de paradormición en endodormición en yemas y simultáneamente inician la aclimatación al frío son: 1) progresivo acortamiento del fotoperíodo y 2) disminución de las temperaturas (Couvillon 1995, Faust et al. 1995a, Ramina et al. 1995, Arora et al. 2003).

Existen, sin embargo, diferencias entre autores en la importancia relativa de ambos factores, en especial en la implicancia del fotoperíodo. Para algunos autores el fotoperíodo sería el principal factor ambiental inductor de la endodormición (Fuchigami y Nee, 1987). Por otro lado, Garner y Allard, Wareing y Nitsch, citados por Olsen (2006), Sozzi (2007) plantean que, a diferencia de la mayoría de las especies leñosas, el manzano y peral (y algunas otras Rosáceas) son insensibles al fotoperíodo. En este sentido, en un trabajo reciente llevado a cabo por Heide y Prestrud (2004), los autores concluyen que las bajas temperaturas controlan el cese del crecimiento y la inducción de la dormición en manzano y peral, y no el fotoperíodo. Bajas temperaturas ($<12^{\circ}\text{C}$) consistentemente inducen ambos procesos, independientemente de las condiciones de fotoperíodo. Dicho trabajo fue realizado con plantas micropropagadas de diferentes portainjertos de manzano y peral. Según los autores, a pesar de que las plantas micropropagadas podrían tener todos los rasgos morfológicos de plantas juveniles, no siempre responden fisiológicamente como una planta juvenil verdadera. Dado el contraste en las respuestas a la inducción entre plantines y plantas micro-propagadas, los autores establecen que las plantas utilizadas en este ensayo respondieron más parecido a árboles no juveniles.

El establecimiento y la salida de la dormición de la yema en el ciclo anual están sobreimpuestos al desarrollo y pérdida estacional de la resistencia al frío. Esto dificulta la distinción de los cambios fisiológicos y moleculares asociados con la regulación de la dormición de aquellos relacionados con la estacionalidad de la resistencia al frío (Arora et al., 2003). Estos mismos autores citan una serie de trabajos en los que se estudian mutantes de abedul incapaces de producir ABA y su respuesta en relación a la tolerancia a bajas temperaturas y a la dormición. Establecen un control fotoperiódico de la aclimatación al frío, y concluyen que la participación del ABA es más directa en este efecto que en la inducción de la endodormición en yemas. En una serie de estudios realizados por Arora, citado por Arora et al. (2003), se encontró que el metabolismo de ciertas dehidrinas, un subgrupo de LEA (late embryogenesis abundant), referidas como la familia D-11 está más cercanamente asociado con la resistencia al frío que con la

dormición. Faust (1997) propuso que las dehidrinas, aparentemente disparadas por las bajas temperaturas y por el ABA, ligarían el agua, lo cual dirige la protección a la congelación, y simultáneamente profundizarían la dormición.

Durante los meses del invierno, mientras que las yemas están completamente en endodormición y luego ecodormición, los tejidos de la planta están en el máximo de resistencia al frío. En este sentido, la exposición a días largos junto con aplicaciones de ABA o junto con estrés hídrico provoca un aumento de la resistencia al frío pero no reduce la brotación, o sea que el fotoperíodo afectaría la resistencia al frío pero no la dormición (Arora et al., 2003).

En relación a la implicancia de la temperatura en la endodormición, plantas expuestas por algunas semanas a temperaturas frías temprano en el otoño profundizan la dormición (Powell, 1987).

En trabajos realizados por Cook et al. (2000), comparando la evolución de la dormición de manzano en una región con inviernos benignos (como Uruguay) y en otra región más fría, la entrada en endodormición ocurre lentamente en la región de clima más cálido. En la región con mucho frío se da la típica relación negativa entre momento de brotación y acumulación de frío (mayor acumulación de frío resulta en menor tiempo para brotar). Pero en la otra región ocurre lo contrario, las yemas van entrando en dormición a medida que se va acumulando frío. Los autores concluyen que bajo las condiciones de otoños benignos, en donde por ejemplo, la caída de hojas se da tardíamente (Saure, 1985), las yemas aparentemente no reciben el “correcto” factor ambiental para entrar en dormición normalmente; las temperaturas que normalmente promoverían la satisfacción de los requerimientos de frío aumentan la dormición (Cook et al., 2000).

Según indican varios técnicos en contacto con la producción en Uruguay, la caída tardía de las hojas es una situación que ocurre muy a menudo en nuestras condiciones, y si bien el manejo de la fertilización puede tener influencia, son las condiciones ambientales durante el otoño las determinantes. Una mayor permanencia de las hojas se traduce en una dormición más larga y profunda (Saure 1985, Couvillon 1995). A su vez, Couvillon (1995) también plantea que esto se debe a que no se acumula frío efectivo hasta que no ha caído una cantidad significativa de hojas. Y agrega que entre otras cosas, inciden las fertilizaciones otoñales con nitrógeno, que pueden retrasar la caída de hojas.

En trabajos realizados por Cook et al. (2005), encontraron que la aplicación de temperaturas cercanas al congelamiento previo a los tratamientos de frío siempre aceleraron la entrada en dormición. Los autores concluyen que en manzana, las temperaturas de congelamiento (-1°C) tienen efecto en el progreso de la dormición, especialmente en la fase de inducción. Estos tratamientos mataron a los brotes cosechados en otoño, pero no los de invierno. Cuando se aplicaron en invierno tuvieron

poco pero significativo efecto en el progreso de la dormición. A su vez, la presencia o ausencia de hojas durante los períodos de pre-enfriamiento no tuvieron efecto. Los autores concluyen que las hojas no están directamente involucradas en la percepción de los factores responsables de la inducción de la dormición, y que así como con la salida de la dormición, es posible que la percepción de los factores que inducen la dormición ocurra dentro de las mismas yemas.

2.6 REGULACION AMBIENTAL DEL MANTENIMIENTO Y SALIDA DE LA ENDODORMICIÓN

La temperatura es por lejos el parámetro climático más importante que afecta la dormición de la yema (Erez 1995, Heide y Prestrud 2004). La brotación es afectada por dos procesos dependientes de la temperatura. Primero, la acumulación de frío para la satisfacción de la endodormición, y en segundo lugar, la acumulación de calor requerido por las yemas, para el desarrollo de la floración y foliación, posterior a la acumulación de frío (Hauagge y Cummins 1991b, Couvillon 1995, Ramina et al. 1995).

Se han identificado tres efectos de la temperatura en la endodormición (Erez, 1995):

- efecto promotor de la salida de las bajas temperaturas.
- efecto desacumulador de las altas temperaturas en un ciclo diario.
- efecto de las temperaturas moderadas.

El papel que la temperatura desempeña en la inducción, mantenimiento y salida de la dormición no está bien definido. El efecto de este factor ambiental depende de la fase de desarrollo en que se encuentre la planta; la presencia de temperaturas bajas durante el otoño intensifica la dormición, durante el invierno favorece su terminación y al final retarda la brotación (Llamas, citado por Quintana, 2006).

2.6.1 Temperaturas efectivas

Durante la endodormición, las bajas temperaturas son el único factor que puede restablecer las condiciones requeridas para que se reanude el crecimiento (Agustí, 2004). Tanto el crecimiento temprano como la magnitud del crecimiento potencial se incrementa con el descenso de la temperatura (Heide y Prestrud, 2004).

Durante la d-endodormición, el rango de temperaturas que promueve la salida de la dormición es estrecho, mientras que la efectividad de las mismas es baja. En cambio, sobre el final de la dormición (s-endodormición), no sólo se amplía el rango de temperaturas efectivas, sino que aumentan su eficiencia (Saure 1985, Young 1992), disminuyendo la inhibición impuesta por altas temperaturas, la cual desaparece posteriormente (Vegis, citado por Saure, 1985).

La acumulación de frío óptima para manzana ocurre con temperaturas entre 6°C y 8°C (Shaltout y Unrath 1983, Erez 1995, Heide y Prestrud 2004). Sin embargo, el rango de temperaturas que continúan siendo efectivas, aunque menos eficientes, es más amplio. En duraznero, se observa poca actividad a los 0°C y ninguna a los 14°C (Erez, 1995), y en manzano 12°C serían sólo marginalmente efectivos para la salida de la dormición (Naor et al. 2003, Heide y Prestrud 2004).

Young (1992) aplicó temperaturas de 15°C y 20°C en las etapas finales de acumulación de frío (luego de 1000 hs de frío a 6°C) a árboles de manzana y observó que aquellos que recibieron 15°C obtuvieron mayor brotación que el control (mantenido siempre a 6°C) y también mayor brotación que los árboles con 20°C en ese mismo período, cuya brotación fue igual al control. El aumento en la brotación en árboles a 15°C no se debe a una acumulación de calor, dado que los árboles a 20°C no muestran el mismo efecto. Por lo tanto estos resultados indican que hay un pequeño paso ascendente en la temperatura óptima hacia los estados finales de la acumulación. Un período de 15°C continuos durante la última porción del período de acumulación tiene efecto positivo en aumentar la brotación en manzana. En este sentido, Erez y Couvillon (1987a) mencionan que en duraznero, temperaturas moderadas, a pesar de no tener efecto en la brotación *per se*, promueven el efecto del frío si son aplicadas luego de que ocurra el enfriamiento.

Si las bajas temperaturas (< 12°C) son el factor que determina la entrada en endodormición, y también la salida de la misma, demuestra que plantas en diferentes estado de desarrollo pueden responder de forma opuesta al mismo tratamiento, posiblemente por la utilización de diferentes vías de transducción de la señal (Heide y Prestrud, 2004). Estos autores plantean que resulta una paradoja, que el mismo rango de bajas temperaturas que induce la dormición, también controle su liberación, en manzano y peral.

2.6.2 Efecto de las altas temperaturas

Es bien conocido que los períodos de altas temperaturas durante el invierno prolongan la dormición más que la continua elevación de la temperatura que ocurre durante el mismo (Saure, 1985). Dichas temperaturas pueden revertir el proceso de acumulación de frío, dando lugar a una dormición secundaria en las yemas que han recibido frío en forma parcial (Powell, 1987).

Según Erez (1995), las temperaturas por encima de los 18°C podrían desacumular el frío dependiendo de: la duración del período con altas temperaturas, el grado de las altas temperaturas y la duración del ciclo temperatura baja-alta; mayor duración, mayor grado

y ciclos cortos provocan el mayor efecto desacumulador. Cuanto más altas son las temperaturas, menor es el período de tiempo necesario para que desacumulen frío.

Young (1992) concluye que altas temperaturas (30°C) antes de la acumulación de frío tienen un efecto negativo, pero éste es mayor cuando la exposición a las mismas ocurre interrumpiendo la acumulación (o sea luego de que ya han ocurrido bajas temperaturas). Couvillon y Erez (1985) en duraznero, encontraron que plantas expuestas a ciclos que incluyen 20°C por 2 y 4 horas no muestran desacumulación del frío, pero ocurre un gradual aumento en la desacumulación de frío con exposiciones más largas. A su vez, en ensayos con exposiciones de las plantas durante diferente cantidad de tiempo a temperaturas altas (23°C) en diferentes momentos de la acumulación de frío a 4°C, encontraron que ocurre desacumulación del frío sólo con exposiciones mayores a 7 días y cuando son aplicadas con una acumulación de frío de $\frac{1}{4}$ o $\frac{1}{2}$ del requerimiento. No ocurre desacumulación de frío con exposiciones de 12 días a 23°C si se aplican luego de que se ha acumulado $\frac{3}{4}$ del requerimiento de frío (Couvillon y Erez, 1985).

2.6.3 Efecto de ciclos de alternancia de temperaturas

La exposición cíclica a bajas y moderadas temperaturas fueron más efectivas para la salida de la dormición que las bajas temperaturas continuas, tanto en duraznero (Erez y Couvillon, 1987a), como en manzano (Naor et al., 2003). En yemas vegetativas de manzano, la brotación en condiciones de 6°C/14°C fue 15% superior que en condiciones de 6°C continuos, lo que indica un posible efecto de promoción de la salida por la alternancia de temperatura día/noche. Por otro lado, en condiciones de temperaturas de 6°/17° y 6°/20° se produce un efecto negativo, comparado con 6° continuos, más marcado en el caso de 6°/20° (Naor et al., 2003). Erez (1995) cita que el efecto de temperaturas moderadas se manifiesta solamente si es aplicado junto con frío, y temperaturas en el rango entre 13°C y 15°C tienen un fuerte efecto sinérgico con las bajas temperaturas.

Se reporta que la respuesta a la alternancia diaria de temperaturas varía entre los estados de dormición profunda y de decrecimiento de la dormición (Saure 1985, Naor et al. 2003), y hay una cuota de acumulación de horas de frío cuyo efecto no puede ser negado por la subsecuente exposición a altas temperaturas (Naor et al., 2003).

2.6.4 Implicancia de otros factores

La dormición profunda sólo puede ser superada por el frío y no por acción de la luz, pero de cualquier manera, temprano y tarde en la dormición, el alargamiento del fotoperíodo puede extender el rango de temperaturas en las cuales la brotación puede ocurrir (Vegis, citado por Saure, 1985).

Si bien algunos trabajos plantean que temperaturas de congelamiento (0°C o menores) son efectivas, dado que observan que cortos períodos de 5 a 60 minutos provocan una brotación razonable (Cook et al., 2005). Saure (1985) plantea que esto podría ser una respuesta a condiciones subletales.

La ocurrencia de lluvias, neblinas y limitada radiación solar durante la dormición afectan hasta cierto punto, aunque en general se plantea que su efecto es indirecto, dado por su influencia en la temperatura (Naor et al. 2003, Peereboom y Yuri 2004).

2.7 REGULACION ENDÓGENA DEL MANTENIMIENTO Y SALIDA DE LA ENDODORMICIÓN

La hipótesis clásica, que describe la dormición como un estado fisiológico determinado por una relación hormonal entre inhibidores y promotores endógenos es hoy considerada relativamente simplista (Crabbé y Barnola, citados por Sozzi y Martínez, 2004).

Si bien los reguladores vegetales (auxinas, citoquininas y ácido abscísico) juegan un papel en la dormición de yemas, no siempre es observable una estrecha correlación entre los niveles endógenos de reguladores y los cambios en la dormición (Faust et al., 1997). Las aplicaciones de promotores del crecimiento no siempre promueven la salida de la dormición de los órganos, por lo que existiría una influencia inhibitoria, que no podría ser levantada por estas sustancias (Powell, 1987).

Es por ello que se han dirigido nuevas investigaciones, partiendo de la base de que la dormición es un proceso muy complicado para ser explicado por uno o dos factores (Dennis, 1994). Según la teoría del multifacética de la dormición, existen cuatro factores biológicos principales que cambian la intensidad de la dormición en las plantas (Faust et al. 1997, Erez 2000):

- 1) Balance hormonal en la yema o el árbol
- 2) Estado del agua dentro de la yema
- 3) Estructura de las membranas, que afecta la resistencia al frío y gobiernan la reanudación del crecimiento
- 4) Potencial anabólico de las yemas

La “escuela francesa” considera que la dormición es producto de una serie de inhibiciones correlativas, empezando con la dominancia apical, gradualmente extendiéndose al control del tejido adyacente a la yema lateral, y finalizando con el control dentro del meristema apical (Dennis, 1994). Dentro de este enfoque, se ha

aspirado a obtener marcadores bioquímicos, que indicarían el nivel relativo de dormición en órganos, tejidos o células. Al menos dos procesos han sido enfatizados: la permeabilidad de las membranas y el metabolismo de los ácidos nucleicos.

2.7.1 Balance hormonal

2.7.1.1 Auxinas

Las auxinas son sustancias promotoras del crecimiento, pero que en altas concentraciones lo inhiben (Saure, 1985).

El ápice meristemático del tallo produce auxinas. Durante el verano y otoño, cuando las yemas están en paradormición, la remoción de la yema terminal libera a las yemas laterales de la dominancia apical. Si se reemplaza la yema terminal con ácido indol acético (AIA), sustancia con efecto auxínico, las yemas laterales se mantienen dormidas (Wang et al., citados por Faust et al., 1997). El efecto de la dominancia apical llega hasta fin del otoño e invierno (Saure, 1985), pero el mecanismo de la paradormición sería anulado por otro durante la endodormición (Faust et al., 1997).

El AIA disminuye cuando empieza la acumulación de frío lo que puede estar vinculado con una reducción en la actividad metabólica de la yema, subsecuentemente con la disminución del régimen térmico (Ramina et al., 1995). Pero a su vez, las aplicaciones exógenas en general no promueven la brotación (Saure, 1985).

Por otro lado, los resultados de las investigaciones en los niveles de auxinas durante la dormición tienen considerables diferencias, debido principalmente a que algunos autores miden el total extractable de auxinas y otros sólo auxinas libres activas. De cualquier manera, parecería ser que la actividad de las auxinas desciende a medida que aumenta la profundidad de la dormición. Durante la acumulación de frío, el contenido de esta hormona permanece en niveles muy bajos, observándose un pico hacia el final de este período, registrándose luego, un nuevo descenso en el nivel de AIA (Ramina et al., 1995). Las auxinas podrían no ser el regulador primario del crecimiento en la salida de la dormición, dado que su incremento es marcadamente precedido por los incrementos en los niveles de giberelinas y citoquininas, a pesar de ello, las auxinas estarían implicadas en el proceso de apertura de la yema y el resultante recrecimiento en primavera (Lavee, citado por Saure, 1985).

2.7.1.2 Ácido abscísico (ABA)

Esta hormona fue considerada asociada con la dormición debido a que su contenido en la planta incrementa al máximo al final del otoño y disminuye al mínimo cerca de la brotación, tanto en las escamas como en las partes internas de la yema (Saure 1985, Powell 1987). En general, altos niveles de ABA en yema tienen una correlación negativa

con la brotación y crecimiento en muchas especies (Seeley, citado por Faust et al., 1997).

Powell (1987) cita 18 trabajos en los que se estudian los cambios en el contenido de ABA de yemas y semillas en varias especies, para determinar si existe una relación entre ABA y cambios en la dormición, durante el período de bajas temperaturas. Muchos de estos trabajos, pero no todos, muestran un descenso en los contenidos de ABA durante el período de bajas temperaturas, por lo que en general concluyen que las bajas temperaturas son las responsables del descenso del contenido de ABA, y que este descenso es importante para la reducción de la intensidad de la dormición. En dichos estudios no siempre se incluyen tratamientos control, mantenido a altas temperaturas, pero cuando son reportados, se encuentra que el contenido de ABA desciende también con altas temperaturas, pero sólo las bajas temperaturas permitían la salida de la dormición.

Los estudios que correlacionan niveles de ABA con dormición de la yema han producido resultados contradictorios. La mayoría de los estudios iniciales se caracterizan por métodos de medición insensibles y muy inespecíficos (Arora 2003, Olsen 2006).

Incluso cuando han sido encontradas correlaciones entre concentraciones de ABA y dormición, ha sido generalmente difícil de mostrar una relación causal (Ramina et al. 1995, Olsen 2006). No se encontró efecto del ABA bajo fotoperíodo largo, y el enfriamiento de yemas anula el efecto (Olsen, 2006).

La reducción en los niveles de ABA ocurre en la región meristemática. Las escamas poseen altos niveles de ABA, pero los mismos parecen mantenerse más o menos constante durante el invierno (Ramina et al., 1995).

Por otro lado, las aplicaciones exógenas de ABA son inefectivas en mantener la dormición, aunque parecerían tener efecto en etapas tempranas de la dormición. Por lo tanto el ABA sería relativamente efectivo en prevenir la brotación: 1) cuando el potencial de crecimiento es bajo, modificando el balance hormonal hacia situación de no crecimiento, y 2) en situaciones donde los eventos iniciales que lideran el crecimiento están ausentes o no han progresado mucho, por ejemplo yemas que recibieron frío pero que todavía no brotan (Olsen, 2006).

El metabolismo del ABA ha estado también implicado en la fisiología de la aclimatación al frío, ya que la acumulación de ABA junto con fotoperíodo corto, bajas temperaturas, estrés hídrico, o aplicaciones exógenas de ABA aumentan la resistencia al frío en ciertas especies herbáceas y leñosas (Guy, citado por Arora et al., 2003). Arora et al. (2003) citan una serie de trabajos en los que se estudian mutantes de abedul incapaces de producir ABA y su respuesta en relación a la tolerancia a bajas temperaturas y a la dormición, y concluyen que la participación del ABA es más directa en el control

fotoperiódico de la aclimatación al frío que en la inducción de la endodormición en yemas. En este sentido, un bajo nivel de ABA podría estar implicado en la inducción de dehidrinas y cambios en la permeabilidad de las membranas (Faust et al., 1997)

Bowen y Derickson, citados por Saure (1985) encontraron una correlación positiva entre concentración de ABA en yemas florales de duraznero en junio (HS) y el requerimiento de frío respectivo. Una alta concentración de ABA en esas yemas durante la dormición podría reflejar un alto vigor del árbol durante la estación previa, lo que podría explicar por qué una estación de crecimiento prolongada, debido a un crecimiento vigoroso, puede retrasar la brotación (Saure, 1985). Pero este planteo ha sido criticado, ya que en algunos trabajos, defoliaciones mecánicas en otoño, evitan el incremento de ABA pero la intensidad de la dormición no cambia (Saure, 1985). Faust et al. (1997) citan que defoliaciones post-cosecha en manzano evitan la dormición, considerando que se elimina un centro importante de producción de ABA como son las hojas maduras. Por otro lado la eliminación de las escamas de las yemas permite reasumir el crecimiento en determinadas condiciones. Entonces estos autores plantean que una señal (ABA?) se transmite de las hojas a las escamas, e impone la dormición desde las escamas hacia el ápice meristemático. Pero este efecto no es directo, ya que remover las escamas tiene poco efecto en adelantar la brotación en cultivares de brotación temprana, pero mucho efecto en cultivares de brotación más tardía (Faust et al., 1997).

Otros factores ambientales que promueven la brotación (neblinas, reducida intensidad de luz) no necesariamente reducen la concentración de ABA (Saure, 1985). Por otro lado, el ambiente cambia la biosíntesis o la sensibilidad al ABA en las plantas, por ejemplo la sequía aumenta el contenido de ABA e impone dormición (Faust et al., 1997).

2.7.1.3 Giberelinas (GAs)

Después del período de frío hay un incremento del nivel endógeno de GAs en yemas, altamente relacionado con la salida de la dormición. Este incremento ocurre paralelo al de las citoquininas, y previo al incremento en las auxinas (Lavee, citado por Epagri, 2006). El efecto primario de la temperatura podría ser remover el bloqueo de la síntesis de GAs. La temperatura, luz y otras hormonas afectan los niveles de GAs, pero no se sabe cómo estos cambios afectan a la salida de la dormición: si mediante el control de un paso específico en la biosíntesis de GAs (Saure 1985, Rudnicki et al., citados por Powell 1987), mediante la liberación de GAs ligadas a las membranas (Saure, 1985), mediante un incremento en la permeabilidad de las membranas (Saure 1985, Bianco citado por Powell 1987) o por una combinación de estos factores.

En ensayos realizados por Reinoso et al. (2002), utilizando yemas florales jóvenes de duraznero se observa que aplicaciones de GA₃ temprano (mayo, HS) retrasan el desarrollo floral. Pero si la aplicaciones de GA₃ es realizada posteriormente (julio, HS)

ocurre el efecto contrario, acelerándose y aumentando el desarrollo de la yema floral, con una rápida diferenciación de las células madres de polen y su meiosis. Resultados similares son obtenidos por otros autores (Leike, Paiva y Robitaille, citados por Saure 1985, Walker y Donoho, citados por Powell 1987). A su vez, en los trabajos de Reinoso et al. (2002) se plantea que las aplicaciones de GA₃ temprano en junio podrían haber prolongado la retención de las hojas, por lo que el atraso en el desarrollo floral podría ser un efecto indirecto. Por otro lado, estos autores plantean que al momento de realizar las aplicaciones tardías, los niveles endógenos de GAs son bajos, y a su vez también lo son los niveles de los inhibidores, por lo que es esperable que un mayor número de yemas florales puedan desarrollarse y llegar a la fase de antesis.

Estos datos coinciden con lo planteado por Saure (1985), quien afirma que las GAs estimularían la brotación una vez que la yema ya se encuentra apta para brotar, luego de que cierta cantidad de frío ya ha sido acumulada. Según Laike, citado por Saure (1985) las GAs se necesitan en los pasos finales del desarrollo de la yema.

2.7.1.4 Citoquininas (CKs)

Las CKs disparan actividades metabólicas orientadas al crecimiento, incluyendo la síntesis de ADN, ARN y proteínas, incremento en la energía metabólica y disminución en vías o rutas importantes en tejidos en receso (Wang, citado por Faust et al., 1997). El nivel de CKs en savia del xilema en manzano aumenta justo antes de la brotación y el incremento en el ápice de los árboles no necesariamente se debe al transporte desde las raíces, ya que pueden ser regeneradas incluso por síntesis local *de novo* o por formas almacenadas (Cutting et al., Tromp y Ova, citados por Faust et al., 1997). Al igual que lo que ocurre con las GAs, existen formas activas e inactivas, las yemas no sintetizan CKs pero tienen la capacidad de hidrolizar citoquininas almacenadas (Saure, 1985).

El tidiazurón (análogo de las CKs) y otros químicos quebradores de dormición, que aumentan la concentración de CKs en el xilema, no son igualmente efectivos durante todo el período de dormición. El hecho de que exista un período en el que las aplicaciones de los mismos sea inefectivas indica que las yemas tienen que estar en un estado receptivo a esta hormona para que sea efectivas en “romper” la dormición (Saure 1985, Faust et al. 1997), la aplicación de las mismas no sustituye el efecto del frío (Saure, 1985).

El efecto principal de las CKs sería apresurar el desarrollo de yemas que han sido, al menos parcialmente, liberadas de la dormición; aumentan el efecto de las bajas temperaturas pero no alteran la duración de la dormición (Saure, 1985). Ramina et al. (1995) trabajando sobre duraznero concluye que el rol de las CKs es sobre el crecimiento de las yemas más que sobre la brotación misma.

En brotes en crecimiento contrarrestan la inhibición de las yemas laterales resultante de la dominancia apical, promoviendo la diferenciación de xilema y la formación de conexiones con sistema vascular del tallo principal, que están incompletas debido a la inhibición causada por las auxinas (Saure, 1985). Aparentemente, el AIA es antagonista de la inhibición correlativa y su efecto puede ser contrarrestado cuando las fuerzas de inhibición correlativa son más fuertes que el estímulo (Wang, citado por Faust et al., 1997). Bangerth, citado por Faust et al. (1997) concluye que las citoquininas en exudados del xilema en plantas intactas están bajo el control del transporte polar de las auxinas, el cual tiene implicancias directas en el efecto de estas hormonas en la brotación. Estudios con manzano “Anna” y “Northern Spy” indican que la respuesta de las yemas al tidiázurón fue más rápida en “Anna”, cultivar de bajos requerimientos de frío, que en “Northern Spy” cultivar de altos requerimientos, y más allá del cultivar, fue también más rápido con incrementos crecientes de satisfacción del requerimiento de frío (Faust, citado por Faust, 1997).

2.7.1.5 Etileno

Muchos trabajos indican que el etileno puede estimular la brotación, aunque su acción es efectiva luego de que se ha quebrado parcial o totalmente la dormición gracias al frío. Algunos autores plantean que el efecto de las aplicaciones de etileno sería promover la senescencia de las escamas de las yemas, lo que permite que se desarrollen los primordios de hojas verdaderas (Saure, 1985).

La aplicación de un inhibidor de la síntesis de etileno (aminoetoxivinilglicina, AVG), retrasó la brotación en arándanos (DeKazos, citado por Fuchigami y Nee, 1987). En otros casos, aplicaciones exógenas de ethephon favorecieron la salida de la dormición, aunque no resultó tan efectivo como otros agentes quebradores de la dormición (Nee, citado por Fuchigami y Nee, 1987).

2.7.2 Cambios en el estado del agua en la yema

La actividad biológica en los tejidos depende del estado fisiológico del agua, debido a que las actividades metabólicas requieren agua en fase libre en las células (Bruni y Leopold, Kunz y Kauzman, citados por Faust et al., 1995a). Por lo tanto la observación de los estados del agua podría proveer información útil para determinar el estado fisiológico de los tejidos vivos (Ishida et al., citados por Faust et al., 1995a).

Los estudios muestran que existen varios estados del agua en las yemas vegetativas de manzano (Faust et al., 1995a). El término de agua “ligada” es utilizado para describir moléculas de agua asociadas a la superficie de macro moléculas (Kunz y Kauzman, citados por Faust et al., 1995a). El conservar el agua ligada permite el mantenimiento de los niveles de hidratación a temperaturas muy por debajo del congelamiento, siendo la

base de la resistencia al frío (Erez et al., 1998). Se ha especulado que el agua ligada en yemas durmientes se debe a la abundancia de proteínas hidrofílicas (dehidrinas) ligando agua (Khanizadeh, Faust et al., citados por Erez et al., 1998).

La técnica no invasiva de imagen por resonancia magnética (MRI) puede ser usada para examinar la densidad del protón del agua y el estado del agua en los tejidos de las plantas (Faust, Liu et al., citados por Faust et al., 1995a).

La imagen por resonancia magnética reveló que el estado del agua cambia durante la evolución de la dormición, el agua está en estado ligado en tejidos en dormición y es liberada cuando se reanuda el crecimiento (Faust et al. 1995a, Bubán y Faust 1995, Erez et al. 1998). Este cambio es incremental, cerca del 70% o más del agua está en estado libre antes de la brotación (Faust et al., 1995a)

En trabajos realizados por Erez et al. (1998) con tratamientos tanto con frío como con condiciones de día corto, se concluye que existe un efecto de la inducción de la dormición en el aumento del agua ligada. A su vez, luego de 21 días de tratamiento, sólo el control mantenía agua libre, y a su vez el tratamiento con frío muestra mayores niveles de agua ligada. Esto marca un efecto diferencial del fotoperíodo y de la temperatura baja en la disminución del agua ligada.

La imagen por resonancia magnética indicó que en yemas de manzano el proceso involucrado en la satisfacción de los requerimientos de frío también convierte agua ligada en agua libre (Faust et al., 1991). La velocidad de dicho cambio depende de la variedad, cultivares de manzano con menor requerimiento de frío convierten el agua a estado libre más rápidamente que cultivares con altos requerimientos de frío (Faust et al., 1995a)

Luego de la acumulación de frío, se observa un fuerte efecto de las altas temperaturas en el estado del agua en las yemas (Erez et al., 1998). Según Erez et al. (1998) hay una pérdida abrupta del agua ligada en yemas después de la exposición a condiciones de forzada, aún siendo expuestas previamente a un período de frío excesivo, por lo que concluyen que el cambio a agua libre está más asociada al inicio del crecimiento que con el fin de la dormición. Por otro lado estos autores observan que yemas de duraznero que no recibieron frío suficiente, muestran agua libre después de una larga exposición a condiciones de forzada. Esto indica que en ausencia de frío, la exposición a largos períodos de altas temperaturas convierte el agua a estado libre, causando la pérdida de la resistencia al frío. Por todo lo anterior, los autores proponen que el desarrollo del agua ligada en yemas dormidas está estrechamente acoplado a la resistencia al frío. En dicho trabajo, también se comparan los niveles de agua ligada entre duraznero y manzano en iguales condiciones de dormición, y se detectan mayores niveles de agua ligada en manzana, especie más resistente al frío (Erez et al., 1998).

Se debe destacar que el estado del agua también tiene una regulación hormonal, marcada principalmente por el AIA, que a su vez afecta otras modificaciones estructurales en las células (Wang y Faust, citados por Faust et al., 1995b).

2.7.3 Cambios en la composición y permeabilidad de las membranas celulares

Según Wang y Faust (1990), existen una serie de cambios en cuanto a las cantidades y características de los lípidos que componen los fosfolípidos y galactolípidos que forman parte de las membranas plasmáticas celulares en las yemas.

Las yemas de manzano expuestas a disminuciones de temperatura en invierno responden con un aumento de la instauración de los ácidos grasos de sus lípidos de membrana, cambiando la composición de la cabeza polar, incrementando el contenido de fosfolípidos de membrana y cambiando los niveles y composición de los esteroides (Wang y Faust, 1990), que conducen a incrementar la permeabilidad de solutos y de agua al citoplasma (Faust et al., 1997).

Durante el período de la dormición, se observa un incremento de todos los tipos de fosfolípidos (Wang y Faust 1990, Faust et al. 1997), lo que muestra un aumento en la actividad de enzimas lipasas, hidrolizando triglicéridos (Faust et al., 1997). Se ha demostrado en yemas de manzano que la actividad de la lipasa es alta a bajas temperaturas, y dicha actividad aumenta con la mayor exposición a las mismas (Liu et al., citados por Faust et al., 1997). Otro indicador de salida de la dormición es el aumento en la saturación de los ácidos grasos de los lípidos que componen los fosfolípidos (Wang y Faust 1990, Faust et al. 1997). Cuando el requerimiento de frío está por satisfacerse el mayor cambio que ocurre es la disminución del ácido linoleico (18:2, es decir 18 carbonos y 2 dobles enlaces) y un correspondiente incremento del ácido linolénico (18:3), indicando un incremento en la actividad de la enzima linoleico desaturasa (Faust et al., 1997). El cambio en la saturación de los ácidos grasos es un factor clave relacionado con la funcionalidad de la membrana, ya que esto permite crear un ambiente fluido en la misma, para que proteínas, lípidos y demás sustancias, puedan difundir en el plano de la membrana y para que las proteínas funcionen como receptores (Wang y Faust, 1990). Por otra parte, la conversión de 18:2 a 18:3 requiere altos niveles de poder reductor y oxígeno activo, por lo que indirectamente se requiere una actividad concomitante para detoxificar el peróxido de oxígeno (H_2O_2), ya que la enzima desaturasa es inactivada por esta sustancia (Faust et al., 1997).

Se observa un incremento en esteroides libres coincidente con el momento de la brotación y expansión de la yema en la primavera temprana. La proporción esteroides/fosfolípidos es un índice de fluidez de la membrana. En investigaciones realizadas por Wang y Faust (1990) este ratio llegó a su máximo durante la expansión de la yema, y disminuye durante la brotación. Esta relación podría indicar un incremento en la fluidez de la membrana y del metabolismo de la yema, un probable prerrequisito para

la reactivación de las funciones en la célula, y por tanto la brotación y crecimiento en primavera (Wang y Faust, 1990).

2.7.4 Cambios en el potencial anabólico de las yemas

El potencial anabólico refiere a la capacidad de sintetizar biomoléculas a partir de moléculas más sencillas o nutrientes, mediante la utilización de energía. La entrada y salida de la dormición estaría determinada por las ventajas competitivas de la yema respecto al resto de los tejidos de la planta, que le permitirían o no la captación de los sustratos necesarios para el crecimiento de los tejidos (Faust et al., 1997).

2.7.4.1 Metabolismo energético de la yema

Sozzi y Martínez (2004), en estudios en plantas de duraznero expuestas a diferentes tratamientos térmicos, y determinando ATP, ADP y contenido de proteínas en yemas, concluyen que las bajas temperaturas son condición inicial necesaria para que se produzca un incremento en las concentraciones de ATP y en la relación ATP/ADP. Sin embargo, satisfechos dichos requerimientos con la ruptura de la endodormición y paradormición cercana, el incremento efectivo en las concentraciones de ATP y en la relación ATP/ADP, como así también la tasa de dicho incremento, son dependientes de los niveles térmicos. A igualdad de condiciones térmicas previas, la aplicación de temperaturas de 8°C luego de la ruptura de la endodormición y paradormición cercana posibilitó incrementos mayores en los niveles de ATP y en la relación ATP/ADP que la aplicación de temperaturas de 3°C. La liberación de la endodormición y paradormición a corta distancia sería un requisito previo para el incremento en la relación ATP/ADP pero la temperatura subsiguiente afectaría la tasa de incremento de dicha relación (Sozzi y Martínez, 2004).

Es muy factible que diferentes caminos metabólicos coadyuven a las modificaciones de los niveles de ADP y ATP que se registran luego de la ruptura de la dormición. Por ejemplo, el camino indirecto que implica la transferencia de un grupo fosfo-ribosilo del fosfo-ribosil-pirofosfato a la adenina requiere la acción de la adenina fosfo-ribosil-transferasa, que ha sido extraída de hojas de duraznero y purificada (Lecomte y Le Floch, citados por Sozzi y Martínez, 2004). El bombeo de protones mediante las H⁺ ATP-asa de membrana es un buen ejemplo de sistemas de transporte primario (Sozzi y Martínez, 2004).

2.7.4.2 Cantidad y actividad de la ATP-asa de las membranas

LA ATP-asa es una enzima capaz de producir la hidrólisis del adenosín trifosfato (ATP) en adenosín difosfato (ADP) y un ión de fósforo (ión fosfato) libre, liberando energía que puede ser utilizada en otra reacción.

En trabajos realizados por Aue et al. (1999), en donde se midió tanto actividad como cantidad de ATP-asa en duraznero, tanto en yemas como en soportes de yemas (*bud stands*) se detecta que los valores disminuyen de abril a junio en los soportes de las yemas. En las yemas en cambio, dichos valores comienzan siendo menores que en los soportes de las yemas, pero van aumentando constantemente hasta que a partir de mayo (HS) comienzan a superar los valores de los soportes de yemas. Por lo tanto ocurre durante el invierno, junio (HS) en dichos trabajos, una inversión de la situación. El gradiente de protones generado por la H^+ ATP-asa de la membrana plasmática fuerza al transporte activo de nutrientes hacia el interior de la célula (Serrano, citado por Aue et al., 1999). El bombeo de protones provoca un aumento del pH en las células internas de la yema, y se ha detectado que el mismo es creciente cuando la dormición está finalizando, y más alto que el de las células del tallo y receptáculo, mientras que lo contrario ocurre durante la dormición (Faust et al., 1997). El cambio en el pH resultante del bombeo de protones podría estar involucrado en el control del crecimiento (Serrano, citado por Aue et al., 1999). Esta interpretación es soportada por mediciones de la absorción de sucrosa hechas en los mismos tejidos (Marquat et al., citados por Aue et al., 1999), que es mayor en yemas que en los soportes de yemas.

Por lo tanto, la salida de la dormición en yemas vegetativas está relacionada a una modificación de la actividad de la ATP-asa de la membrana plasmática, tanto en yemas como soportes de yemas, que conduce a una reorientación de los flujos de metabolitos. Estas observaciones corresponden con la inhibición correlativa liderada por la inhibición del crecimiento de la yema, definida como paradormición por Lang et al. (Aue et al., 1999). La consecuencia sería la ruptura de la inhibición correlativa de corta distancia, que se midió como una disminución en el tiempo medio para brotar (Aue et al., 1999).

Estas modificaciones en las proteínas de la membrana estarían asociadas con una alteración de las propiedades de la membrana plasmática, induciendo a la readquisición de las capacidades de absorción de metabolitos por las yemas. Esta nueva situación permite la brotación y crecimiento de la yema (Aue et al., 1999).

2.8 SALIDA DE LA DORMICIÓN

2.8.1 Condición de la planta

Según Saure (1985) se pueden distinguir 3 fases de la salida de dormición en yemas. Una primera etapa, en la que ocurre la remoción de la causa primaria de dormición, presumiblemente caracterizada principalmente por la promoción de enzimas que son más activas a bajas temperaturas. Luego una fase catabólica, con aumento de la actividad metabólica, caracterizada principalmente por el incremento de la actividad de GAs, las

cuales promueven la biosíntesis y/o activación de enzimas hidrolíticas como amilasas, proteasas y ribonucleasas, y el desarrollo de la movilización de reservas necesarias para el crecimiento. Esta fase requiere altas temperaturas y está marcada por el hinchamiento de la yema, indicando que la transición de dormición profunda a dormición tardía ha ocurrido. Por último, una fase con alto incremento de la actividad de GAs y cks, y movilización continua de reservas, caracterizada por la completa remoción de inhibidores endógenos y por el incremento de la actividad de las auxinas. El fin de esta fase se manifiesta por la brotación y crecimiento vigoroso, indicando la terminación de la dormición.

Una vez que la planta está pronta para el desarrollo, la aparición de nuevos brotes y hojas es evitada solamente por condiciones climáticas negativas, principalmente por el frío, es decir ecodormición (Larcher, 1995).

La determinación de la salida de la dormición se ha establecido de diferentes formas (Saure, 1985), en muchas investigaciones es meramente un reflejo de una menor intensidad de la endodormición (Amling y Amling, citados por Saure, 1985). Considerar solamente la brotación no es suficiente para determinar el fin de la endodormición, un indicador más válido de que la planta si bien entró en ecodormición, ha completado totalmente la endodormición, podría ser la velocidad de brotación (Saure, 1985).

Las escamas de la yema, que son hojas modificadas, tienen también un efecto inhibitorio en el crecimiento de la yema (Powell, 1987). La remoción de las escamas en yemas de manzano en estados preliminares de la endodormición permiten el crecimiento de la yema, pero cuando las yemas están en dormición profunda, la remoción de las escamas tiene poca influencia (Swartz, citado por Powell, 1987).

La remoción de las escamas estimula la brotación en yemas que ya han superado la dormición profunda (Swartz, citado por Olsen, 2006). Este efecto podría estar explicado no tanto por una difusión del ABA desde dichas estructuras, sino que la remoción en sí provocaría un daño, y estimularía la producción de etileno y así la brotación. De cualquier manera, aparentemente se produce poca cantidad de etileno con dicha remoción (Paiva y Robitaille, Swartz et al., citados por Olsen, 2006).

En investigaciones realizadas por Young et al. (1995) en árboles de manzano a iguales temperaturas en la parte aérea pero con y sin enfriamiento de las raíces (5°C y 16°C), se detectó que tanto la brotación en cámara de forzada como los niveles de respiración luego de la misma son mayores en aquellos árboles cuyas raíces recibieron frío, aumentando con la cantidad de frío acumulado en las mismas. Los autores concluyen que se requiere un enfriamiento de las raíces en manzano para una repuesta máxima en la brotación, aparentemente las raíces de manzano entran en un tipo de dormición y requieren frío para reasumir la actividad. Por lo que el requerimiento de frío del portainjerto influye en el período de brotación (Quintana, 2006).

Según Erez, citado por Agustí (2004) se debe entender a la inducción y ruptura de la dormición como procesos graduales. La posibilidad de escapar de la dormición existe solamente antes de que en las membranas se desarrollen los cambios que incomunican a las yemas con los tejidos que las sustentan. Del mismo modo, la utilización de sustancias químicas capaces de acentuar el efecto de las bajas temperaturas sólo es posible después de que en las membranas se hayan desarrollado la mayor parte de los cambios inducidos por ellas.

En el pasaje de endodormición a ecodormición, las yemas eliminan los factores endógenos que limitan el crecimiento, en espera de temperaturas favorables para iniciar la brotación; es también a partir de donde las yemas son receptivas a la aplicación de productos químicos que rompen la dormición (Quintana, 2006).

La promoción de la salida de la dormición debido a prácticas culturales como los tratamientos de calor, anoxia, aplicaciones de DNOC, aceite mineral y otros químicos, podría ser explicada por la supresión de la inhibición causada por el etileno. Pero serían efectivas solamente durante la segunda o tercera fase de la salida de la dormición, cuando la promoción de la salida de la dormición ha alcanzado un nivel alto. La aplicación de GA directamente soporta la promoción de la salida de la dormición debida a GA endógeno, empezando en la segunda fase de la salida de la dormición (Saure, 1985).

2.8.2 Consecuencias de la falta de frío invernal

El frío incide tanto en el nivel, como en el momento y uniformidad de la brotación: con falta de frío, las yemas se retrasan en su apertura, ésta es irregular y se reduce el número de yemas vegetativas o florales brotadas (Erez, 1995). Las yemas terminales presentan mayor brotación, con más vigor y crecimiento final que el resto de los brotes (Gil-Salaya, Llamas y Johannes et al., citados por Quintana, 2006). Un alto nivel de brotación asegura la producción y la fotosíntesis para el desarrollo del fruto, así como el momento de brotación tiene impacto económico ya que existen ventajas económicas por fruta temprana en el mercado (Erez, 1995).

Además del retraso en la floración a consecuencia del reposo prolongado, se presentan diferencias para brotar entre las yemas, de tal forma que el periodo de floración se puede extender considerablemente, lo que afecta seriamente la polinización de las flores y reduce el cuajado de frutos (González, citado por Quintana, 2006). Esta condición provoca que en un mismo árbol se puedan ver frutos en diferentes etapas de desarrollo (Quintana, 2006).

La floración prolongada hace difícil para los productores determinar el momento óptimo para aplicar la rutina de aspersiones para raleo de flores y frutos, o comenzar un programa de aspersiones de GAs para reducción del russet, también conduce a una maduración mezclada de la fruta en la cosecha, necesitando múltiples selecciones en la mayoría de los cultivares con el fin de alcanzar un grado de madurez uniforme en las líneas de la fruta destinada a los mercados de exportación (McArtney et al., 2004).

Distintos autores han encontrado diferentes anomalías de crecimiento provocadas por la falta de frío invernal, como el aborto del estilo, alteraciones en el desarrollo del polen, deformaciones en la hoja, aparición de pistilos múltiples, yemas que mueren antes de desarrollarse el brote, etc. (Saure 1985, Melgarejo, citado por Quintana 2006).

La deficiencia de frío también afecta la calidad de la fruta. Primero, por un menor tamaño debido al escaso desarrollo foliar, y a su vez se obtiene menor sobrecolor debido a menor disponibilidad de fotoasimilados (Peereboom y Yuri, 2004). Se observa mayor russetting peduncular en la fruta, a causa de niveles bajos de giberelinas disponibles, por una menor cantidad de follaje inicial. Otros parámetros como la firmeza de pulpa también se ven disminuidos por la falta de frío, debido a una menor densidad celular en los tejidos en formación (Peereboom y Yuri, 2004).

Una reducción del área foliar debido a la escasez de puntos de crecimiento, propicia daños en la corteza por quemaduras de sol, y mayor daño por insectos sobre árboles débiles cuando la deficiencia de frío es severa (Erez, 1987b).

2.8.3 Mecanismos para compensar la falta de frío invernal

La característica clave de la endodormición, radica en que para salir de la misma, es necesario acumular una cierta cantidad de frío y sólo parte de ese frío requerido puede ser sustituido por otros mecanismos (Faust et al., 1997).

La salida de la dormición, puede ocurrir abruptamente en cualquier etapa de la endodormición, por exposición de las yemas a un estrés subletal (Fuchigami y Nee 1987, Chandler et al., Sparks, Lloyd y Couvillon, citados por Couvillon 1995). Sin embargo, otros autores señalan que el nivel de estrés efectivo es dependiente de la etapa del desarrollo en que se encuentren las yemas, siendo únicamente efectivo durante la fase superficial de la endodormición, cuando el levantamiento natural de la endodormición ha alcanzado una etapa avanzada (Saure 1985, Fuchigami y Nee 1987).

Este estrés subletal, puede ser promovido por manejos culturales, como son los tratamientos de calor, anoxia, aceites minerales y químicos compensadores de frío, generando la producción de etileno (Doorembos, Erez y Lavee, citados por Fuchigami y

Nee, 1987). El estrés subletal, puede levantar la dormición por un incremento en la permeabilidad de la membrana (Doorembos, citado por Fuchigami y Nee, 1987), debido a perturbación o la pérdida de la integridad de la misma (Fuchigami y Nee 1987). El grado de estrés subletal está relacionado con la evolución del etileno (Harber y Fuchigami, Kobayashi et al., citados por Fuchigami y Nee, 1987). Los tejidos expuestos al estrés producen altos niveles de etileno, alcanzando un máximo antes de dañar la membrana. Luego de que éste ocurre, disminuye el nivel de etileno y aumenta la permeabilidad de las membranas. Se ha encontrado también una correlación positiva entre la producción de etileno y el quiebre de la dormición cuando se han utilizado algunos agentes compensadores de frío (Nee, citado por Fuchigami y Nee, 1987). El incremento en la producción de etileno debido al estrés subletal, puede deberse a la liberación o activación de la enzima formadora de etileno (EFE) o ACC-oxidasa, la cual se encuentra asociada a la membrana (Mayak et al., citados por Fuchigami y Nee, 1987).

Luego de recibir este estrés subletal, la brotación ocurre bastante rápido bajo condiciones de temperaturas cálidas controladas. En cambio, bajo condiciones de fluctuación térmica y estrés temprano, no se adelanta la brotación. La recuperación o reparación del tejido dañado, bajo condiciones de fluctuación térmica, puede provocar la anulación del efecto del estrés subletal, en las etapas tempranas de la endodormición (Fuchigami y Winsniewski, citados por Manzi 2007).

2.8.3.1 Utilización de compuestos químicos

El método más comúnmente utilizado para compensar la falta de frío invernal es la aplicación de productos químicos, agrupados bajo el término “compensadores de frío”, aunque el término más apropiado es el de “promotores de brotación” (Díaz, citado por Quintana, 2006). El químico activo no tienen características comunes excepto que en muchos de ellos dosis subletales tienen efecto de ruptura de la dormición (Erez, 1987b).

No existe ningún químico que pueda compensar la totalidad de frío, aún en cultivares de bajos requerimientos. El efecto de los promotores de brotación sólo es efectivo si la planta ya ha sido expuesta a una cierta acumulación de frío, por lo que la época de aplicación es crítica (Erez, 1987b). Aplicaciones muy anticipadas a la fecha de brotación normal, pueden tener efecto en adelantarla sin afectar la cantidad, mientras que aspersiones intermedias o cercanas a la brotación, tendrán un efecto mayor hacia la uniformización y cantidad de yemas abiertas (Díaz, citado por Quintana, 2006). En este sentido, Erez (1987b) remarca que la yema apical tiene una dormición mucho más baja que las laterales y la temprana apertura de las apicales suprime ampliamente la brotación de las laterales, por aumento de la dominancia apical.

Promover la brotación sólo tendrá el resultado esperado si la aplicación se realiza cuando las membranas celulares se encuentren en un estado receptivo a la presencia de hormonas exógenas; esto ocurre una vez que la permeabilidad de las membranas y la

comunicación entre la yema y los tejidos subyacentes se ha establecido, esto es, durante el último estadio de la endodormición y durante el período de ecodormición (Llamas, citado por Quintana, 2006).

El efecto de los químicos depende de la dosis y el momento de aplicación. Una dosis alta, aplicada más cerca de la brotación, produce un efecto más fuerte, pero paralelamente se incrementa el riesgo de fitotoxicidad, siendo más sensibles las yemas florales (Erez, 1987b). Para determinar la concentración a utilizar se debe considerar la intensidad del frío, el crecimiento de la planta en el ciclo anterior y el cultivar (Epagri, 2006). La dosis apropiada depende del estado fisiológico de la yema, ya que su aplicación al final de la fase endodormición promueve la brotación, y además se requiere una concentración cada vez menor conforme la yema avanza hacia la fase de transición endo- a ecodormición. En cambio, si se aplica al final de la etapa de ecodormición no sólo es ineficaz en promover la brotación, sino que puede retrasarla e incluso causar fitotoxicidad (Fuchigami y Nee, citados por Llamas et al., 2002).

En relación al momento de aplicación, es de destacar que tanto la determinación del mismo como la evaluación de la respuesta de las yemas se realizan en general por métodos convencionales (cambios fenológicos) sin tener en cuenta su estado fisiológico (Llamas et al., 2002). Existen otros mecanismos para determinar el estado de la dormición, como la calorimetría isotérmica, que permite obtener información precisa y oportuna sobre la producción de calor metabólico de las yemas, como indicador efectivo de su actividad fisiológica (Criddle et al., Gardea et al., citados por Llamas, 2002).

Las épocas de brotación y floración son fuertemente afectadas de acuerdo al estado de la aplicación, que puede variar con el cultivar y con las condiciones climáticas de cada año en particular (Epagri, 2006). En general, la anticipación del momento de brotación y floración ocurre con más frecuencia cuando: se realizan aplicaciones tempranas (Epagri 2006, Herter et al. 2006, Manzi 2007, Severino 2008), en cultivares con alta exigencia de frío y en años con baja intensidad de frío (Epagri, 2006). Por otro lado, la mayor acumulación de frío invernal al momento de la aplicación de un compensador de frío provoca un aumento de la brotación (Herter et al. 2006, Manzi 2007, Severino 2008).

2.8.3.2 Aceite mineral

Los aceites minerales han sido el grupo de químicos más antiguamente empleados en forma comercial en especial los altamente refinados, y en el pasado en combinaciones con dinitro-orto-cresol (Erez 1987b, Erez 1995). Para el quiebre de la dormición los aceites minerales a utilizar deben ser emulsionables y presentar 80% o más de residuo no sulfonable (Epagri, 2006). Este índice manifiesta el grado de pureza del aceite emulsivo. Además, indica el porcentaje de hidrocarburos no reactivos de su composición y cuanto mayor sea este porcentaje menor será el riesgo de fitotoxicidad (Epagri, 2006).

La causa del efecto del aceite es una condición anaeróbica temporal en las yemas, que lleva a la acumulación de productos anaeróbicos finales, como etanol y acetaldehído (Erez et al., citados por Erez 1987b, 1995). La acumulación de etanol de dichos compuestos modifica la permeabilidad de las membranas sustituyendo el frío requerido para romper la dormición (Barthe y Bulard, citados por Powell, 1987).

Dado que el efecto de los aceites es vía respiración, la temperatura durante y luego del tratamiento posee un gran efecto en su actividad. Altas temperaturas estimulan una mayor respiración de las yemas, provocando un agotamiento más rápido del oxígeno en los órganos cubiertos con aceite (Erez, 1987b). Así se aceleran las condiciones de anaerobiosis en la misma, registrándose un mayor efecto del producto. Los mejores resultados se obtienen en aplicaciones con temperaturas superiores a 12°C, con un óptimo de 24°C, y con temperaturas inferiores a 12°C, la efectividad es casi nula (Yuri, 2002).

El efecto del aceite depende del estado de desarrollo de la yema. Dado que las yemas florales alcanzan un estado crítico previamente a las yemas vegetativas, resulta en una respuesta más efectiva en las primeras. Si la aplicación es realizada en la fase profunda de la endodormición no se registra ningún efecto (Black, citado por Saure, 1985).

En dosis de 1% a 4%, el aceite mineral acentúa el efecto de otros promotores de brotación, como la cianamida hidrogenada y el thidiazurón (Quintana, 2006). En trabajos realizados en Brasil, los mejores resultados se obtuvieron con mezclas de 2% aceite y 0,23% de cianamida hidrogenada (Petri et al., citados por Erez, 1995). En Israel la combinación de 4% aceite y 0,25% cianamida hidrogenada fue el tratamiento más efectivo en la ruptura de dormición en yemas de manzano durante 3 años de evaluación (Erez, 1995).

En general el riesgo de fitotoxicidad es bajo, sólo con dosis mayores a 6% en manzano (Erez 1987b, 1995); aplicaciones tardías generalmente no causan daño, por lo que se puede confiar en síntomas visuales, como yema hinchada en manzana, como un buen indicador del momento, y aplicar el químico cuando el tiempo es cálido permitiendo aplicaciones incluso en yema hinchada (Erez, 1995). La fitotoxicidad se manifiesta mediante un “dieback” en las brindillas o en casos severos en toda la rama o el árbol completo, provocada por un proceso fermentativo, resultado de la larga exposición a condiciones de anaerobiosis. En condiciones normales, el daño provocado por el aceite sólo ocurre cuando las temperaturas son extremadamente altas durante el período de efectividad, cuando se registran condiciones de anaerobiosis en las raíces, los árboles son muy débiles o luego de un anillado (Erez 1987b, Erez 2006).

2.8.3.3 Cianamida hidrogenada (H_2CN_2)

Es el compuesto químico más potente para promover la brotación, y su uso se ha extendido en manzano, ciruelo, duraznero, cerezo y vid, con un marcado efecto sobre las yemas vegetativas (Erez, 1987b).

El efecto de la cianamida estaría dado por la generación de un estrés subletal. Se ha reportado que la cianamida provoca un descenso en la actividad de las catalasas enzima encargada de degradar el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en O_2 y H_2O , por lo tanto provoca acumulación de H_2O_2 y un ambiente anaeróbico (Fuchigami y Nee, 1987). Sobre el peróxido comienza a actuar la enzima peroxidasa, induciendo la respiración mitocondrial a través del ciclo de las pentosa-fosfato, siendo la tasa respiratoria muy elevada al finalizar la dormición (Wang et al., Toledo, citados por Quintana, 2006).

Amberger, citado por Fuchigami y Nee (1987), sugiere que el incremento en el nivel de peróxido de hidrógeno, provocado por la inhibición de las catalasas, lleva a un aumento de glutatión (GSH). Este compuesto es un agente detoxificante, actúa reduciendo especies reactivas del oxígeno como peróxido de hidrógeno. Es el tiol de bajo peso molecular predominante en muchas células y se sabe que mantiene a los grupos tiol de las proteínas en un estado reducido (Fuchigami y Nee, 1987). La relación GSH:GSSG (glutatión:forma oxidada del glutatión), cambia durante la dormición, siendo baja durante la dormición e incrementándose luego del quiebre de la misma (Guy et al., citados por Fuchigami y Nee, 1987). Por lo tanto, el aumento producido por el estrés estimularía la ruptura de la dormición (Nee, citado por Fuchigami y Nee, 1987),

Levitt, citado por Fuchigami y Nee (1987) sugiere que el mecanismo de acción del estrés subletal está dado por un incremento en la permeabilidad de la membrana, debido a una oxidación de los grupos tiol de las proteínas de la misma. Estos compuestos, formados por un átomo de azufre y uno de hidrógeno (-SH) se oxidan (forman grupos -SS), induciendo una agregación de las proteínas de la membrana y reparando el daño inducido por el estrés en dicha estructura, siendo los más exitosos protectores de la membrana (Fuchigami y Nee, 1987).

Existe también un efecto de la cianamida, y de otros químicos como el potasio y el nitrato, en aumentar la concentración de citoquininas en el xilema 5 semanas antes de que ocurra en el tratamiento control (Cutting et al., citados por Faust et al., 1997)

Resultados contradictorios fueron obtenidos entre años y localidades con similares especies e incluso cultivares. La causa principal parecería residir en el grado de endodormición (estado fisiológico) de las yemas al momento de la aplicación. Para evitar daño a las yemas florales es esencial evitar aplicaciones muy tardías, a no ser que sea evidente que la dormición no ha terminado, por lo que resulta importante monitorear

el desarrollo de la dormición en las yemas antes del tratamiento. Aplicaciones muy tempranas podrían no tener efecto (Erez, 1995).

La bibliografía menciona diferentes dosis. Según Subhadrabandhu (1995a) la concentración de 1.0% de cianamida hidrogenada promueve la brotación de manzanos, siendo máxima con porcentajes de 2.5% del producto. Según Epagri (2006), para obtener un buen efecto tanto en yemas terminales como en laterales, deben utilizarse dosis entre 1% y 1,5%. Según Díaz, citado por Quintana (2006) dosis de 0.5% a 3.0 %, aplicadas de 20 a 40 días antes de la brotación puede estimular una brotación adecuada en manzana. A concentraciones de 10% se ha registrado muerte de brotes (Subhadrabandhu, 1995a).

Tratamientos tempranos de cianamida hidrogenada, resultan en un avance de la floración y de la madurez de frutos en manzanos (Nicolas y Bonnet, Snir y Erez, George y Nissen, citados por Erez 1995, Manzi 2007). La bibliografía muestra un rango variado de adelantamiento respecto del testigo. En manzano, en las condiciones de Uruguay y en variedades de medio a bajo requerimiento de frío, el tratamiento temprano con cianamida a dosis de 1.25% alcanza el 50% de brotación 26 días antes que el testigo, y 6 días antes que los restantes productos aplicados en fecha temprana (Manzi, 2007). En las condiciones de Brasil se alcanzan adelantamientos de hasta 30 días en la época de plena floración respecto al testigo (Epagri, 2006). En consecuencia, según Epagri (2006), el adelantamiento en la fecha de plena flor propicia un mayor desarrollo de los frutos, dado que permanecen por un mayor período en la planta. Esto fue corroborado por Manzi (2007). Por otro lado, la anticipación de la floración no se corresponde proporcionalmente con el adelanto en la madurez de los frutos, es desde 4 a 5 días (Epagri, 2006) hasta 13 días (Manzi, 2007).

En general el mayor efecto en aumentar y concentrar la floración se logra al incrementarse el frío acumulado al momento de aplicación, alcanzándose en brotación final aumentos desde 13.7% hasta 23% superiores al testigo en las aplicaciones más tardías (Manzi 2007, Severino 2008).

Puede ocurrir una competencia entre el desarrollo vegetativo y reproductivo, especialmente bajo condiciones que promueven o anticipan el follaje; la brotación vegetativa excesiva podría tener un efecto negativo en el cuajado debido a la competencia entre fosas (Erez, 1995).

La cianamida hidrogenada en durazneros y ciruelos puede provocar importantes daños, especialmente en yemas florales y brotes jóvenes, bajo determinadas condiciones climáticas, llegando a ser mayor el daño en climas fríos (Erez, 1987b). En cambio, la efectividad de la aplicación de cianamida hidrogenada más aceite mineral en el cultivar de manzanos 'Gala', no disminuyó por la ocurrencia de temperaturas de 4°C tanto antes

como después del tratamiento, comparadas con temperaturas de 25°C (Petri, citado por Manzi, 2007).

En relación a otros aspectos, Costa (2004) plantea que la cianamida es un químico peligroso para manipular, tiene efectos secundarios no deseados y es relativamente inestable, haciendo riesgoso el almacenaje de un año para el otro.

La Administración de seguridad y salud ocupacional del Departamento de trabajo de Estados Unidos, declara que la cianamida en humanos es cáustica e irritante en ojos, piel y tracto respiratorio. La exposición aguda causa enrojecimiento, inflamación y lagrimeo de los ojos, erupción cutánea, quemaduras en los ojos y piel, constricción en las pupilas, salivación excesiva y espasmos. Causa intolerancia al alcohol, por lo que si la exposición es acompañada con la ingesta de alcohol, la reacción se caracteriza por enrojecimiento facial, dolor de cabeza pulsátil, náuseas, vómitos, dificultad para respirar, sudoración, sed, dolor torácico, hipotensión, debilidad, vértigo, visión borrosa, y confusión. A su vez, la exposición crónica a la cianamida causa alergia en la piel, y exposiciones subsecuentes a bajas dosis de cianamida producen picazón y erupciones en la piel. La exposición crónica afecta el hígado y el sistema nervioso.

North en 1995 pronosticaba que la cianamida encontraría aceptación sólo por corto plazo en la demanda mundial de productos más amigables con el ambiente. En relación a esto, el Diario Oficial de la Unión Europea (EU) publicó el 18 de setiembre de 2008 la decisión de la Comisión Europea de no incluir a la cianamida dentro del Anexo I de la Directiva 91/414/CEE, es decir dentro de la clasificación de “Ingrediente activo autorizado en la UE”. Hasta ese momento la cianamida se encontraba dentro de la clasificación “Ingrediente activo con revisión en curso”. La Comisión declaró que *“del examen de esta sustancia activa por parte del Comité se concluyó que, a la vista de los comentarios enviados por los Estados miembros, existen señales claras que permiten pensar que tiene efectos perjudiciales para la salud humana y, en particular, para los operarios, puesto que el nivel de exposición es superior al 100 % del nivel de exposición admisible para el operario”*. También estableció que *“Los Estados miembros velarán por que se retiren las autorizaciones de los productos fitosanitarios que contengan cianamida a más tardar el 18 de marzo de 2009”*.

Dada la potencial prohibición de este compuesto tóxico y la dependencia de la exportación, es necesaria la introducción de nuevos y más amigables con el ambiente agentes de ruptura de la dormición (North, 1995). En este sentido se han ido desarrollando diversas investigaciones que intentan encontrar alternativas a los tratamientos basados en cianamida, manteniendo la eficiencia pero con reducida toxicidad (North 1995, Llamas et al. 2002, McArtney et al. 2004, Quintana 2006, Erez et al. 2008, North 2008, entre otros).

2.8.3.4 Mezclas con Cianamida

La cianamida es un químico peligroso (Costa, 2004). Sumado a esto, su costo relativamente elevado hace que su uso comercial sea posible sólo cuando se usa en bajas concentraciones o volúmenes (North, 1995). Por lo tanto, para hacer factible su uso en el mercado de la manzana su concentración debe reducirse, y así reducir su costo, sin comprometer la eficiencia (Erez 1995, North 1995).

La adición de aceite mineral permite la reducción en la concentración, de forma de reducir tanto el riesgo en la salud como los costos, basándose principalmente en aumentar la actividad mediante la estimulación de diferentes mecanismos de acción (North, 1995). Este autor plantea diferentes investigaciones en “Golden Delicious” indican que la concentración de cianamida hidrogenada puede ser reducida hasta 0,5% y 0,75% en mezclas con aceite en dosis de 2% y 3%, lográndose aumento de la brotación y adelanto del momento de plena flor respecto del testigo. Según Epagri (2006), la mezcla de aceite 3% más cianamida 0.25% proporciona una buena brotación en yemas laterales y terminales en cultivares Gala y Fuji, y es una práctica ampliamente difundida en todo Brasil. La concentración de aceite puede variar entre 3 y 4% y la de cianamida entre 0.15% a 0.5%, dependiendo del cultivar y de las condiciones de dormición.

Según Epagri (2006), la mayor brotación de las yemas laterales proporciona un aumento en el número de spurs y consecuentemente un aumento del número de inflorescencias, lo que se intensifica con el correr de los años. Pero la producción por planta no siempre aumenta por la aplicación de aceite más cianamida, aunque las dosis más altas de aceite y cianamida no muestran efectos negativos sobre la producción. Luego de ensayos realizados en variedades del grupo “Gala”, se concluye que la variabilidad en la producción en los diferentes años y en los diferentes tratamientos puede ser atribuida a problemas en la polinización, debido a una concentración de la floración, y a un aumento del número de inflorescencias (Epagri, 2006). De cualquier manera, sí es una práctica aplicada con el objetivo de aumentar la floración y la sincronización entre las floraciones de los cultivares (Erez, 1987b).

Ciertas investigaciones plantean mezclas con diferentes coadyuvantes con propiedades penetrantes o humectantes (North, 2008) que aumentan la penetración cuticular de los productos con los que se aplican, permitiendo reducir la concentración de éstos últimos. A su vez, también podrían tener efecto en aumentar la acción de agentes de ruptura suaves, como el nitrato de potasio (KNO_3) (Erez, 1995).

Algunos nombres comerciales comúnmente utilizados son Waiken[®], Armobreak[®] y Triton X-100[®], evaluados tanto en manzano como duraznero, fundamentalmente. En general, las mezclas de cianamida, en bajas dosis, con dichos productos obtienen similares resultados en cuanto a adelantamiento y aumento de la brotación, en relación a

la cianamida aplicada sola (Erez et al., 2008). En algunos casos incluso ocurre menor brotación floral, indicando un posible efecto de fitotoxicidad del Armobreak® en yemas florales (Erez et al., 2008).

2.8.3.5 Erger G®

Según la empresa que desarrolló el producto (Valagro, perteneciente a Nutrecology Inc.), es un bioestimulante para la interrupción de la dormición en cerezo y vid. Según información de etiqueta, se presenta como un fertilizante foliar, que contiene 8.0% de nitrógeno total, del cual 3.9% está como nitrógeno amoniacal, 3.9% como nitrato y 0.2% como nitrógeno soluble al agua. Deriva de extractos vegetales, por lo que contiene mono y disacáridos, proteínas, enzimas, junto con nitrógeno inorgánico en forma de nitrato de amonio. La dosis de aplicación varía de 2 a 7%, solo o en mezcla con nitrato de calcio o cianamida hidrogenada.

El producto actúa sobre la fisiología de las yemas aportando nutrientes a los tejidos en dormición, lo que produce un cambio en el equilibrio promotores / inhibidores del crecimiento, para desarrollar una señal de inicio de actividad metabólica que conduce a la brotación de yemas (Nutrecology, citado por Quintana, 2006). Es un producto orgánico-mineral en suspensión, apropiado para interrumpir la dormición en árboles frutales, y menos problemático desde el punto de vista toxicológico para el ser humano (De Salvador y Di Tommaso, citados por Quintana, 2006).

Quintana et al. (2006) realizaron una serie de ensayos en manzana, probando diferentes de dosis de este producto en combinación con nitrato de calcio, frente a cianamida, aceite mineral y tidiazurón, en diversas combinaciones y dosis. En estos ensayos el momento de aplicación se determinó por calorimetría, aplicándose 20 días antes del inicio de la brotación. Se detectó un adelanto en la brotación en los tratamientos de Erger®G+nitrato de calcio (1%+2%), junto con las combinaciones de cianamida+aceite (1%+2%), cianamida+aceite+tidiazurón (0.5%+2%+0.05%) y la cianamida sola (1%), quienes en promedio superaban en 33% la brotación del testigo, ya en la primer fecha de evaluación. En todos los años de evaluación, sólo los tratamientos de Erger®G+nitrato de calcio (1%+2%) y la combinación cianamida+aceite+tidiazurón (0.5%+2%+0.05%) presentan datos consistentemente mayores en cuanto a porcentajes de brotación vegetativa y floral, cuajado de frutos y densidad de cosecha. En cuanto a calidad de fruto en cosecha, sólo hubo efectos en mayor firmeza y en menor russet de la epidermis de la manzana, y en los dos tratamientos a base de Erger®G + Nitrato de Calcio.

En otros ensayos, Erger®G adelantó la brotación respecto al testigo en 7-8 días, superando el adelanto logrado por el KNO₃ solo o en combinación con coadyuvantes. En ese ensayo no se probaron tratamientos con cianamida ni con aceite. También fue

efectivo en adelantar floración, pero no redujo la duración de la brotación (McArtney et al., 2004).

2.8.3.6 Sales – Nitrato de potasio (KNO_3)

En un primer momento se encontró que aspersiones con KNO_3 tenían un fuerte efecto en aumentar la brotación en yemas durmientes en los estadios iniciales de la dormición, como tratamiento para prevenir la dormición (Erez, 1987b). En estudios posteriores se determinó que esta sal puede tener un efecto leve en la ruptura de la dormición por sí sola, pero aumenta el efecto del aceite si se la aplica previamente. El efecto específico del KNO_3 es aumentar la brotación floral (Erez, 1987b).

En ensayos desarrollados por Epagri (2006), el KNO_3 a dosis de 5% y 10% presenta poco efecto y solamente en la brotación de yemas terminales, independientemente de ser utilizado solo o en combinación con aceite mineral.

Mezcla de sales con productos que aumentan la penetración (ejemplo Armobreak®) muestran buena respuesta en duraznero así como en cerezo (Erez, 2008). Esta mezcla podría aumentar el efecto de químicos suaves, como el nitrato de potasio. La combinación de un fuerte penetrante con un químico con efecto modesto resulta en un agente muy potente, manteniéndose la no fitotoxicidad a los árboles tratados (Erez, 2008).

En yemas florales, Erez (2008) obtuvo un efecto positivo en el porcentaje de brotación con Armobreak® más agentes suaves como el KNO_3 y con bajas concentraciones de cianamida, en comparación con el testigo. En mezclas con altas concentraciones de cianamida y con otros productos se observa menor brotación floral, indicando un posible efecto de fitotoxicidad del Armobreak® en yemas florales. El porcentaje de cuajado final y la carga de fruta fue superior al testigo en los tratamientos con KNO_3 +Armobreak®, e igual que para la cianamida (Erez, 2008).

2.8.3.7 Selección de variedades adaptadas y mejoramiento genético

La forma ideal de alcanzar la salida de la dormición en regiones cálidas sería plantar cultivares adaptados a esas condiciones, por ejemplo con un requerimiento de frío lo suficientemente bajo como para ser regulado por frío suministrado disponible (Saure 1985, Quintana 2006). La característica de bajo requerimiento de frío es heredable y por lo tanto podría ser utilizado en la producción de frutales caducos para la mejor adaptación a regiones cálidas (Saure, 1985).

En Brasil, la Empresa de pesquisa Agropecuaria y Extensión Rural (Epagri) de Santa Catarina, viene desarrollando una serie de ensayos de cruzamiento para selección de nuevas variedades, utilizando en un principio como parentales algunas de las

variedades más plantadas en Brasil (“Gala” y “Fuji”). De estas líneas de investigación han surgido nuevos cultivares de manzano de medios, bajos y muy bajos requerimientos de frío, adaptados a sus condiciones, con un énfasis especial en adaptación a condiciones marginales de frío (Enfrute, 2009). Una de las variedades lanzadas, Condesa que a su vez es resistente a *Venturia inaequalis* (sarna del manzano), se ha introducido recientemente a Uruguay a través del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA).

2.8.3.8 Físicos - Hidrocooling

El enfriamiento de yemas por evaporación está basado en la propiedad física del agua, conocido como calor específico de evaporación, cuyo principio dice que, para evaporarse un gramo de agua se necesitan 539 calorías, energía que es tomada del medio ambiente y de la superficie donde es depositada (Salisbury y Ross, 1992). Al aplicarse el agua por aspersión sobre la superficie de los árboles provoca un enfriamiento de la madera, lo cual repercute en el metabolismo de la planta (Bauer et al., Erez y Couvillon, Gilreath y Buchanan, citados por Erez, 1995).

Se logra no sólo disminuir la desacumulación sino que en algunas condiciones incluso se llega a acumular frío. Las mayores limitantes son: disponibilidad de agua y del sistema de aplicación, buena calidad de agua, bajo contenido de sal en la misma, un momento del día con relativamente bajo nivel de humedad relativa para permitir la evaporación (Bauer et al., Erez y Couvillon, Gilreath y Buchanan, citados por Erez, 1995).

2.8.3.9 Físicos - Poda y arqueado de ramas

El momento de la poda influye sobre la brotación, con podas tempranas, es difícil obtener una buena brotación lateral, debido a la dominancia de las yemas cercanas al corte de poda (Erez, 1995). La poda tardía, especialmente de despunte, puede atenuar el efecto inhibitorio de la yema terminal (Quintana, 2006)

El arqueado de ramas durante el invierno incrementa la brotación de las yemas laterales, pero las ramas arqueadas se enderezaban (por ejemplo en agosto, HS) las yemas terminales imponen dormición en las yemas laterales, similar a ramas no arqueadas (Crabe, citado por Faust et al. 1995, Edwards y Notodimedjo, citados por Subhadrabandhu 1995a). Por lo que el efecto de la dominancia apical ocurre durante la fase tardía de la dormición (Faust et al., 1995).

2.8.3.10 Otros métodos físicos

El riego a fines de otoño, así como la fertilización nitrogenada, provocan que el árbol entre más tarde al reposo y por consiguiente que la brotación se presente más tarde (Ramírez et al., citados por Quintana, 2006).

La defoliación prematura de los árboles en el otoño, con la finalidad de disminuir la cantidad de inhibidores potenciales que acumularían las yemas, puede ser otra opción para mejorar la brotación. Si bien la defoliación es una técnica de producción forzada, puede ayudar a minimizar los efectos causados por la falta de frío y, combinada con la aplicación de estimuladores de brotación, puede producir buenos resultados en brotación y rendimiento (Paz et al., citados por Quintana, 2006)

2.8.4 Algunos indicadores de la salida de la dormición

La planta sufre un ajuste al estado invernal, que es gradual, algunas alteraciones aparecen temprano y otras más tarde, y el proceso de transformación no es sincronizado en toda la planta. La actividad de genes es suprimida selectivamente, se inhibe el proceso de traducción y la actividad mitótica en el meristema se reduce ampliamente o se detiene. El núcleo permanece en la fase G1 del ciclo celular, en preparación para la reduplicación del ADN que ocurre hacia el final del invierno. El sistema de membrana endoplasmática y los plasmodesmos se condensan, la mitocondria se vuelve más pequeña, la estructura de los tilacoides en los cloroplastos de algunas plantas y tejidos se reducen, y las vacuolas se dispersan en pequeñas unidades. La actividad metabólica declina, y el patrón y actividad enzimática cambia (Larcher, 1995)

2.8.4.1 Cambios en la respiración de las yemas

Butler y Landsberg, citados por Young et al. (1995) determinaron que en ramas de manzano, los niveles de respiración en las yemas son menores durante la endodormición, alcanzando rápidamente un pico en la primavera, y luego declinando constantemente durante la estación.

Por otro lado, la respiración aumenta significativamente en árboles de manzano que son puestos en condiciones cálidas sólo luego de que se completa el enfriamiento, por lo que el frío debe conducir a un cambio en la curva respuesta de la respiración a la temperatura (Young et al., 1995).

Young et al. (1995) luego de una serie de estudios en los que se midió la respiración en porciones de ramas de diferentes años y bajo diferentes tratamientos de frío, concluyen que el incremento en la respiración podría ser respuesta a frío suficiente. La

respiración parece incrementarse bajo condiciones cálidas luego de un adecuado enfriamiento tanto en los tejidos de yemas como de entrenudos, indicando que cambios fisiológicos relacionados con la utilización de carbohidratos están ocurriendo dentro del brote durante la brotación. El cambio en la respiración luego del mismo tiempo en cámara de forzada (30 días) se vuelve mayor con el incremento en las unidades de frío recibidas, aún luego de satisfechos los requerimientos.

En este mismo trabajo se observa que en árboles que habían apenas satisfecho sus requerimientos de frío, hay una mayor respiración en las porciones del tallo cercanas al ápice, que podría explicarse por la acción correlativa del ápice y por la posición relativa de las yemas. También podría explicarse que yemas de más abajo y más viejas tienen mayor profundidad de la dormición. Esto no ocurre en árboles con exceso de frío, ya que en ese caso no existen diferencias en la respiración a lo largo de todo el brote, entendiéndose que el exceso de frío podría extender la región del brote que sale de la dormición (Young et al., 1995)

2.8.4.2 Cambios en el contenido de proteínas y carbohidratos de las yemas

El contenido de proteínas en yemas de manzano de un año de edad, tanto si recibieron o no frío suplementario, presenta una disminución homogénea en el período desde abril a mayo (HS) y pequeñas oscilaciones en el período de junio a agosto (HS). En el momento de la entrada en endodormición ocurre una exportación de proteínas por las yemas para tejidos más alejados y simultáneamente una degradación de las mismas en regiones próximas a la yema. Durante la endodormición profunda ocurriría una exportación en los tejidos más próximos a la yema y una degradación en los tejidos internos de la yema, por lo que se acumularían proteínas en los tejidos adyacentes a la yema. De esta forma, la entrada en la endodormición puede estar asociada a una reducción del contenido de proteínas en las yemas, y a partir de la dormición profunda ocurriría una gradual acumulación de las mismas hasta la salida de la dormición (Carvalho et al., 2006c).

Una completa supresión del frío mantienen inalterados los niveles de proteínas y el suplemento de 1440 horas de frío, suficiente para la salida de la dormición de acuerdo a las exigencias del cultivar, (Tamura et al., Petri et al., citados por Carvalho y Zanette, 2006c) no alteró el metabolismo natural de las proteínas comparado con la acumulación gradual de frío que ocurre naturalmente, indicando la independencia de la degradación o exportación de las proteínas en relación al frío intenso y continuo (Carvalho et al., 2006c).

En relación a los carbohidratos, la sacarosa es la forma más importante de transporte de carbono en las plantas (Quick y Schaffer, citados por Carvalho y Zanette, 2006a), y en la familia Rosaceae el sorbitol es frecuentemente el principal producto fotosintético

(Salisbury y Ross, Quick y Schaffer, citados por Carvalho y Zanette, 2006a). El sorbitol ejerce funciones en tejidos no fotosintetizantes como almacenamiento, transporte, tolerancia a la deshidratación y resistencia al congelamiento, en virtud de su capacidad de regulación osmótica y de producción de enzimas (Loescher y Everard, citados por Carvalho y Zanette, 2006a).

Según investigaciones realizadas por Carvalho y Zanette (2006b, 2006a) en manzano “Imperial Gala” en la región de Porto Amazonas, tanto en yemas de 1 como de 2 años, el contenido de carbohidratos solubles totales se reduce a lo largo de la dormición hasta el mes de junio, con pequeñas oscilaciones en los meses siguientes, hasta antes de la brotación en campo. Por el contrario, el contenido de monosacáridos (glucosa, fructosa y sorbitol) es bajo en la entrada en dormición y aumenta durante la misma, lo que sugiere que otros mono u oligosacáridos pueden ser exportados de la yema directamente o primero degradados y en seguida exportados (Carvalho y Zanette 2006b, 2006a).

Se observa una acumulación de sorbitol en los tejidos de la yema, que se produce por translocación desde los tejidos adyacentes, no habiendo impedimentos físicos o fisiológicos que imposibiliten su translocación. Si hubiese una reducción química de la glucosa o de la fructosa para la formación localizada de sorbitol, habría una reducción en el contenido de ambos monosacáridos, hecho que no se detectó, sugiriendo que la glucosa y fructosa también habrían sido importadas por la yema (Carvalho y Zanette, 2006a). Por otro lado, como se determinó que el contenido de carbohidratos totales se reduce a lo largo de la dormición, el contenido de otros carbohidratos solubles también se reduce con la entrada de la dormición, sugiriendo que el transporte entre la yema y los tejidos adyacentes es libre, pero selectivo. Si bien algunos carbohidratos fueron directamente para el exterior de la yema, otros fueron en sentido contrario (Carvalho y Zanette, 2006a).

El transporte en estos tejidos ocurre a distancias muy cortas y puede suceder vía simplasto u apoplasto (Thospe y Minchin, citados por Carvalho y Zanette, 2006a). El transporte vía simplasto, por plasmodesmos, puede ejercer un control grosero de selectividad de moléculas, facilitando el pasaje de moléculas pequeñas y bloqueando el pasaje de otras más grandes. De esta forma, la glucosa, fructosa y el sorbitol podrían ser transportados vía plasmodesmos para cualquier dirección (Carvalho y Zanette, 2006a). El transporte vía apoplasto involucra transportadores de membrana (proteínas) y puede ocurrir conjuntamente con el transporte de otras sustancias en el mismo sentido o en sentido contrario (Buckhaout y Tubbe, citados por Carvalho y Zanette, 2006a). Esta hipótesis parece explicar mejor el transporte a corta distancia en las yemas de manzano, ya que transportadores específicos pueden transportar moléculas específicas en una dirección y al mismo tiempo, transportar otras en dirección contraria. Alteraciones en la membrana en el tiempo pueden modificar esta selectividad, dándole coherencia a las propuestas que sugieren que el fenómeno de la dormición estaría involucrado con la

composición de las membranas (Erez, 2000) y con la cantidad y actividad de la ATP-asa de membrana (Aue et al., 1999).

La evolución de los carbohidratos siempre se modificó con el tratamiento de frío suplementario, aumentando la acumulación de glucosa y fructosa en las yemas en todas las épocas estudiadas y el sorbitol a partir de mayo, en comparación con las yemas que no recibieron frío extra (Carvalho y Zanette, 2006b). Este hecho no ocurre con el contenido de proteínas demostrando que la dinámica de variación de los carbohidratos y de las proteínas son independientes (Carvalho et al., 2006c).

2.8.5 Requerimientos de calor para la brotación

El momento de floración en árboles frutales de clima templados está determinado por el frío del otoño e invierno, el cual quiebra la endodormición de las yemas y por la acumulación de calor que promueve una reanudación activa del crecimiento del primordio floral a través de la apertura floral (Regenard y Legave, 2006). De cualquier manera, las bajas temperaturas son el principal factor ambiental para la liberación de la dormición (Vegis, citado por Heide y Prestrud, 2004), y una vez que el requerimiento de frío ha sido cumplido, las unidades de calor estimulan la brotación (Olsen, 2006).

Los requerimientos de unidades de frío y de unidades de calor son claramente factores dependientes (Hauagge y Cummins, 1991b). El período de transición de la acumulación de unidades de frío a la acumulación de grados horas para crecer, no ha sido bien estudiado en relación a las temperaturas óptimas (Young, 1992). En resultados obtenidos por este mismo autor, temperaturas de 5°C a 10°C, más altas que las usualmente consideradas óptimas para la acumulación de frío, aceleran el progreso hacia la brotación, si ocurren luego de que una porción significativa del requerimiento de frío ha sido recibida. Estos resultados implican que en invierno, cuando las temperaturas aumentan más temprano que lo normal y el cálculo de unidades de frío indica que la mayoría de los cultivares están un poco por debajo de la acumulación, la brotación probablemente ocurra normalmente (Young, 1992). La eficiencia con que la acumulación de frío modifica los requerimientos de calor es otro factor que interfiere con el momento de brotación (Hauagge y Cummins, 1991b).

En estudios realizados en Francia por Regenard y Legave (2006), en relación a la evaluación del calentamiento global y su impacto en la fenología de los manzanos, los autores proponen que dos impactos ocurren simultáneamente: un leve retraso en la satisfacción del requerimiento de frío (3-4 días) y un marcado acortamiento en la satisfacción de los requerimientos de calor (10-12 días), lo que explicaría el adelanto observado en esas condiciones desde los años 80' en el momento de floración (7-8 días).

2.9 FRÍO INVERNAL – REQUERIMIENTOS Y DISPONIBILIDAD

2.9.1 Requerimiento de frío

Los árboles frutales caducos deben estar sujetos a una disminución de la temperatura por cierto tiempo para salir de la dormición, período que se establece como requerimiento de frío y que está determinado genéticamente (Saure, 1985). Dichos requerimientos son expresados, generalmente, como el número de horas bajo cierta temperatura, comúnmente 7,2°C (Chandler et al., Chandler y Tufts, Weimberger, citados por Shaltout y Unrath, 1983) o como unidades de frío, correspondiendo a diferentes temperaturas durante el invierno (Erez y Lavee, Richardson et al., citados por Shaltout y Unrath, 1983). La acumulación de frío ha sido típicamente usada para estimar la intensidad y progreso de la dormición de yemas (Arora et al., 2003).

Es muy difícil determinar la cantidad precisa de frío que se requiere para terminar con la dormición, por la interacción con temperaturas elevadas, por la definición de temperaturas que signifiquen frío para las yemas y porque la capacidad de brotación existe en yemas con diferente estado de disipación de la dormición, variando solamente la cantidad de calor para brotar (Gil-Salaya, citado por Quintana, 2006).

Las plantas incluso empiezan a acumular horas de frío tan pronto como el crecimiento se detiene y antes de que la dormición esté completamente establecida (Heide y Prestrud, 2004). Jonkers, citado por Heide y Prestrud (2004) mantuvo árboles jóvenes de manzana durante la primavera y verano a temperaturas en el rango de 9°C a 25°C y encontró que, luego de 6 semanas de frío a 2°C, la brotación y el crecimiento fue más temprano y más vigoroso cuanto menores habían sido las temperaturas en el verano anterior.

2.9.1.1 Diferencias entre tipos de yema

Las respuestas de las yemas en relación a la exposición a bajas temperaturas son variadas de acuerdo con los cultivares analizados, el tipo de yema (vegetativa o reproductiva) y su localización en la planta (Petri et al., Putti et al., Putti et al., citados por Carvalho y Zanette, 2004).

Las yemas terminales necesitan menos frío para romper la dormición que las laterales (Saure 1985, Erez 1987b, Faust et al. 1995). A su vez, yemas laterales de manzano en brotes en donde se removió la yema apical, necesitan menos frío para romper la dormición que en aquellos en los que la yema terminal está intacta (Faust et al., 1995b).

Dentro de las yemas laterales, pueden haber grandes diferencias dependiendo de la sección de rama, la posición en el árbol o el vigor del brote (Saure, 1985). La primera

fase de la endodormición se caracteriza por un gradiente basítono de la capacidad de brotar, mientras hacia el final de la dormición hay un retorno a la acrotonía de la capacidad de brotar (Saure, 1985). Hay algunas evidencias de que la dominancia apical actúa incluso durante la endodormición, algunos autores incluso afirman que las yemas laterales están parcialmente dormidas o sólo tienen inhibición correlativa (Leille, citado por Saure, 1985). Según Naor et al. (2003) la fuerte dominancia apical en manzano unida a bajos requerimientos de frío de la yema terminal se combinan para enmascarar los efectos del frío en las yemas laterales.

Los requerimientos de frío de las yemas vegetativas son mayores que los de las reproductivas (Hauagge y Cummins 1991b, Naor et al. 2003). En regiones de poco frío, la condición limitante sería la superación de la endodormición de las yemas vegetativas y no de las reproductivas.

Manzanos y otros pomos son menos afectados por la insuficiencia de frío que el duraznero, debido a que muchas flores son formadas como yemas mixtas terminales (Samish y Laveé, citados por Saure, 1985), en cambio en duraznero las flores siempre son yemas laterales (Naor et al, 2003).

Yemas en dormición de 2 y 3 años en manzanos adultos pueden presentar brotación espontánea cuando ocurren temperaturas elevadas en el invierno, mientras que yemas de 1 año permanecen en dormición (Carvalho y Zanette, 2004). Estas yemas podrían ser importantes en la corrección de la copa de la planta o para la renovación de ramas productivas, pero al final de la endodormición e inicio de la ecodormición, la capacidad de brotación de yemas de 1 año ya se torna mayor que la de yemas más viejas (Carvalho y Zanette, 2004). Así mismo, las yemas más nuevas brotan, asumiendo el nuevo ciclo de crecimiento e inhibiendo la brotación de las yemas más viejas, caracterizando la acrotonía en plantas leñosas, hecho indeseable en plantaciones comerciales de manzano.

Según los datos presentados por Carvalho y Zanette (2004), muchas de las yemas que no brotan en la primavera de un año, volverán a no brotar en el año siguiente. Según los autores, este hecho indica que, una vez en dormición, una yema está destinada a permanecer en dormición y solamente presentar brotación extemporánea (atípica) cuando algún factor externo permite su brotación, como la poda de ramas viejas. Agregan a su vez, que se puede considerar que estas yemas permanecen como yemas de reserva, ya que no brotadas en un año, poseen la capacidad de brotar al año siguiente cuando son aisladas o retiradas de una posición inferior en relación a otras yemas (Carvalho y Zanette, 2004).

2.9.1.2 Diferencias entre variedades

Existen diferencias entre especies y entre cultivares dentro de una especie, en cuanto a los requerimientos de frío (Powell, 1987). Los cultivares con bajos requerimientos de frío necesitan sólo una fracción del frío que necesitan otros cultivares para poder brotar, pero por qué necesitan menos no está claro (Faust et al., 1997).

Existen algunos cultivares con muy elevado requerimientos de frío que brotan muy tarde en la primavera, esto puede estar asociado a una interacción entre los requerimientos de frío y los requerimientos de unidades de calor para la brotación. (Powell, 1987). Cultivares de brotación tardía requieren más grados horas de crecimiento que los de brotación temprana, y un aumento en las unidades de frío aumenta la brotación en cultivares tardías (Young et al., 1995). Por otro lado, árboles con frío insuficiente requieren más unidades de calor para brotación que árboles con frío suficiente (Couvillon y Erez, citados por Powell, 1987).

Hauagge y Cummins (1991a), luego de ensayos de cruzamiento del cultivar “Anna” postulan que el carácter de bajo requerimiento de frío es controlado por al menos un gen dominante mayor y genes de menor importancia que interactúan para modular sus efectos.

Los mismos autores en otro trabajo, incluyendo más variedades de manzana (Hauagge y Cummins, 1991b) clasificaron a las mismas dentro de 3 grupos en función de su intensidad de dormición, tomando como criterio el tiempo necesario para alcanzar el 50% de brotación en brindillas (menos de 35 días, entre 35 y 100 días, más de 100 días). Según estos autores, estos grupos diferían en su respuesta a la acumulación de frío. La menor susceptibilidad a la desacumulación de frío podría ser uno de los mecanismos por el cual los genotipos pueden diferir, dándoles ventajas adaptativas a aquellos con menor susceptibilidad bajo condiciones de inviernos benignos. En este mismo sentido, Powell (1987) plantea que los cultivares con bajos requerimientos de frío podrían tener mayor tolerancia a las altas temperaturas (se inhiben menos) que aquellos de altos requerimientos. Estos datos soportan la hipótesis de que los cultivares de bajo requerimiento de frío nunca entran en dormición profunda y que las bajas temperaturas no son requeridas para romper su dormición (Hauagge y Cummins, 1991a). Según estos autores el componente altamente heredable de bajos requerimientos de frío de las yemas está relacionado con una incapacidad para desarrollar un estado de letargo profundo, más que a la aceleración de la terminación del proceso de dormición.

En otro sentido, Faust et al. (1995b) señala que en cultivares de bajos requerimientos, la yema apical tiene menor efecto sobre las yemas laterales que en cultivares de altos requerimientos, por lo que dicho autor se pregunta si parte de las diferencias pudieran deberse a este factor.

2.9.1.3 Factores moduladores

Según Erez (1995), existen factores moduladores, que pueden afectar fuertemente el requerimiento de frío genético del árbol. Un mayor vigor vegetativo del árbol, ramas con posición más vertical y un crecimiento tardío profundizan la dormición. Por otro lado, las podas más tempranas disminuyen la brotación, debido a la dominancia de las yemas cercanas a la herida de la poda. En este sentido, Saure (1985) cita que varios factores externos que aumentan el vigor y la duración del período de crecimiento (disponibilidad de agua y nitrógeno, condiciones ambientales), al mismo tiempo podrían aumentar el requerimiento de frío. Las yemas que están en ramas vigorosas, que mantienen por más tiempo las hojas en el otoño, requieren más frío que yemas en ramas más débiles (Chandler y Tufts, citados por Faust et al., 1997). Esto plantea la necesidad de estudiar el rol de las hojas en la dormición (Saure, 1985).

2.9.2 Métodos de cálculo del frío

El primer intento de cuantificación fue realizado por Weinberger en 1950, mediante el método de conteo de horas con temperaturas menores a 7,2°C. Posteriormente en 1974, Richardson definió las unidades de frío (UF), considerando una eficiencia diferencial de diferentes temperaturas, al menor efecto de la temperatura en inducir salida de dormición se le da un menor valor de UF (Saure, 1985). Dicho modelo se conoce como modelo Utah.

Un modelo similar al de Richardson fue propuesto para manzana por Shaltouth y Unrath en 1983, conocido como modelo de Carolina del Norte, el cual plantea una correspondencia diferente entre las UF y las diferentes temperaturas (Shaltouth y Unrath 1983, Naor et al. 2003). De cualquier manera, el modelo de Utah no predice con precisión la terminación de la dormición y brotación en manzano en climas cálidos y templados (Shaltout y Unrath, 1983).

Erez et al., citados por Faust et al. (1997) estableció que la acumulación de frío es revertida por altas temperaturas intermitentes, pero sólo si ocurren en ciclos cortos. Hay un punto en la acumulación de frío donde el proceso se vuelve irreversible indicando una fijación del efecto: este estado es expresado en el modelo dinámico, desarrollado por Fishman et al. (1988). En dicho modelo se propuso que las horas de frío son acumuladas en cuotas, y una vez que una cuota se completa, su efecto es fijado y no puede ser cancelado por subsecuentes temperaturas altas (Naor et al., 2003). De cualquier manera, este modelo utilizado para predecir la salida de la dormición de yemas vegetativas de manzana en Israel resultó en una sobre-estimación del efecto del frío, es decir, ocurrió menor brotación que la predicha por el modelo (Naor et al., 2003).

El uso de modelos en base a promedio de temperaturas de diferentes días para estimar los requerimientos de frío y calor, ha demostrado la utilidad en predecir estados de desarrollo fenológico, como la fecha de floración (Alonso et al., 2005).

2.9.3 Caracterización del frío invernal en Uruguay

Los primeros intentos de regionalización del Uruguay en relación a la disponibilidad de frío invernal se registran en 1978 (URUGUAY. MDN. DNM, 1978), con una primera evaluación del método de Weimberger et al. Posteriormente, Talice et al. (1988), basándose en datos de temperatura de 8 estaciones meteorológicas ubicadas en diferentes departamentos, plantean una regionalización del país según el método de horas de frío y el método de Richardson et al. de UF. De la comparación entre estos dos modelos, los autores concluyen que sólo el método de unidades de frío establece diferencias significativas entre las distintas zonas del país, reflejando de mejor manera el comportamiento desigual a campo de las especies y variedades de frutales de hoja caduca cultivadas. Según este modelo, la disponibilidad de frío invernal en Uruguay varía de 1050 UF en el sur a 531 UF en el norte. No se registra ninguna investigación posterior en relación a este tema hasta el año 2003. Lorenzo et al. (2003) plantean una caracterización del requerimiento de frío de cuatro variedades de duraznero, comparando la brotación obtenida en brindillas en cámara de forzada y a campo, con el frío ocurrido evaluado por el método de UF. En relación a la caracterización del frío, las autoras concluyen que para las condiciones climáticas del país, caracterizadas por presentar temperaturas fluctuantes durante el invierno, el Método de UF podría no ser el mejor estimador del frío invernal. A su vez plantean que, si bien es necesario profundizar en el conocimiento de las necesidades de frío de los cultivares, se considera que sería más apropiada la realización de una caracterización de los mismos según sus requerimientos de frío, utilizando una terminología relativa (muy bajo, bajo, medio, alto y muy alto) en lugar de establecer valores numéricos concretos.

Por otro lado, La Dirección Nacional de Meteorología posee estudios de clasificación y caracterización del clima en Uruguay, gracias a las estadísticas climáticas obtenidas de 12 Estaciones Meteorológicas en todo el país. Utilizando dicha información, para un período de 1971 a 2000, se realizó una caracterización del invierno en Uruguay. Según dicho estudio la temperatura promedio durante el invierno es de 12°C, oscilando entre 13.6° C (Artigas) y 11.0° C (Carrasco). En otro estudio, considerando el período 1999 a 2008 inclusive, la temperatura media ascendió a 12.6°C, con un rango entre 14.3°C (Artigas) y 11.5°C (Carrasco), por lo tanto hay un aumento de 0.6°C respecto al período anterior. Las temperaturas mínimas medias para el período 1971 a 2000 son del orden de 7.3° C.

Más allá de estudios específicos, El INIA cuenta con una Unidad de Agro-clima y Sistemas de información (GRAS), encargada de la investigación y otras actividades relacionadas con el Clima y el Cambio Climático. Esta Unidad cuenta con información

meteorológica de 5 estaciones (La Estanzuela, Las Brujas, Treinta y Tres, Tacuarembó, Salto) con datos diarios desde 1970, las que utiliza para caracterizar el frío ocurrido mediante los modelos de horas y unidades de frío.

En el año 2008, Severino realiza una evaluación de 7 modelos diferentes para dos variedades de manzana con dos años de evaluación. En dicha evaluación utiliza por un lado el registro de temperaturas ocurridas durante la endodormición (determinada desde 50% de caída de hojas hasta 50% de brotación a los 21 días en cámara de forzada) y los porcentajes de brotación evaluados en ramas marcadas en el campo. Los diferentes modelos se comparan en función de: constancia en la cuantificación del período de endodormición de un cultivar en diferentes años, mantenimiento de las diferencias en la cuantificación entre cultivares para diferentes años y relación entre las cuantificaciones y la brotación en campo. En estos ensayos el modelo Dinámico presentó las menores variaciones en el requerimiento de frío para brotar (en promedio 8.9%) entre años para un cultivar; el modelo Utah, si bien no fue el modelo con mayor variabilidad dentro de los evaluados, presentó una diferencia promedio mayor (25%). Pero, por otro lado, fue el modelo que mostró menores diferencias al evaluar la variabilidad de la estimación del requerimiento entre cultivares (2.9%), siendo el dinámico el de mayores diferencias (10%). La autora concluye que si bien el modelo dinámico se muestra como promisorio, del análisis realizado no surge un modelo que resulte el más adecuado en función de todos los criterios de comparación utilizados. De cualquier manera, se confirma la falta de ajuste de los dos modelos más difundidos y utilizados en el país, horas de frío de Weimberger y unidades de frío de Richardson et al. (1974).

3 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 UBICACIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL DEL ENSAYO

El presente trabajo de investigación fue realizado durante el ciclo del cultivo en el período desde mayo de 2008 a febrero de 2009. Se desarrolló en un predio comercial de manzana a 10 kms desde el kilómetros 61 de la Ruta Nacional N°1 “Brig. Gral. Oribe”, sobre el camino a “Puntas de Valdez”, localidad de Kiyú, al sur-este del departamento de San José (Latitud: 34° 40' S, Longitud: 56° 45' O, altitud promedio: 25m).

3.2 CARACTERÍSTICAS DEL MATERIAL VEGETAL

Se utilizaron plantas de manzana (*Malus domestica* Borkh), cultivar “Brasil Gala”, (también identificado como Galaxy) sobre portainjerto Malling 9 (M9), de 3 años de edad, conducidos en sistema eje central y plantados en alta densidad (1.2m x 4.0m).

Según Lorimer y Hill (2006) el requerimiento de frío para la variedad “Royal Gala”, representativa de todo el grupo Gala, es de 300-400 unidades de frío.

3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar, con 3 repeticiones, donde cada unidad experimental estaba constituida por 2 árboles. Los tratamientos consistieron en la aplicación de 2 productos compensadores de frío en 3 fechas diferentes y otros 3 productos aplicados en 2 de estas fechas, más un testigo sin aplicación.

Cuadro 1: Características de los productos compensadores de frío utilizados

Producto	Nombre comercial	Dosis (/100 lts)	Coadyuvante
Cianamida hidrogenada	Dormex®	1.3 lts	Aceite al 0,5%
Aceite mineral	Sunspray 9	3 lts	-
Nitrato de potasio	Nipofol	10 kg	Aceite al 0,5%
Nitrato de calcio	Nitrato de calcio	10 kg	Aceite al 0,5%
Erger G® + Nitrato de calcio	(no registrado) Nitrato de calcio	1.5 lts 3 kg	-

Las fechas de aplicación se determinaron dentro del período de endodormición de las plantas, considerando la evaluación de la acumulación del frío ocurrido explicada más adelante. Las fechas fueron:

Cuadro 2: Fechas de las aplicaciones

Momento	Fecha	Días previo al inicio de la brotación en los árboles testigo
Momento 1	17 julio 2008	64
Momento 2	7 agosto 2008	43
Momento 3	30 agosto 2008	20

Cuadro 3: Tratamientos realizados

Producto	Aplicaciones		
	Momento 1	Momento 2	Momento 3
Cianamida hidrogenada	X	X	X
Aceite mineral	X	X	
Nitrato de potasio	X	X	
Nitrato de Calcio	X	X	
Erger G® + Nitrato de Calcio	X	X	X

Todas las aplicaciones fueron realizadas con mochila hasta punto de goteo, el gasto promedio fue de 1300 lts/há.

El manejo general de las plantas del ensayo fue establecido según los criterios utilizados en la quinta, con excepción de la aplicación de productos que pudieran interferir con los tratamientos, como es la aplicación de aceite mineral como insecticida durante el mes de agosto.

3.4 VARIABLES EVALUADAS

3.4.1 Acumulación del frío

La cuantificación del frío ocurrido se realizó mediante el modelo de unidades de frío o Utah y modelo dinámico. Para ello, se estableció el inicio del conteo en el estado de 50% de hojas caída (Peerebom y Yuri, 2004), determinado mediante apreciación visual. Las mediciones de temperatura fueron realizadas con 3 registradores de temperatura (Kooltrack®, tipo *standar temperature logger unmounted*) distribuidos al azar dentro del ensayo, colocados en los árboles, sobre el eje central, a 1,5 m de altura aproximadamente, con mediciones a intervalos de una hora.

Por otro lado, para determinar el fin de la endodormición, se colectaron ramas de 1 año (brindillas) y se colocaron en bandejas con 1cm de agua, dentro de cámara de forzada (21°C +/- 2°C, 16 hs fotoperíodo). Se cambió el agua y se cortó la base de las ramitas cada 3 días. Se determinó el número de yemas brotadas 2 veces por semana, considerándose brotada a partir del estado 3 (punta verde) en la escala de Chapman y Catlin (1976), (ver anexos).

La profundidad de la dormición fue evaluada mediante dos métodos diferentes, de manera de poder compararlos. Por un lado se considera el porcentaje de brotación, tomando como referencia el porcentaje de brotación de las brindillas alcanzado a las 3 semanas de la extracción y colocación de las mismas en la cámara de forzada. Se comparan los diferentes momentos de extracción en función del porcentaje de brotación alcanzado en dicho intervalo de tiempo. Se considera superada la dormición cuando el valor supera el 50% de yemas brotadas (Dennis, 2003). Por otro lado se considera la velocidad de brotación, calculada como: 1/ (días hasta 30% brotación yemas terminales), tomaron el valor arbitrario de 0.1 (es decir 30 % de brotación dentro de los 10 días) para realizar comparaciones (Saure 1985, Halgryn et al. 2001).

3.4.2 En brotación

De cada árbol se seleccionó una rama representativa, de similares dimensiones y vigor en todos los árboles, determinándose ubicación y estado fenológico de todas las yemas presentes en la misma. Se realizaron evaluaciones semanales desde el inicio de la brotación hasta que la misma llegó al máximo, totalizando 6 evaluaciones, en las fechas: 4/9, 12/9, 19/9, 26/9, 3/10 y 17/10. De cada yema evaluada se determinó: edad de la rama en la que se encontraba, tipo de estructura (brindilla, spur vegetativo o dardo, spur reproductivo o lamburda, yema adventicia), y posición dentro de la brindilla (terminal o lateral) si correspondía. El estado fenológico de las yemas reproductivas fue determinado según la escala de Chapman y Catlin (1976) (ver anexos). Para las yemas vegetativas se realizó la siguiente modificación de dicha escala:

- 1 – Yema dormida (ídem escala de Chapman y Catlin)
- 2 – Punta plateada (ídem escala Chapman y Catlin)
- 3 – Punta verde (ídem escala de Chapman y Catlin)
- 4 – De 1 a 3 hojas completamente expandidas.
- 5 – Más de 3 hojas completamente expandidas.
- 6 – Brote completamente formado.

A partir de los datos obtenidos se calculó:

- porcentaje de brotación total [(número de yemas brotadas/número de yemas totales)*100]. Como se explicará más adelante, el análisis fue realizado para los efectos principales (producto y fecha).
- porcentaje de brotación de las yemas según edad de la rama en la que se encontraban. Se identificaron 3 categorías: yemas ubicadas en ramas de un año de edad (brindillas), yemas en ramas de 2 años y yemas en ramas de 3 y más años de edad.
- porcentaje de brotación de la yema según estructura a la que corresponde. Las estructuras consideradas fueron mencionadas anteriormente.

3.4.3 En cosecha

Se determinaron dos fechas de cosecha. La primera cosecha fue realizada el 03/02/2009, cosechándose los frutos según el criterio manejado en la quinta. En la segunda fecha de cosecha, realizada el 12/02/2009, se sacaron todos los frutos que quedaban en el árbol.

En ambas instancias se contaron el total de frutos extraídos en cada unidad experimental, muestreándose a su vez en las mismas 15 frutos tomados al azar, es decir 30 frutos por repetición. A cada fruto se le realizaron mediciones de: peso (balanza Ohaus LS 2000), presión de pulpa (penetrómetro Mc Cormick FT327, puntero 11mm, con tres medidas por fruto en la zona ecuatorial), contenido de sólidos solubles totales (refractómetro Atago ATC-1E) y test de yodo (ver anexos). Además se calculó la proporción de fruta extraída en primera cosecha.

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se establecieron dos análisis factoriales, cuyos efectos principales son momento y producto, pero con diferentes niveles. Un primer factorial con los cinco productos antes mencionados y las primeras dos fechas de aplicación, 17 julio y 7 agosto (factorial 2 x 5). El otro análisis factorial sólo incluye como productos a la cianamida y el Erger® en las tres fechas de aplicación (factorial 3 x 2). A su vez, todos los tratamientos fueron comparados conjuntamente y con el testigo mediante.

Todas las variables fueron analizadas con el programa estadístico SAS (SAS Sistem 9.0) con diferentes procedimientos (genmod, mixed) según la variable analizada, con una probabilidad de cometer error de tipo I de 0.05 en todas las variables. Las variables

con distribución normal (peso de fruta, sólidos solubles totales, presión de pulpa), fueron analizadas con el modelo lineal general, mediante análisis de la varianza y comparaciones de medias con test de Tukey, utilizando el procedimiento Mixed. La variable índice de almidón fue analizada mediante el procedimiento Catmod. Las variables discretas (proporciones con distribución binomial) como son la brotación en campo y la brotación en cámara de forzada son analizadas mediante el modelo lineal generalizado, utilizando el procedimiento estadístico Genmod.

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 ACUMULACION DE FRIO

El inicio de la acumulación, como ya se mencionó, se determinó a partir del 50% de hoja caída lo cual se registró el **27 de mayo**.

Según los datos obtenidos en la cámara de forzadura (figura 1), el porcentaje de brotación va aumentando gradualmente a medida que avanza el invierno, en la medida que la acumulación de frío va removiendo el bloqueo fisiológico del crecimiento de la yema (Dennis, 2003) y la endodormición va haciéndose menos profunda (Saure, 1985).

En la bibliografía, es ampliamente utilizado el criterio basado en el porcentaje de brotación dentro de un intervalo de tiempo fijo (Dennis, 2003). Considerando este criterio, explicado en el capítulo 3, la endodormición se encontraría superada el **16 de setiembre**.

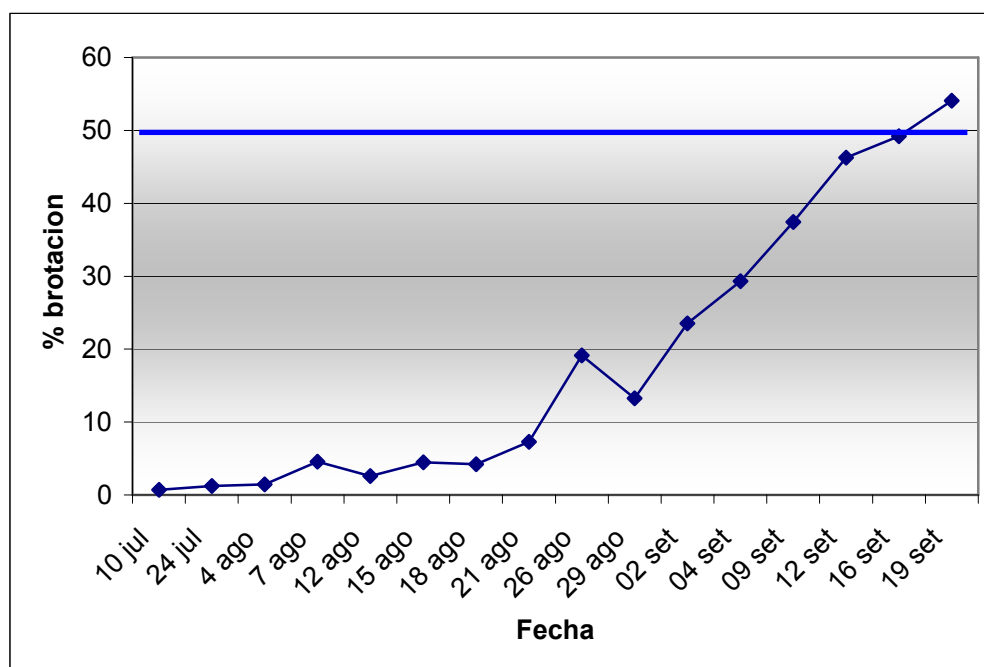


Figura 1: Porcentaje de brotación en cámara según fecha de extracción

Por otro lado, según Saure (1985) y como lo comprueban Halgryn et al. (2001), la velocidad de brotación es un mejor indicador de la profundidad de la dormición. Éstos últimos concluyen que la velocidad de brotación consistentemente se corresponde con la acumulación de frío más que el porcentaje de brotación, tanto total como de las yemas

terminales. Estos autores trabajan con un valor arbitrario de velocidad de brotación igual o mayor a 0.1 como indicador del fin de endodormición. Como se observa en el cuadro 4, según este criterio, el fin de dormición sería el **9 de setiembre**, 7 días antes que con el criterio anterior.

Cuadro 4: Velocidad de brotación (1/días) según fecha de extracción

Fecha	Velocidad de brotación	Fecha	Velocidad de brotación
10 jul	*	26 ago	0,063
24 jul	*	29 ago	0,056
04 ago	*	02 set	0,077
07 ago	0,1	04 set	0,038
12 ago	0,042	09 set	0,111
15 ago	0,048	12 set	0,125
18 ago	*	16 set	0,143
21 ago	*	19 set	0,143

* Fechas en las que nunca se alcanza el 30% de brotación

En función de ambos criterios, se presenta la acumulación de frío ocurrida en las diferentes fechas de aplicación de los productos y la ocurrida hasta la finalización de la endodormición.

Cuadro 5: Unidades de frío acumuladas considerando velocidad de brotación

	Periodo	Modelo Utah		Modelo Dinámico *10	
		Unidades de frío	% del req	Unidades de frío	% del req
Primera aplicación	27 may – 17jul	358	45,7	249	48,5
Segunda aplicación	27 may – 7 ago	616	78,7	387	75,4
Tercera aplicación	27 may – 30 ago	705	90,0	473	92,2
Fin de endodormición	27 may – 09 set	783		513	

Cuadro 6: Unidades de frío acumuladas considerando porcentaje de brotación

	Periodo	Modelo Utah		Modelo Dinámico *10	
		Unidades de frío	% del req	Unidades de frío	% del req
Primera aplicación	27 may – 17jul	358	43,0	249	46,3
Segunda aplicación	27 may – 7 ago	616	73,9	387	71,9
Tercera aplicación	27 may – 30 ago	705	84,6	473	87,9
Fin de endodormición	27 may – 16 set	833		538	

La cuantificación del requerimiento de frío del año del estudio es ampliamente influenciada por el modelo utilizado. Considerando el modelo Utah, Lorimer y Hill (2006) plantean que los requerimientos para la variedad utilizada son de 300-400 UF, calculadas en el Estado de Victoria (Australia) y con datos de temperatura obtenidos en casilla meteorológica. El requerimiento de frío calculado en el presente ensayo también difiere de valores obtenidos en ensayos nacionales similares. Manzi (2007) determina un requerimiento de frío con este modelo de 481 UF, calculado para una variedad de similares requerimientos de frío, en condiciones similares a las del presente ensayo y con datos de temperatura también registrados a nivel de los árboles. Shaltouth y Unrath (1983) concluyen que este modelo no ajusta bien en regiones con inviernos benignos, condiciones diferentes a donde fue desarrollado. A su vez, Manzi (2007) también calcula el requerimiento de frío para el mismo período pero con datos obtenidos de casilla meteorológica (792 UF), y también difiere ampliamente del presentado por Lorimer y Hill (2006). Esto confirma los ensayos realizados por Severino (2008) donde el modelo Utah, si bien no fue el modelo con mayor variabilidad entre años para una misma variedad dentro de los evaluados, presentó una diferencia promedio alta (25%), mayor que el modelo dinámico. Por otro lado, confirma la poca utilidad de dicho modelo para realizar predicciones.

Los dos modelos de cálculo utilizados muestran diferencias en los valores absolutos de unidades de frío acumuladas, pero no en el porcentaje acumulado en cada fecha en relación al requerimiento de frío, tanto si se toma como criterio para el fin de la dormición el porcentaje como la velocidad de brotación.

La figura 2 muestra la evolución de la acumulación de unidades de frío por hora según ambos modelos desde el inicio hasta el fin de la endodormición, calculados a partir de los datos de temperatura de los 3 sensores colocados sobre los árboles. Complementando esta información, en la figura 3 se presenta la evolución de la temperatura media decádica desde caída de hojas hasta fin de la endodormición. Los valores de temperatura históricos (mediana, superior e inferior) y del año en estudio fueron obtenidos en la estación meteorológica de INIA más cercana al predio (Estación Experimental de Las Brujas). Se incluye en esta gráfica la temperatura promedio medida en el predio para el año del estudio presentada en forma decádica, como promedio de los 3 sensores.

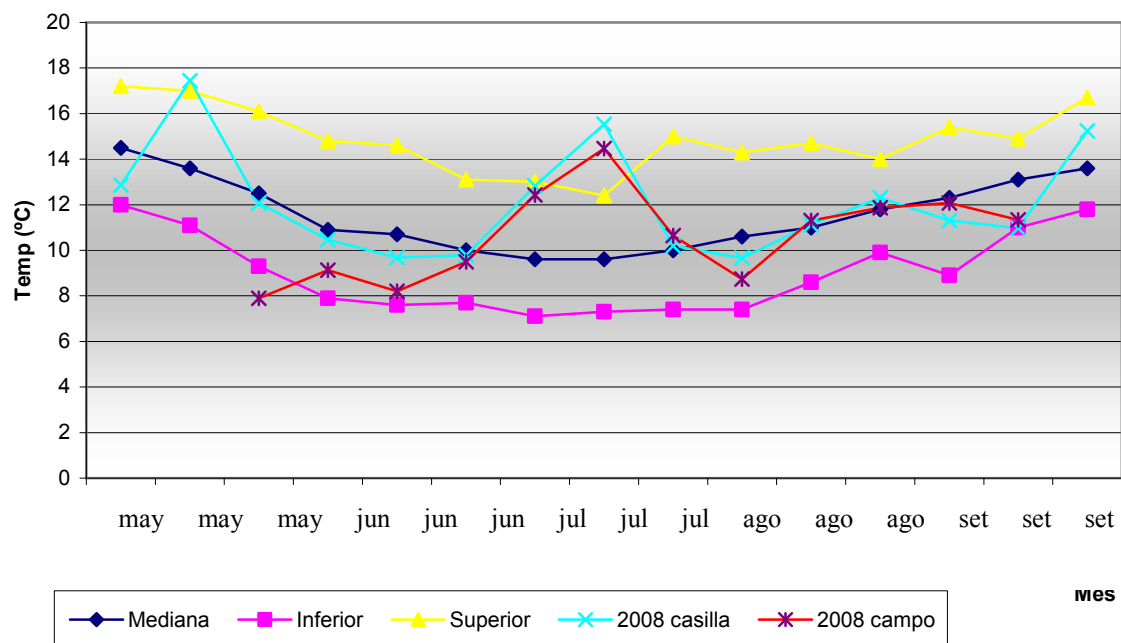
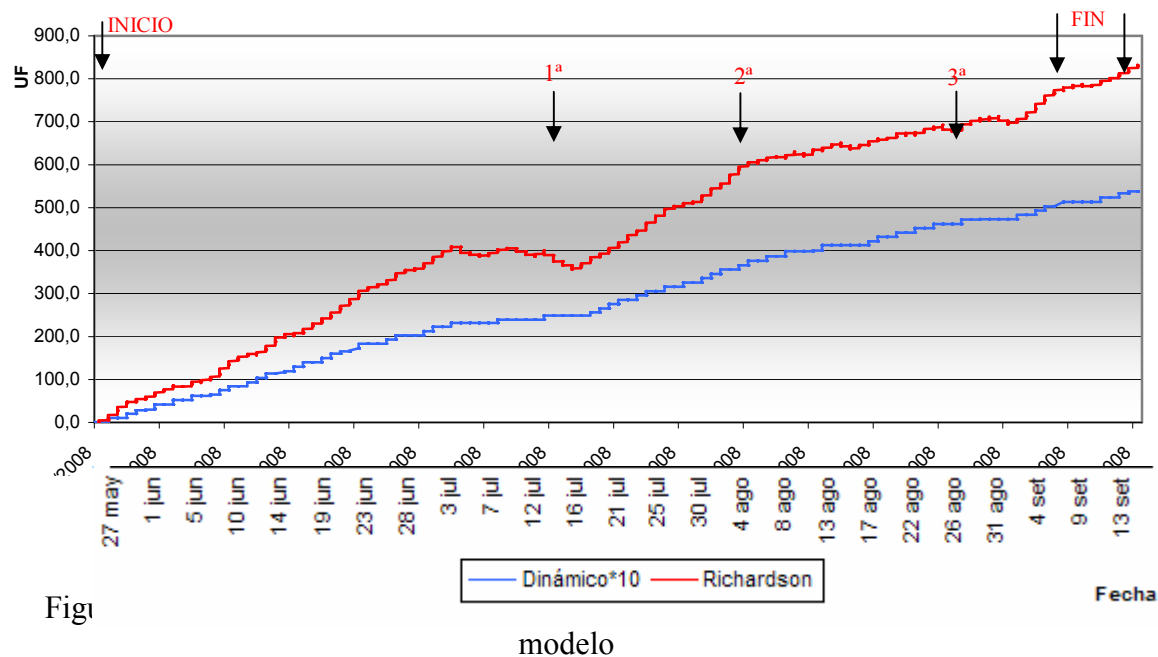


Figura 3: Temperatura media por fecha según datos de casilla de la Estación meteorológica Las Brujas (mediana, superior, inferior y 2008) y datos de campo.

Para iguales temperaturas, el modelo de Richardson siempre asigna un mayor valor de unidad de frío, siendo el principal determinante de las diferencias en los valores absolutos de acumulación entre ambos modelos. Durante el fin de mayo y junio la temperatura en el predio es similar a la media histórica (figura 3), y se mantiene en valores cercanos a los 8.5°C y 9°C, es decir dentro del rango de temperaturas más eficientes según el modelo de Richardson. Esto determina que en poco más de un mes, se acumule la mitad de los requerimientos según dicho modelo. En el modelo dinámico, en el mismo período, se acumula el 40% de los requerimientos. Es de destacar, que diversos autores plantean que el modelo de Utah no predice con precisión la terminación de la dormición y brotación de manzano en climas cálidos y templados (Shaltout y Unrath 1983, Naor et al. 2003).

En el año en estudio, sólo el modelo Utah sufre desacumulación del frío, aunque en dichos períodos el modelo dinámico no acumula. Como se observa en la figura 3, la temperatura registrada en el campo presenta valores menores que la temperatura media histórica (casilla), excepto ciertos momentos en los que la temperatura en campo aumenta muy por encima, llegando incluso a sobrepasar los valores superiores históricos. Estos picos también ocurren en los datos de casilla para el año en estudio. En el modelo dinámico las unidades de frío son acumuladas en cuotas, y una vez que una cuota se completa su efecto es fijado y no puede ser cancelado por subsecuentes temperaturas altas (Naor et al., 2003). El modelo Utah no es adecuado para calcular el frío en climas mediana o altamente variables (Shaltout y Unrath, 1983), considerando tanto las temperaturas durante el invierno como las diferencias entre años. En el presente año, ocurre durante el invierno una evolución atípica de la temperatura, considerando los valores históricos, por lo que sería esperable que dicho modelo no ajustara con precisión. Como se mencionó en el capítulo 2.9.3, en evaluaciones sobre el ajuste en las condiciones de Uruguay de ambos modelos, si bien el modelo dinámico se muestra como promisorio, de los ensayos realizados no surge un modelo que resulte el más adecuado, en función de todos los criterios de comparación que fueron utilizados (Severino, 2008). De cualquier manera, se confirma la falta de ajuste de los dos modelos más difundidos y utilizados en el país, el de horas de frío de Weimberger y unidades de frío de Richardson (Severino, 2008). Escapa a los objetivos del presente estudio una comparación del ajuste entre los modelos, por lo que en el análisis se considerará en mayor medida el porcentaje del requerimiento satisfecho más que el valor absoluto, dado que es similar en ambos modelos.

Evaluando los criterios utilizados para definir fin de dormición, la diferencia cronológica de 7 días en las fechas de fin de dormición no plantea grandes diferencias en relación a las unidades de frío acumuladas por el modelo dinámico. Pero si se considera al modelo de Richardson, se aprecia que en la etapa final se continúa la acumulación de frío, por lo que esos 7 días marcan una diferencia de 50 unidades de frío, que en años particulares pueden resultar significativas.

4.2 BROTACIÓN

4.2.1 Porcentaje de brotación total

Cuadro 7: Significancia de los tratamientos por fecha

	04-set	12-set	19-set	26-set	03-oct	17-oct
Tratamiento	-	-	<.0001	0.0107	0.4221 *	0.9034 *

- = el modelo no converge

* = no significativo (p=0.05)

Cuadro 8: Tratamientos diferentes estadísticamente del testigo

Tratamiento		19 set	26 set
Producto	Fecha		
Aceite	1		
Aceite	2		
CH	1	* 0,0049	
CH	2	* 0,0253	
CH	3		
ErgerG®	1	* 0,004	
ErgerG®	2	* <.0001	* 0,0122
ErgerG®	3		* 0,0037
Nit- ca	1		
Nit- ca	2		
Nit-k	1		
Nit-k	2		

CH: Cianamida hidrogenada, Nit-ca: nitrato de calcio, Nit-k: nitrato de potasio.

* = tratamiento estadísticamente diferente

Algunos tratamientos no se diferencian nunca del testigo, sólo tratamientos con ErgerG®+nitrato de calcio y cianamida hidrogenada logran diferenciarse en alguna fecha del testigo.

Cuadro 9: Significancia de los efectos principales y la interacción para el factorial 3 x 2

Efecto	Probabilidad
Momento	0,152
Producto	0,521
Momento * Producto	0,252

Cuadro 10: Significancia de los efectos principales y la interacción para el factorial 2 x 5

Efecto	Probabilidad
Momento	0,7977
Producto	0,8888
Momento * Producto	0,8153

Dado los resultados mostrados en los cuadros anteriores, no es posible establecer que exista interacción producto x momento. Por lo tanto, estadísticamente es posible analizar los efectos principales por separado, es decir el efecto momento de aplicación y el efecto producto aplicado.

Cuadro 11: Significancia por fecha de evaluación

	04-set	12-set	19-set	26-set	03-oct	17-oct
Momento	<.0001	<.0001	<.0001	0.0088	0.0246	ns
Producto	<.0001	<.0001	<.0001	0.0013	ns	ns
Momento * Producto	ns	ns	ns	ns	ns	ns

ns= no significativo (p=0.05)

En la fecha 17 octubre, cuando ya no se presentaban nuevas brotaciones, se evaluó la brotación final, determinándose los porcentajes finales de brotación.

4.2.1.1 Efecto del momento de aplicación

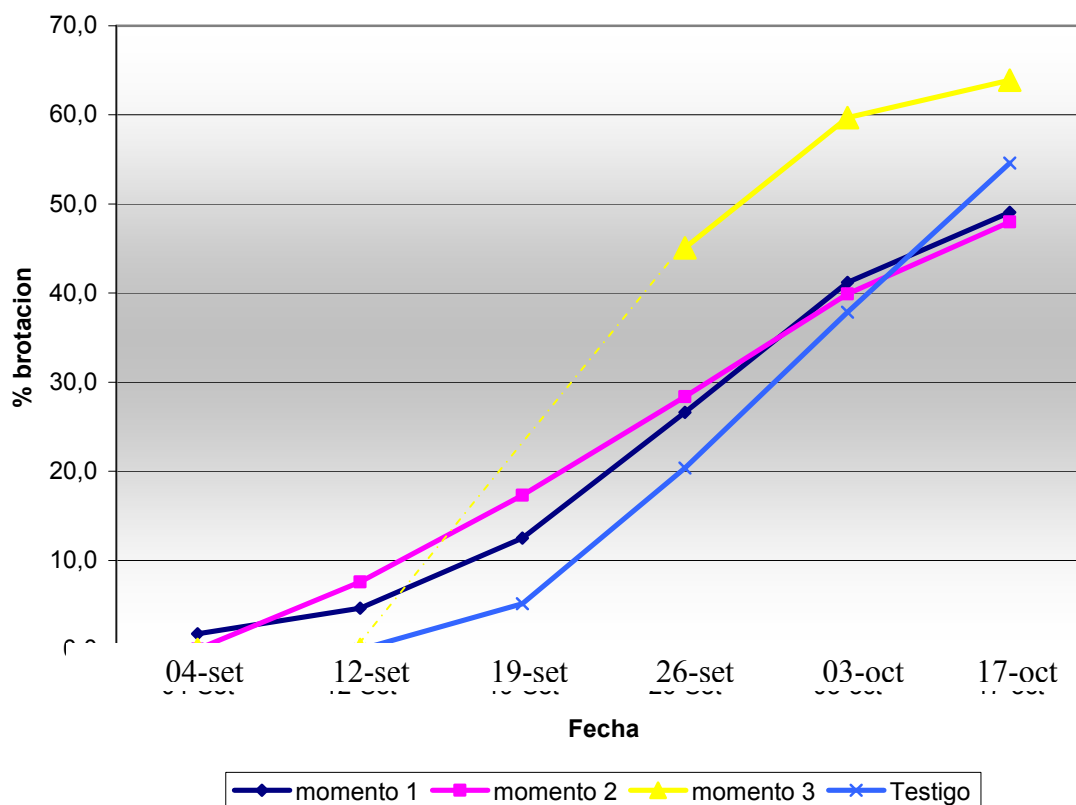


Figura 4: Porcentaje de brotación por fecha según momento de aplicación

Cuadro 12: Porcentaje de brotación por fecha según momento de aplicación

	04-set		12-set		19-set		26-set		03-oct		17-oct	
Momento 1	1,8	a	4,6	b	12,5	b	26,6	b	41,2	b	49,1	a
Momento 2	0,0	b	7,6	a	17,3	a	28,4	b	39,9	b	48,0	a
Momento 3	0,0	b	0,0	c	S/d		45,1	a	59,7	a	63,9	a

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas (0,05)

Como se determinó en el capítulo anterior, todos los momentos de aplicación de productos ocurren dentro del período de endodormición. Las diferencias en la brotación entre los momentos de aplicación estarían relacionadas a las diferencias en la profundidad de la dormición. Ésta varía a lo largo del tiempo, a medida que el frío remueve las causas primarias de la endodormición (Faust et al., 1997). El nivel de estrés efectivo para provocar la salida de la dormición es dependiente de la etapa de desarrollo

en que se encuentren las yemas, siendo únicamente efectivo durante la fase superficial de la endodormición, cuando el levantamiento natural de la endodormición ha alcanzado una etapa avanzada (Saure 1985, Fuchigami y Nee 1987). Los datos obtenidos en este ensayo confirman estas diferencias. En figura 4 y cuadro 12 se presentan los porcentajes totales de brotación alcanzados en cada fecha de evaluación según el momento de aplicación de los productos. Los momentos de aplicación 1 y 2 (17 de julio y 7 de agosto respectivamente) inician antes la brotación, siendo diferentes entre sí sólo las primeras 3 fechas, donde a su vez, a partir de la segunda fecha de muestreo el momento 2 supera al momento 1 en porcentaje de brotación. La evolución de la brotación en ambos momentos es similar, alcanzando valores estadísticamente iguales a partir del 26 de setiembre hasta la brotación final.

El porcentaje de brotación de los árboles tratados en el momento 3 tiene una evolución completamente distinta. Debido a la falta de datos en la fecha 19-set se presenta una línea hipotética entre el 12 y el 26 de setiembre. La brotación claramente se inicia más tarde en dichos árboles, pero alcanza e incluso supera rápidamente los valores de brotación de los restantes momentos de aplicación. La brotación final es estadísticamente igual para todos.

Este comportamiento es señalado claramente en la bibliografía, destacando que las aplicaciones tempranas de productos compensadores de frío provocan un adelanto importante en la brotación (Erez 1987b, Subhadra Bandhu 1995a, Erez 2000, Epagri 2006, Herter et al. 2006, Manzi 2007, Severino 2008). En ensayos de Herter et al. (2006) en duraznero, aplicaciones tempranas (75 días previos a floración) de cianamida alcanzan un adelantamiento de 39 días respecto al testigo, y este adelantamiento se reduce a 32 días con la siguiente fecha (64 días previos a floración). Manzi (2007) en manzano, con aplicaciones tanto de cianamida como de aceite mineral, encuentra un adelantamiento de todos los tratamientos frente al testigo, pero los tratamientos más tempranos logran el mayor adelanto, alcanzando el 30 % de brotación 13 días antes que el testigo. Resultados similares son registrados por diversos autores (Subhadra Bandhu 1995a, Epagri 2006). Por otro lado, los mayores porcentajes de brotación en las fechas finales de evaluación siempre se obtienen con productos aplicados tardíamente (Díaz, citado por Quintana 2006, Manzi 2007, Severino 2008).

Cuadro 13: Fecha en que los tratamientos alcanzan el 20%, 40% y 60% de brotación

Producto - Momento		19 set			26 set			03 oct			17 oct		
		20%	40%	60%	20%	40%	60%	20%	40%	60%	20%	40%	60%
CH	1	*				*				*			*
ErgerG®	1	*				*			*				*
CH	2	*				*			*				*
ErgerG®	2		*			*				*			*
CH	3	-	-	-		*				*			*
ErgerG®	3	-	-	-		*				*			*
Nit-ca	1				*				*				*
Nit-ca	2				*				*				*
Aceite	1				*				*				*
Aceite	2				*				*				*
Nit-k	1				*				*				*
Nit-k	2					*			*				*
Testigo					*				*				*

CH: Cianamida hidrogenada, Nit-ca: nitrato de calcio, Nit-k: nitrato de potasio.

- : sin datos.

El cuadro 13 presenta más claramente los efectos planteados anteriormente en la brotación. En este cuadro se muestran todos los tratamientos en las diferentes fechas de evaluación, y se marca con un asterisco la fecha en la cual alcanzan el 20%, 40% o el 60% de brotación total (se considera el valor mayor alcanzado).

Considerando un 20% de brotación, sólo productos aplicados en los momentos 1 y 2 (cianamida y ErgerG®+nit ca) logran adelantar en relación al testigo y también respecto al momento 3, siendo el adelanto en ambos casos de 7 días. Para que los productos compensadores de frío ejerzan el efecto buscado, las yemas deben ser receptivas a la aplicación de los mismos (Quintana, 2006), las membranas celulares deben estar receptivas a la presencia de hormonas exógenas, lo que ocurre una vez que la permeabilidad de las membranas y la comunicación entre la yema y los tejidos subyacentes se ha establecido por acción del frío. Es decir, durante el último estadio de la endodormición y durante el período de ecodormición (Llamas, citado por Quintana, 2006). En los momentos 1 y 2 algunas yemas ya se encontraban receptivas a los productos (las únicas en las que el producto influye directamente en su brotación), lo que permitió el efecto de adelantar la brotación en dichas aplicaciones. En este ensayo, este efecto es detectado sólo para algunos productos.

Considerando un 40% de brotación, estos productos aplicados en el momento 2 ya no se diferencian de las aplicaciones de los mismos productos en el momento 3, las que adelantan la brotación otros 7 días en relación al testigo (se suma también el tratamiento de nitrato de potasio en el segundo momento). Es decir que ya el 26 de setiembre el momento 3 iguala a los restantes momentos, para los productos ErgerG®+nit ca y cianamida, llegando incluso al 60% de brotación antes que el testigo, pero junto con los tratamientos de cianamida-momento 1 y de ErgerG®+nit ca-momento 2. Por lo tanto, la velocidad a la que ocurre la brotación es mayor en árboles tratados en el momento 3. En las aplicaciones tardías hay un menor efecto compensador, dado que el frío acumulado al momento de la aplicación es mayor, pero hay un mayor número de yemas que se encuentran en estado receptivo (Llamas, citado por Quintana, 2006), en las que el producto puede ejercer su efecto, y que por lo tanto son estimuladas a brotar.

Subhadrabandhu (1995a), encontró que la brotación en manzanos es aumentada significativamente por efecto de la cianamida hidrogenada (2.5%), aplicada tardíamente, mientras que, con aplicaciones más tempranas (en un estado de dormición más profunda y con los requerimientos de frío poco satisfechos), si bien aumentó el porcentaje de brotación respecto a las plantas no tratadas, éste fue menor que el porcentaje alcanzado en aplicaciones más tardías. Concluye que para alcanzar los mejores resultados en la brotación, las aplicaciones de cianamida hidrogenada deben efectuarse cuando las yemas están saliendo de la dormición. Aplicaciones de cianamida hidrogenada demasiado tempranas, son señaladas por Erez (1995), que aunque pueden inducir la brotación, su baja eficiencia no compensa más del 30% del frío total requerido. En este ensayo, los momentos 1 y 2 logran un adelanto similar (sólo considerando ErgerG®+nit ca y cianamida) a pesar de la diferencia en 30% en la acumulación de frío entre esas fechas (ver cuadro 5 y 6). A su vez, es de destacar que en el momento 1 no se llegaban a cubrir el 50% de los requerimientos. Ambas fechas obtienen menores porcentajes de brotación que las aplicaciones en el momento 3, coincidiendo con lo planteado por Erez (1995) y mencionado más arriba.

Al momento de la tercer aplicación, el 90% de los requerimientos estaban satisfechos, por lo cual, el frío había provocado la mayoría de los cambios necesarios para eliminar la endodormición, y dada la población de yemas, muchas se encontraban ya en ecodormición. De cualquier manera, para ErgerG®+ nit ca y cianamida, las aplicaciones logran adelantar la brotación respecto al testigo, considerando 40% de brotación, y aumentarla en relación a todos los tratamientos y al testigo, considerando 60% de brotación. Esto marca claramente una concentración de la brotación en los productos con mayor efecto aplicados en el momento 3. Las aplicaciones más tardías, cuando las yemas han acumulado más tiempo a bajas temperaturas y por lo tanto están más receptivas a las aplicaciones (Erez, 1987b), tienen fuerte impacto en aumentar la brotación y uniformizarla (Díaz, citado por Quintana, 2006), lo que resulta en una concentración de la misma.

Dado que la yema apical tiene menores requerimientos de frío que las laterales (Saure 1985, Erez 1987b, Faust et al. 1995), en los primeros momentos de aplicación las yemas apicales se encontrarían más receptivas que las laterales a la acción de los productos, estimulándose más su brotación (Erez, 1987b). Como consecuencia de ello, debido a la dominancia apical, las yemas laterales ven aumentada su paradormición en estas aplicaciones más tempranas (Erez, 1987b). En las aplicaciones tardías, más yemas laterales se encontraban receptivas a la aplicación del producto, por efecto del frío natural, y ven estimulada su brotación al mismo tiempo que las yemas apicales. Esto explica que la brotación en la aplicación más tardía rápidamente iguale a la brotación en los momentos más tempranos. La brotación ocurre a mayor velocidad, por lo tanto más concentrada.

Ninguna de las aplicaciones de compensadores aumenta la brotación final respecto al testigo, por lo que si sólo se considera el porcentaje de brotación, el frío ocurrido naturalmente podría haber sido suficiente para una correcta salida de la endodormición.

Aplicaciones muy anticipadas a la fecha de brotación normal, pueden tener efecto en adelantarla sin afectar la cantidad, mientras que aspersiones intermedias o cercanas a la brotación, tendrán un efecto mayor hacia la concentración y cantidad de yemas abiertas (Díaz, citado por Quintana, 2006). Los datos obtenidos en el presente ensayo lo confirman, y a su vez plantean claramente la existencia de un efecto “forzador” de la brotación y un efecto “normalizador”, según el momento de aplicación (Díaz, citado por Quintana 2006, Epagri 2006, Manzi 2007).

Si bien hay diferencias en el porcentaje de brotación entre los momentos 1 y 2, estas diferencias menores que las diferencias de ambos con el momento más tardío. Pero si se observa la acumulación de frío en cada fecha, en realidad los valores son más similares entre los momentos 2 y 3, que entre los momentos 1 y 2. Esto coincide con lo planteado en la bibliografía en relación a un valor de acumulación mínimo, por debajo del cual los productos no son efectivos (Faust et al., 1997), y por encima del cual los productos provocan mayores porcentajes de brotación a medida que se acumula más frío (Herter et al. 2006, Manzi 2007, Severino 2008).

El momento en el cual se inicia la brotación tiene impacto económico, ya que existen ventajas económicas por fruta temprana en el mercado (Erez, 1995). Pero a su vez, una floración prolongada hace difícil para los productores determinar el momento óptimo de diferentes prácticas, como por ejemplo raleo de flores y frutos. También conduce a una maduración mezclada de la fruta en la cosecha, necesitando múltiples cosechas, con el fin de alcanzar un grado de madurez uniforme en las líneas de fruta destinada a los mercados de exportación (McArtney et al., 2004). Por lo tanto, teniendo en cuenta las consecuencias que tiene cada momento de aplicación sobre las características de la brotación, la decisión del momento óptimo para realizar la práctica dependerá de los objetivos particulares de cada explotación.

4.2.1.2 Efecto del producto aplicado

Según el cuadro 8, en el presente ensayo sólo ErgerG®+nit ca y cianamida hidrogenada logran diferenciarse estadísticamente en alguna fecha del testigo.

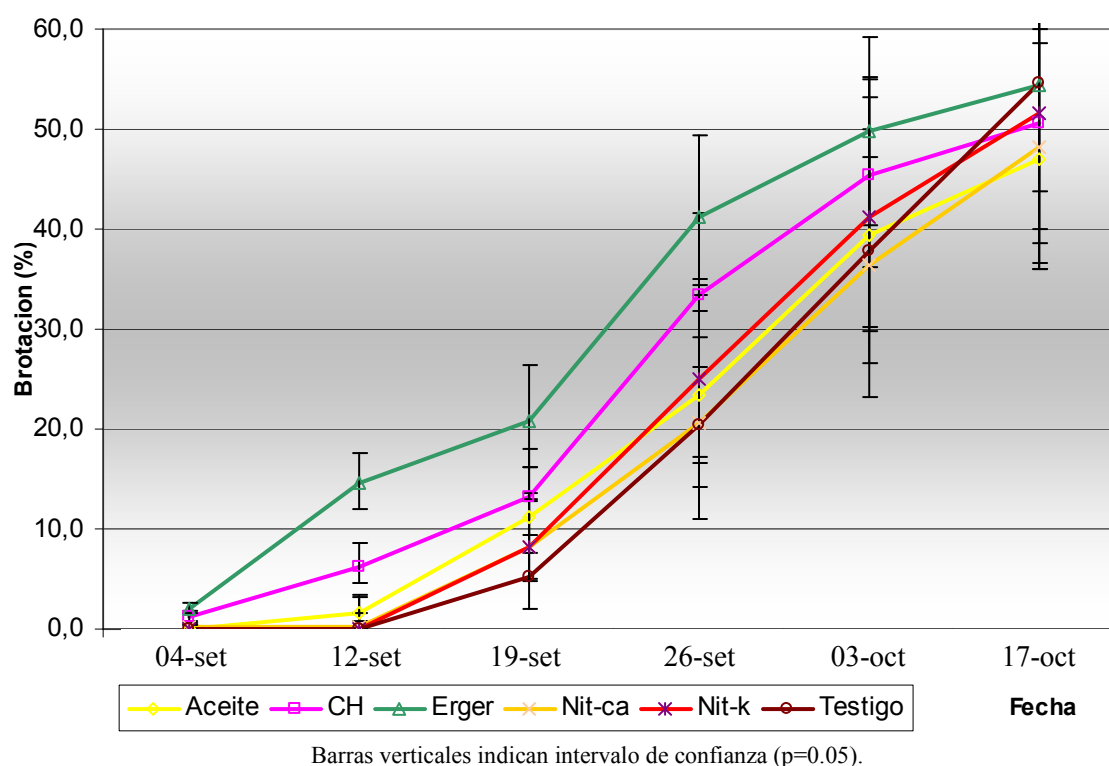


Figura 5: Porcentaje de brotación por fecha de evaluación según producto

Cuadro 14: Porcentaje de brotación por fecha de evaluación según producto

Producto	04-set	12-set	19-set	26-set	03-oct	17-oct
Aceite	0,1 c	1,7 c	11,2 b	23,3 bc	39,5 a	47,1 a
CH	1,3 b	6,3 b	13,2 b	33,4 ab	45,5 a	50,5 a
ErgerG®	2,0 a	14,6 a	20,9 a	41,1 a	49,9 a	54,3 a
Nit-ca	0,2 c	0,2 c	8,1 b	20,7 c	36,3 a	48,2 a
Nit-k	0,1 c	0,1 c	8,2 b	25,1 bc	41,2 a	51,6 a

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas (p=0,05)

CH: Cianamida hidrogenada, Nit-ca: nitrato de calcio, Nit-k: nitrato de potasio, Erger G®: Erger G®+nit-ca.

En el cuadro y figura anteriores se muestra la variación del porcentaje de brotación total según el producto utilizado.

Solamente durante el mes de setiembre hay diferencias en el porcentaje de brotación alcanzado entre los diferentes principios activos utilizados. Dentro de este período, los máximos porcentajes de brotación siempre son alcanzados por el producto Erger®+nitrato de calcio, en promedio 6% superiores a la cianamida y 13% superiores al testigo. En las fechas en que hay diferencias, el ErgerG®+ nit ca es el único producto que alcanza diferencias significativas con el resto de productos (excepto el 26 de setiembre) y con el testigo. La cianamida en cambio logra aumentar, en promedio, 7% la brotación en relación al testigo, y se diferencia de los tratamientos de aceite y de ambos nitratos, que obtienen valores similares al testigo.

Según Erez (1987b) a pesar de que los principios activos son diferentes, la característica que unifica a todos los productos compensadores de frío (o promotores de la brotación) es que a determinada dosis provocan un estrés subletal, que dispara en las yemas reacciones que conducen a la liberación de los factores que ejercen dormición.

El nitrato de potasio es un agente de ruptura suave o leve (Erez, 1987b). En general en la bibliografía no se evalúa el efecto de este químico aislado, sino en mezclas con aceites, pero en aquellos trabajos donde sí se evalúa, los porcentajes de brotación obtenidos siempre son los menores, comparados con los restantes productos, y no siempre diferentes del testigo (Erez 1987b, Epagri 2006). En el presente ensayo este producto obtuvo valores de brotación similares al testigo e iguales (excepto el 26 de setiembre) a los del nitrato de calcio y el aceite mineral, este último producto ampliamente citado con efecto en la ruptura de la dormición. En ensayos similares realizados por Manzi (2007) el aceite mineral solo (3%) en todos los momentos de aplicación obtiene porcentajes de brotación similares o superiores a la cianamida hidrogenada (1,25%), y siempre diferentes del testigo. Por lo tanto en el presente ensayo se observa un efecto mucho menor de las aplicaciones de aceite, comparado la bibliografía, ya que los porcentajes de brotación alcanzados no se diferencian del testigo en casi la totalidad de las fechas.

Dado que el efecto de los aceites es vía respiración, la temperatura durante y luego del tratamiento posee un gran efecto en su actividad. Se presenta a continuación la temperatura promedio de los 3 sensores para los días de las aplicaciones y la semana siguiente.

Cuadro 15: Temperaturas promedio y máxima durante las aplicaciones

	Temperatura promedio (°C)		Temperatura máxima (°C)	Temperatura máxima diarias promedio (°C)
	Día de aplicación	Semana siguiente	Semana siguiente	Semana siguiente
Fecha 1	17,3	9,6	19,7	16,4
Fecha 2	8,2	9,7	27,0	22,1

Altas temperaturas estimulan una mayor respiración de las yemas, provocando un agotamiento más rápido del oxígeno en los órganos cubiertos con aceite (Erez, 1987b). Los mejores resultados en aplicaciones de aceite se obtienen con temperaturas superiores a 12°C, con un óptimo de 24°C, y con temperaturas inferiores a 12°C la efectividad es casi nula (Yuri, 2002).

Si bien las temperaturas máximas diarias promedio en las semanas siguientes a las aplicaciones superan los 12°, no ocurre lo mismo con la temperatura media diaria promedio. En ambas aplicaciones dichas temperaturas fueron bastante inferiores a 12°C (9,6°C y 9,7°C respectivamente). Por lo tanto, el factor temperatura, que es determinante para que el aceite cumpla su función, no permitió que el producto exprese su efecto en las yemas. Esto podría explicar los bajos porcentajes de brotación detectados con las aplicaciones de aceite.

Si se analiza el cuadro 11, centrando la atención en el efecto producto, existen claramente diferencias en el efecto en la brotación según el producto aplicado. Sólo algunos tratamientos logan diferenciarse siempre del testigo (considerando tanto 20, 40 o 60% de brotación), y corresponden siempre a aplicaciones de cianamida o de ErgerG®+nitrato de calcio. A su vez, el efecto del tratamiento con ErgerG®+nitrato de calcio se diferencia del tratamiento con nitrato de calcio solo, en todas las fechas, por lo que el efecto se adjudica directamente al primer producto o a la interacción entre ambos.

En trabajos realizados por Quintana et al. (2006) tanto ErgerG® (en mezclas con nitrato de calcio) como cianamida (mezclada con aceite y tidiazurón) obtienen resultados iguales en relación a adelanto en la brotación y porcentajes de brotación final. En el presente ensayo, los porcentajes de brotación obtenidos con ErgerG®+nitrato de calcio superan en las primeras fechas a la cianamida y a partir del 26 de setiembre ya no hay diferencias. Sumando a estos resultados que la cianamida hidrogenada se encuentra prohibida en los mercados compradores de fruta, y que el principio activo del ErgerG® difícilmente sea cuestionado en dichos mercados, este producto resulta muy promisorio. Considerando que la presente es la primera evaluación del producto en el país a nivel de

campo en manzana, son necesarias futuras investigaciones, para ajustar las condiciones de utilización de este producto.

En este ensayo el efecto “leve” citado para productos como el nitrato de potasio no se ve reflejado en el porcentaje final de brotación, ya que todos los productos son iguales en las dos últimas fechas, sino en el momento en que se inicia la brotación y por lo tanto incide en la duración de la misma. Cianamida y de ErgerG®+ nitrato de calcio tienen mayor impacto en la brotación, y este impacto está dado por una mayor capacidad para adelantar la misma, mas allá de la fecha en la que se apliquen.

Considerando todo lo antes mencionado se concluye que el efecto principal de los productos en la brotación es el de provocar un mayor o menor grado de adelantamiento de la misma, citado como efecto “forzador”. Esto explicaría que productos como los nitratos, que al principio mostraron las menores brotación, al final no se diferencien de un producto que siempre mostró mayores porcentajes como es el ErgerG®+nitrato de calcio.

4.2.1.3 Comparación entre el efecto momento de aplicación y producto aplicado

De los dos capítulos anteriores, se concluye que tanto el momento de aplicación como el producto aplicado pueden tener efecto en las características de la brotación. Por lo tanto se pueden manejar ambos factores para lograr el objetivo buscado. Tanto las aplicaciones tempranas como ErgerG®+nitrato de calcio y cianamida hidrogenada tuvieron fuerte efecto en adelantar la brotación, y sólo la aplicación más tardía, de cualquiera de los productos, logra concentrar la misma.

Observando nuevamente el cuadro 11, todos los tratamientos de ErgerG®+nitrato de calcio y de cianamida llegan a un 40% de brotación antes que cualquier otro tratamiento y que el testigo, sin importar el momento en que hayan sido aplicados. A su vez, si consideramos 60% de brotación sólo los tratamientos de ErgerG®+nitrato de calcio-momento 1 y cianamida-momento 2, quedan atrás, pero los restantes tratamientos repiten este comportamiento.

Por lo tanto, independientemente de la fecha estos productos provocan una mayor modificación de la brotación. Pero, diferenciando entre adelantar o concentrar la brotación, el momento de aplicación es lo que tiene más influencia.

Existe claramente una falta de interacción producto*momento. Los productos con mayor efecto en un momento de aplicación lo tienen en todos los momentos, y los de menor efecto lo tienen en todos los momentos.

4.2.2 Evolución de la brotación

Cuadro 16: Porcentaje de brotación por fecha según edad de la rama

Edad de la rama (años)	04-Set		12-Set		19-Set		26-Set		03-Oct		17-Oct	
1	0,4	b	3,7	b	9,3	b	24,4	b	39,4	b	48,0	b
2	2,2	a	10,2	a	28,6	a	53,7	a	65,1	a	72,8	a
3 y más	1,5	a	5,8	b	11,9	b	27,5	b	34,3	b	38,8	b

Letras diferentes dentro de cada columna indican diferencias significativas ($p=0,05$)

En el cuadro 16 se muestra una caracterización general de la brotación, a través de la evolución del porcentaje de brotación según la edad de la rama en la que se encuentra la yema, como promedio de todos los productos y momentos de aplicación. Para entender los datos es necesario aclarar que yemas en ramas de 1 año considera fundamentalmente a las brindillas, por lo que esta clasificación incluye la brotación de las yemas terminales y fundamentalmente de las laterales. Yemas en ramas de 2 años considera fundamentalmente a yemas en spurs, y las yemas en ramas de 3 años y más, considera algunas yemas en spurs pero en ramas más viejas, y yemas adventicias en ramas de 3 años y más. Esto se confirma con la similitud entre los datos del cuadro 16 y figura 6, presentada a continuación.

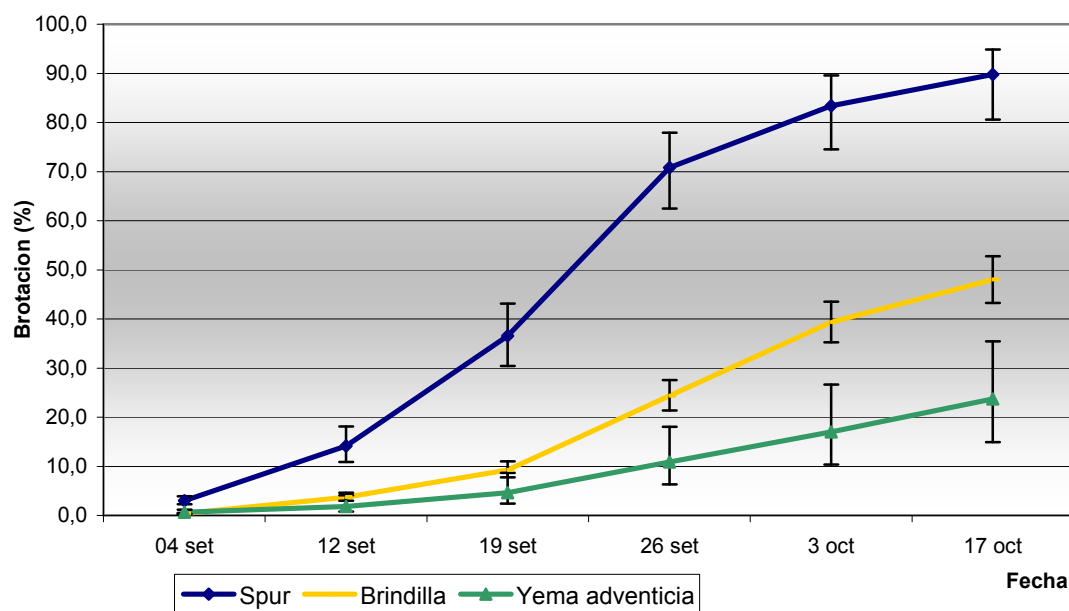


Figura 6: Porcentaje de brotación por fecha según estructura

Los datos permiten confirmar que la edad de la rama afecta la brotación de la yema. Las yemas en ramas de 2 años siempre presentan una brotación superior, en promedio 18%, respecto tanto a las yemas en ramas de 1 año como en ramas de 3 y más años; pero la diferencia aumenta con el tiempo, llegando a ser 29% superior en la brotación final. Comparando la brotación en las yemas en spur respecto a las yemas en brindillas y yemas adventicias la diferencia se amplía mucho mas, dado que como ya se mencionó, algunas de las yemas en ramas de 3 años están ubicadas en spurs, que según los datos presentan mayor brotación que las yemas adventicias en ramas de 3 años.

El dato de brotación de yemas en ramas de 2 años considera fundamentalmente a yemas en spurs, que fisiológicamente funcionan similares a las yemas terminales de brindillas. Es decir, sus requerimientos de frío son menores que los de las yemas laterales de las brindillas (Saure 1985, Erez 1987b, Faust et al. 1995), sumado a la ausencia de dominancia apical, que ejerce un fuerte efecto en manzano (Naor et al., 2003). Las yemas axilares de ramas de 1 año típicamente se desarrollan 7 a 10 días después que las yemas terminales en spurs leñosos (McArtney et al., 2004). Por las características propias de la variedad utilizada, en una rama al azar, dentro del total de yemas presentes, el número de yemas laterales de brindillas, en general, supera ampliamente al de yemas terminales y también al de yemas en ramas de 2 años, presentando a su vez mayor variabilidad dentro de la población. Entonces, el dato de porcentaje de brotación obtenido en ramas de 1 año representa fundamentalmente la brotación de las yemas laterales de brindilla, y el dato de yemas de 2 años está explicado directamente por la brotación en spurs, con una posición más ventajosa que las anteriores en cuanto a posibilidad de brotación. Todos estos factores explican que el porcentaje de brotación presentado tanto en el cuadro 16 como en la figura 6, las yemas en ramas de 1 año presenten menor brotación que aquellas en ramas de 2 años.

Las yemas de 2 años son importantes en la corrección de la copa de la planta o en la renovación de ramas productivas (Carvalho y Zanette, 2004). Se puede considerar que estas yemas permanecen como yemas de reserva, ya que no brotadas en un año, poseen la capacidad de brotar al año siguiente cuando son aisladas o retiradas de una posición de inferioridad en relación a otras yemas (Carvalho y Zanette, 2004).

Carvalho y Zanette (2004) afirman que yemas en dormición de 2 y 3 años en manzanos adultos pueden presentar brotación espontánea cuando ocurren temperaturas elevadas en el invierno, mientras que yemas de 1 año permanecen en dormición. Pero al final de la endodormición e inicio de la ecodormición, la capacidad de brotación de yemas de 1 año se torna mayor que la de estas yemas más viejas. Por lo tanto, las yemas más nuevas brotan, asumiendo el nuevo ciclo de crecimiento e inhibiendo la brotación de las yemas más viejas, caracterizando la acrotonía en plantas leñosas, factor indeseable en plantaciones comerciales de manzano.

4.2.3 Brotación final

Si bien en el análisis de los porcentajes de brotación total, la brotación final no presenta diferencias ni al evaluar el efecto producto ni fecha, al desglosar la brotación en función de la edad de la rama y de la estructura surgen diferencias entre los momentos de aplicación, pero no entre los productos.

Al igual que como se analizó en el capítulo anterior, los datos de brotación según edad de la rama y según estructuras, presentados en el cuadro 17 y 18 respectivamente son muy similares.

El momento de aplicación afecta la brotación únicamente en yemas ubicadas en ramas de 1 año (o brindillas), y no en las restantes yemas, o más específicamente a las yemas laterales, ya que como se explicó anteriormente son las que determinan dicho valor. En la bibliografía, la mayoría de los trabajos que evalúan el impacto en la brotación de diferentes momentos no mencionan claramente este efecto. Erez (1987b) remarca que la yema apical tiene una dormición mucho más baja que las laterales y la temprana apertura de las apicales suprime ampliamente la brotación de las laterales, por aumento de la dominancia apical. Según los datos de este ensayo, los momentos de aplicación 1 y 2 son los que adelantan en mayor medida la brotación. Como consecuencia el porcentaje de brotación de las yemas en ramas de 1 año (brindillas) en el momento 3 es superior respecto del testigo y respecto de los otros momentos de aplicación (cuadros 17 y 18).

Dado que las yemas laterales son las únicas que se afectaron con el momento de aplicación, estos datos plantean una alta dependencia de la paradormición en la salida de la dormición y brotación, al igual que lo planteado por Faust (1995b). Algunos autores incluso afirman que las yemas laterales están parcialmente dormidas o sólo tienen inhibición correlativa (Leille, citado por Saure, 1985).

Cuadro 17: Brotación final (%) según edad de la rama en cada momento de aplicación

Momento	Edad de la rama (años)					
	1		2		3 o más	
1	47,1	ab B	71,6	a A	35,2	a B
2	43,5	b B	75,4	a A	34,0	a B
3	62,5	a B	72,2	a A	65,7	a B
Testigo	53,7	ab A	65,6	a A	41,2	a A

Letras minúsculas marcan diferencias significativas dentro de una misma columna ($p=0.05$) y letras mayúsculas marcan diferencias significativas dentro de una misma fila ($p=0.05$).

Cuadro 18: Brotación final (%) según estructura en cada momento de aplicación

Momento	Estructura					
	Brindilla		Spur		Yema adventicia	
1	47,0	ab B	87,3	a A	21,5	a C
2	43,5	b B	91,4	a A	23,3	a B
3	62,5	a A	93,5	a A	33,6	a A
Testigo	53,6	ab A	88,0	a A	24,5	a A

Letras minúsculas marcan diferencias significativas dentro de una misma columna ($p=0.05$) y letras mayúsculas marcan diferencias significativas dentro de una misma fila ($p=0.05$).

4.3 EVALUACIÓN DE LA FRUTA AL MOMENTO DE LA COSECHA

Como se explicó en el capítulo 3, la cosecha fue realizada en 2 oportunidades; en cada una de ellas se cosecharon todos los tratamientos. Sólo en la primera fecha de cosecha se observaron diferencias entre los tratamientos, en la segunda fecha no existe ninguna diferencia estadística, ni de los efectos principales ni de la interacción entre los mismos. Esto puede deberse a que dado que en la primer cosecha se retiraba todos los frutos que habían alcanzado el criterio establecido en la quinta, los frutos que no eran cosechados y que quedaban en los árboles, en cualquiera de los tratamientos, tenían características similares, que justamente los habían descartado para ser cosechados. Los datos de la segunda cosecha se presentan en anexos.

Es importante considerar que dadas las características del ensayo, el manejo de la quinta, posterior a las aplicaciones de los compensadores, fue igual para todos los árboles. Por lo tanto, no se ajustó el manejo a las modificaciones provocadas en la brotación y fenología de las plantas. En prácticas como el raleo y el manejo de la polinización, la realización en el momento oportuno tiene alto impacto en que dicha práctica cumpla su objetivo o no. A su vez, estas prácticas impactan fuertemente en las características del fruto, fundamentalmente tamaño, y afectan también la evolución de la madurez.

Por lo tanto, a pesar de que algunos autores plantean que las aplicaciones de compensadores de frío modifican el momento de cosecha (Erez 1987b, Epagri, 2006), así como la calidad de la fruta (Peereboom y Yuri, 2004), los datos del presente ensayo están afectados por varios componentes que no son cuantificados, pero que están influyendo en los resultados obtenidos.

Dado que todos los tratamientos son cosechados el mismo día, diferencias en los parámetros de madurez y de tamaño de fruto responden al efecto de las aplicaciones de compensadores sumado a las consecuencias de la realización de las restantes medidas de manejo en diferentes estados fenológicos.

4.3.1 Peso de fruto

La falta de frío de invierno afecta el tamaño de los frutos, debido a que provoca menor y tardía brotación y escaso desarrollo foliar, disminuyendo la disponibilidad de asimilados para los frutos (Peereboom y Yuri, 2004).

En este ensayo, el tamaño del fruto, evaluado a través del peso de los mismo, presentó una interacción producto*fecha no significativa (ver anexos), por lo que estadísticamente es correcto analizar los efectos principales por separado, al igual que como ocurrió con la brotación.

Cuadro 19: Peso de fruto (grs) según producto aplicado

Producto	Peso (gr/fruto)	
Aceite	180,9	a
ErgerG®	177,8	a
CH	171,5	ab
Nit-k	170,2	ab
Nit-ca	165,2	ab
Testigo	153,8	b

Letras diferentes indican diferencias significativas (0,05)

CH: Cianamida hidrogenada, Nit-ca: nitrato de calcio, Nit-k: nitrato de potasio.

ErgerG®: ErgerG® + nit-ca

En relación al efecto del producto aplicado en el peso del fruto, aceite y ErgerG®+nit ca se diferencian claramente del testigo, pero no de los restantes tratamientos, los cuales a su vez tampoco se diferencian del testigo.

Estas diferencias no se corresponden con las diferencias en los patrones de la brotación analizados en el capítulo 4.1.1.2. Un adelantamiento en el inicio de la brotación y por lo tanto de la fecha de plena flor, como el provocado por las aplicaciones de compensadores de frío, propicia un mayor desarrollo de los frutos, dado que permanecen por un mayor período en la planta (Epagri, 2006). Pero el aceite y ErgerG®+nitrato de calcio tuvieron efectos en la brotación muy diferentes. Como se mencionó, ErgerG®+nitrato de calcio alcanzó los mayores porcentajes de brotación en la mayoría de las fechas, y lo opuesto ocurrió con el aceite. El efecto de una mayor

permanencia de la fruta en el árbol podría explicar los resultados obtenidos en el caso de ErgerG®+nit ca pero no para el aceite, en donde el mayor tamaño detectado debe estar explicado por otro factor o factores.

Por otro lado, los requerimientos de frío de las yemas vegetativas son mayores que los de las reproductivas (Hauagge y Cummins 1991b, Naor et al. 2003), por lo que en regiones de poco frío, la condición limitante sería la superación de la endodormición de las yemas vegetativas y no de las reproductivas (Naor et al., 2003). Los productos que tuvieron más impacto en la brotación debieron influir fuertemente en la brotación vegetativa, aspecto fundamental de disponibilidad de asimilados y por tanto del tamaño de fruto

En general, la bibliografía muestra en mayor o menor medida un efecto en el tamaño de fruto por las aplicaciones de compensadores. Manzi (2007) detecta, tanto en calibre como en peso de fruta, una distribución similar a la del momento de brotación de los tratamientos, donde la cianamida aplicada temprano, que logró el mayor adelanto en la brotación, presenta a su vez mayor tamaño de frutos en todas las fechas de evaluación, y mayor peso de fruto respecto al resto de los tratamientos. En ensayos en duraznero, el peso de frutos fue estadísticamente menor para la mayoría de los tratamientos aplicados en el segunda fecha (02/08) comparada con la primera (15/07). En cambio, la aplicación de aceite mineral en la primera fecha, a pesar de presentar una brotación mayor que el testigo, registró un peso de fruto igual al mismo, mientras que en la segunda fecha, con brotaciones iguales, el peso de fruta fue estadísticamente superior al mismo, siendo igual a algunos de los tratamientos con cianamida y aceite (Marodin et al., 2002). Quintana (2006), trabajando con mezclas con cianamida, aceite mineral y Erger®+ nit ca, no encuentra diferencias ni en el diámetro ecuatorial de los frutos ni en el peso, en ninguno de los tratamientos, así como tampoco en el contenido de sólidos solubles totales.

El efecto en el tamaño podría ser un efecto indirecto como consecuencia de un menor número de frutos cuajados. Algunos autores plantean que puede ocurrir una competencia entre el desarrollo vegetativo y reproductivo, especialmente bajo condiciones que promueven o anticipan el follaje (Erez, 1995). A su vez, una floración más concentrada mejora la eficiencia en el manejo de la polinización (McArtney et al., 2004), por lo que las aplicaciones tardías podrían mejorar la eficiencia de dicha práctica. Hasseeb, citado por Manzi (2007) en manzanos cv. 'Anna', utilizando cianamida hidrogenada (1.5%), encontró que el porcentaje de cuajado de frutos fue menor en los tratamientos realizados tempranamente durante la dormición. Este descenso provocó una reducción del rendimiento por árbol. Aplicaciones posteriores, cercanas a la fecha de brotación, tuvieron un menor descenso en el porcentaje de cuajado, alcanzando mayores rendimientos por árbol. El descenso en el rendimiento encontrado en el tratamiento más temprano, fue atribuido por los autores a las condiciones de bajas temperaturas en el momento de floración, siendo un factor desfavorable sobre la polinización y la fertilización. En estudios conducidos por Herter et al. (2006) en duraznero, las

aplicaciones de aceite mineral (2.0%), presentaron un mayor cuajado de frutos en comparación al testigo sin aplicación y otros tratamientos que incluían cianamida hidrogenada (0.25%, 0.5% y 1.0%) más aceite (1.0%), independientemente del momento de aplicación.

4.3.2 Estado de madurez del fruto

En la bibliografía se plantea que el adelantamiento en la brotación, y por tanto floración se corresponde, aunque no proporcionalmente, con un adelantamiento en la madurez de la fruta (Epagri, 2006). Dicho adelanto puede ser de 4 o 5 días (Epagri, 2006) hasta 13 días (Manzi, 2007).

Según INTA Alto Valle para variedades del grupo Gala, la cosecha debería iniciarse cuando el valor de presión es de 17 a 18.5 lbs/cm² (7.7 y 8,4 kgf/cm² respectivamente), aunque otros autores plantean como referencia una firmeza de pulpa entre 6,8 a 7 Kg. (Iglesias et al., citados por Manzi, 2007). Un menor valor de presión de pulpa en los tratamientos, puede deberse en parte a un estado de madurez más avanzado, y por lo tanto un adelanto en la madurez de la fruta.

Existen algunas diferencias entre los tratamientos en relación a este indicador. Pero los otros indicadores de madurez evaluados, sólidos solubles y test de yodo, presentan menores y ninguna diferencias entre tratamientos, respectivamente.

Cuadro 21: Presión de pulpa de los frutos según tratamiento

Producto	Momento	Presión (kgf/cm ²)	Presión (lb/cm ²)	
CH	3	10,36	22,8	a
Nit-k	1	8,94	19,7	b
Nit-ca	1	8,77	19,3	b
CH	1	8,75	19,3	b
Nit-ca	2	8,55	18,9	cb
Testigo		8,53	18,8	bcd
Aceite	1	8,35	18,7	bcde
ErgerG®	1	8,31	18,3	bcde
ErgerG®	2	8,22	18,1	bcde
ErgerG®	3	8,13	17,9	bcde
Nit-k	2	7,90	17,4	cde
CH	2	7,69	16,9	de
Aceite	2	7,54	16,5	e

Letras diferentes indican diferencias significativas (p=0,05)

CH: Cianamida hidrogenada, Nit-ca: nitrato de calcio, Nit-k: nitrato de potasio,

ErgerG®: ErgerG® + nit-ca

Cuadro 22: Contenido de sólidos solubles según tratamiento

Producto	Momento	SS (° Brix)	
Aceite	2	12,78	a
Testigo		12,97	ab
Nit-k	1	13,00	ab
ErgerG®	1	13,03	ab
CH	1	13,15	ab
CH	2	13,16	ab
Nit-k	2	13,21	ab
ErgerG®	3	13,23	ab
Nit-ca	2	13,24	ab
Nit-ca	1	13,28	ab
CH	3	13,30	ab
ErgerG®	2	13,31	ab
Aceite	1	13,51	b

Letras diferentes indican diferencias significativas ($p=0,05$)

CH: Cianamida hidrogenada, Nit-ca: nitrato de calcio, Nit-k: nitrato de potasio.

Comparando los valores de los indicadores de madurez (cuadro 21 y 22) y el efecto en adelante en la brotación de los diferentes tratamientos (cuadro 13) no es posible fijar ninguna tendencia común en ambas informaciones. Por lo tanto, las diferencias en los indicadores de madurez no responden a diferencias en la brotación, la cual sí se modifica fuertemente por efecto de las aplicaciones.

Manzi (2007), en condiciones similares a las del presente ensayo, detecta un claro efecto de adelantamiento en la madurez de la fruta, y por tanto de la fecha de cosecha, en los tratamientos tempranos de cianamida hidrogenada y aceite, los cuales como ya se mencionó logran el mayor adelanto en la brotación. El adelanto en la fecha de cosecha es de 13 días respecto al testigo. Por otro lado, independientemente del producto, las aplicaciones realizadas tardíamente presentan índices de cosecha con iguales valores que el testigo.

En el presente ensayo no fue posible detectar diferencias en los indicadores de madurez de la fruta, lo que muy probablemente sea consecuencia de las características del mismo, como ya se mencionó.

5 CONCLUSIONES

- Se confirma que aplicaciones de productos realizadas tempranamente (con acumulación de frío ente 45% a un 75% de los requerimientos) adelantan el inicio de la brotación.
- Aplicaciones de productos realizadas con los requerimientos de frío casi satisfechos (90%) tienen efecto en concentrar la brotación.
- Estos efectos se explican por modificaciones en la brotación de yemas laterales de brindilla. El adelanto ocurrido con las aplicaciones tempranas reduce la brotación de las mismas, debido principalmente a la promoción de un temprano efecto de dominancia apical.
- Sólo ErgerG®+nitrato de calcio y cianamida hidrogenada modificaron la brotación respecto al testigo. El principal efecto de los principios activos es provocar un adelanto de la brotación.
- Las aplicaciones de nitrato de calcio, nitrato de potasio y aceite obtienen porcentajes de brotación iguales entre sí, e iguales al testigo. Para el caso del aceite, podría deberse a las bajas temperaturas posteriores a su aplicación. Esto plantea una alta dependencia, en la respuesta a este tratamiento, a las condiciones climáticas.
- Todos los principios activos utilizados y momentos de aplicación alcanzan valores iguales de brotación final, e iguales al testigo.
- Los frutos cosechados en árboles con aplicaciones de ErgerG®+nitrato de calcio y aceite mineral presentan mayor peso al momento de la cosecha. Este comportamiento no se explican únicamente por las diferencias en la brotación y floración.
- En relación a los indicadores de madurez de fruta analizados, no hay diferencias claras entre tratamientos; no existe una tendencia clara ni de determinados productos o momentos, al menos con importancia agronómica.
- El producto ErgerG®+nitrato provoca una respuesta en brotación similar a la cianamida, presentando ventajas sobre ésta debido a la naturaleza del principio activo, por lo que resulta promisorio, debiendo ser evaluado en futuras investigaciones.

- El momento de aplicación de cualquier principio activo estará en función de los objetivos buscados en cada quinta en particular (adelantar o concentrar la brotación), debiéndose considerar las consecuencias diferentes a obtener, así como la necesidad de adecuación de los manejos a realizar.
- Luego de definido el momento en el que se desea realizar la aplicación, para la determinación de la fecha exacta, en un año en particular, es necesario considerar la acumulación de frío ocurrida. Por lo tanto, para un correcto manejo de la salida de la dormición mediante la aplicación de productos químicos es necesario la utilización de algún método de cuantificación del frío.

6 RESUMEN

La variabilidad de las temperaturas invernales en el Uruguay, sumado a la exigencia de alta calidad de fruta para la exportación, determinan la necesidad de la aplicación de productos químicos para manejar la salida de la dormición en árboles de manzano, de manera de obtener altos rendimientos. Sumado a esto, el producto más utilizado a nivel nacional e internacional fue recientemente prohibido en los principales mercados compradores, debido a que está cuestionada su inocuidad para productores, trabajadores y consumidores. En función de ello, el siguiente trabajo pretende evaluar la respuesta en la salida de la dormición de manzanos (*Malus domestica* Bork.) a la aplicación de diferentes principios activos, bajo condiciones de frío naturales, y estudiar diferentes alternativas viables para el manejo de la misma. Con este objetivo se utilizaron árboles del cultivar 'Brasil Gala', a los que se les aplicaron los siguientes productos: cianamida hidrogenada (1.25%), aceite mineral (3%), nitrato de calcio (10%), nitrato de potasio (10%) o ErgerG®(1.5%)+nitrato de calcio (3%). Las aplicaciones se realizan en tres momentos con diferente acumulación de frío, dentro del período de endodormición: 17 julio, 7 agosto y 30 agosto, quedando determinados 12 tratamientos y un testigo. Se determinó el inicio y fin de la endodormición en cámara de forzada y se cuantificó el frío ocurrido durante ese período mediante dos modelos, en evaluación a nivel nacional: el modelo de unidades de frío (Richardson et al.) y el modelo dinámico (Fisher et al.). Los momentos de aplicación 1 y 2 (con 45% y 75% del requerimiento de frío, respectivamente) presentan una evolución de la brotación similar, adelantando en 7 días la brotación respecto al testigo; a partir del 26 de setiembre no hay diferencias entre ambos. El momento 3 (90% del requerimiento de frío) muestra diferencias claras en este patrón de brotación, iniciando más tarde la brotación, pero alcanzado e incluso superando rápidamente los valores de brotación de los otros dos momentos. Alcanza el 60% de brotación 7 días antes que el testigo, por lo tanto presenta una mayor velocidad de brotación y una concentración de la misma. Estas diferencias en las características de la brotación están explicadas por cambios en el patrón de brotación de yemas laterales de ramas de 1 año (brindillas). La brotación de las mismas se ve reducida en aplicaciones tempranas, debido fundamentalmente al efecto de una temprana dominancia apical. Durante el mes de setiembre, Erger®+nitrato de calcio presenta en promedio un porcentaje de brotación 13% superior al testigo y 6% superior a la cianamida, la cual a su vez se diferencia del testigo en promedio sólo en 7%, pero marcando una diferencia con los restantes productos. El aceite obtiene una eficiencia muy baja, que podría estar explicado por las bajas temperaturas posteriores a la aplicación. La brotación final es estadísticamente igual para todos los productos y momentos de aplicación, y de estos frente al testigo. No se detectan diferencias en el tamaño de frutos ni en indicadores de madurez que puedan ser adjudicadas a los tratamientos realizados, debido fundamentalmente a factores no controlados dentro del ensayo.

PALABRAS CLAVE: Dormición, Químicos ruptura de dormición, Manzana

7 SUMMARY

The existing temperature variability during winter in Uruguay, in addition to the request of high quality in fruit for export, determines the use of chemical products to release dormancy in apple trees in order to obtain high yields. The most common product used all over the world including our country, has recently been prohibited in the principal buying markets, due to its questioned safety for farmers, employees and consumers. According to the previous information, the objective of this work is to evaluate the response in release of dormancy in apple trees (*Malus domestica* Bork.) to the application of different active compounds under natural chilling conditions and to study different alternatives to manage this process. 'Brasil Gala' (or 'Galaxy') trees were sprayed with one of the following rest breaking agents: hydrogen cyanamide (1.25%), mineral oil (3%), calcium nitrate (10%), potassium nitrate (10%) or a mixture of ErgerG® (1.5%)+calcium nitrate (3%). Applications were done in three different moments, differing on chilling accumulation during the period of endodormancy: July 17, August 7 and 30. Twelve treatments plus the control were applied. Beginning and end of dormancy was determined in forced chamber. Chilling during the period was measured using two models which are being evaluated in our country: Chilling units model (Richardson et al.) and the dynamic model (Fisher et al.). Bud break percentage evolution on trees sprayed at first and second date (45% and 75% chilling requirement accumulation, respectively) were similar, both dates anticipated sprouting 7 days compared to the control. From September 26 to final bud break there were no differences between those treatments. The third moment of application (90% chilling requirement accumulation) showed completely different evolution. Bud break started later, but reached similar and even higher bud break percentage faster than other treatments. A 60% of bud break in the later treatment was reached 7 days before control ones, hence it had higher bud break rate and a concentrate sprouting. Differences in sprouting characteristics were explained by the changes in lateral buds of one-year old woody shoots bud break. Bud break percentage in that buds was lower in early applications compared to the last date of application, due basically to the effect of early apical dominance. During September, average bud break percentage in Erger G®+calcium nitrate treatment was 13% higher than the control and 6% higher than hydrogen cyanamide, which had an average bud break percentage of 7% higher than the control and to the rest of treatments. Mineral oil showed very low efficiency in rest break, due basically to low temperatures after application. Final bud break was similar in all treatments (products and moments of application) including the control. No differences between treatments were detected in fruit size nor in maturity indicators, due mainly to non-controlled factors in the experiment.

KEYWORDS: Dormancy, Rest breaking agent, Apple

8 BIBLIOGRAFÍA

1. AGUSTÍ, M. 2004. Fruticultura. Barcelona, Mundi-Prensa. 493 p.
2. ARORA, R.; ROWLAND, L. J.; TANINO, K. 2003. Induction and release of bud dormancy in woody perennial; a science comes of age. HortScience. 38 (5): 911-921.
3. AUE, H.; LECOMTE, I.; GENDRAUD, M.; PÉTEL, G. 1999. Change in plasma membrane ATPase activity during dormancy release of vegetative peach-tree buds. Physiologia Plantarum. 106: 41-46.
4. BEPETE, M.; JACKSON, J. E. 1995. Apple cultivar performance and response to a chemicals dormancy breaking spray under “marginal” winter-chilling conditions in Zimbabwe. Acta Horticulturae. no. 409: 121-130.
5. BUBÁN, T.; FAUST, M. 1995. New aspects of bud dormancy in apple trees. Acta Horticulturae. no. 395: 105-111.
6. CARVALHO, R.I.; ZANETTE, F. 2004. Dinâmica da dormência de gemas de dois anos de macieira ‘Imperial Gala’ em região de baixa ocorrência de frio. (en línea). Revista Brasileira de Fruticultura 26 (3): 392-394. Consultado jun. 2009. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100-29452004000300005&script=sci_pdf&tlng=pt
7. _____.; _____. 2006a. Dinâmica do conteúdo de monossacarídeos em gemas e ramos de dois anos de macieira durante a endodormência. (en línea). Ciência Rural (Santa María). 36 (4): 1132-1137. Consultado jun. 2009. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/cr/v36n4/a14v36n4.pdf>
8. _____.; _____. 2006b. Variações do conteúdo de glucose, frutose e sorbitol em gemas e ramos de macieira durante a dormência. (en línea). Ciência Rural (Santa María). 36 (6): 1916-1919. Consultado jun. 2009. Disponible en http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000600040&lng=pt&nrm=iso
9. _____.; _____.; MAURER-MERESTRINA, J. 2006c. Variações do conteúdo de proteínas em gemas e ramos com um e dois anos de idade de macieira durante a dormência. (en línea). Revista Brasileira de Agrociência. 12 (2): 145-149. Consultado jun. 2009. Disponible en <http://www.ufpel.tche.br/faem/agrociencia/v12n2/artigo04.pdf>

10. COOK, N.; JACOBS, G. 2000. Progression of apple (*Malus x domestica* Borkh.) bud dormancy in two mild winter climates. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*. 75 (2): 233-236.
11. _____.; BELLEN, A.; CRONJÉ, P.; DE WIT, I.; KEULEMANS, W.; VAN DE PUTTE, A.; STEYN, W. 2005. Freezing temperature treatment induces bud dormancy in “Granny Smith” apple shoots. *Scientia Horticulturae*. 106: 170-176.
12. COSTA, C. 2004. Chemical rest breaking agents for the South African pome and stone fruit industry. *Acta Horticulturae*. no. 636: 295-302.
13. COUVILLON, G.A.; EREZ, A. 1985. Effect of level and duration of high temperature on rest in the peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 110(4): 576-581.
14. _____. 1995. Temperature and stress effects on rest in fruit trees; a review. *Acta Horticulturae*. no. 395: 11-19.
15. CHAPMAN, P.; CATLIN, A. 1976. Growth stages in fruit trees – from dormant to fruit set. (en línea). *Plant Sciences Entomology* (Geneva). 11: s.p. Consultado set. 2009. Disponible en <http://www.nysaes.cornell.edu/pubs/fls/OCRPDF/58a.pdf>
16. DIARIO OFICIAL DE LA UNIÓN EUROPEA. 2008. L 251/45. (en línea). Bruselas. Consultado oct. 2008. Disponible en <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:251:0045:0046:ES:PDF>
17. DENNIS Jr, F.G. 1987. Two methods of studying rest; temperature alternation and genetic analysis. *HortScience*. 22 (5): 820-823.
18. _____. 1994. Dormancy-what we know (and don't know). *HortScience*. 29 (11): 1249-1255.
19. _____. 2003. Problems in standardizing methods for evaluating the chilling requirements for the breaking of dormancy in buds of woody plants. *HortScience*. 38 (3): 347-349.
20. ENCONTRO NACIONAL SOBRE FRUTICULTURA DE CLIMA TEMPERADO-ENFRUTE (11º, 2009, Fraiburgo, SC, Brasil). 2009. Presentaciones. Caçador, EPAGRI. v. 1, 226 p.

21. EREZ, A.; COUVILLON, G. 1987a. Characterization of the influence of moderate temperatures on rest completion in peach. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 112(4): 677-680.
22. _____. 1987b. Chemical control of budbreak. *HortScience*. 22 (6): 1240-1243.
23. _____. 1995. Means to compensate for insufficient chilling to improve bloom and leafing. *Acta Horticulturae*. no. 395: 81-95.
24. _____.; FAUST, M.; LINE, M. 1998. Changes in water status in peaches buds on induction, development and release from dormancy. *Scientia Horticulturae*. 73: 111-123.
25. _____. 2000. Bud dormancy: a suggestion for the control mechanism and its evolution. In: Viemont, J.D.; Crabbe, J. eds. *Dormancy in plants, from whole plant behavior to cellular control*. Cambridge, CAB Internacional. pp. 1-22.
26. _____.; YABLOWITZ, Z.; ARONOVITZ, A.; HADAR, A. 2008. Dormancy breaking chemicals; efficiency with reduced phytotoxicity. *Acta Horticulturae*. no. 772: 105-112.
27. EPAGRI. 2006. *A cultura da macieira*. Florianópolis. 743 p.
28. FAUST, A.; LIU, D.; WANG, S.; STUTTE, G. 1995a. Conversion of bound to free water in endodormant buds of apple is an incremental process. *Acta Horticulturae*. no. 395: 113-118.
29. _____.; _____.; _____.; _____. 1995b. Involvement of apical dominance in winter dormancy of apple buds. *Acta Horticulturae*. no. 395: 47-56.
30. _____.; EREZ, A.; ROWLAND, L.; WANG, S.; NORMAN, H. 1997. Bud dormancy in perennial fruit trees: physiological basis for dormancy induction, maintenance and release. *HortScience*. 32 (4): 623-629.
31. FUCHIGAMI, L. Y NEE, C. 1987. Degree growth stage model and rest-breaking mechanisms in temperate woody perennials. *HortScience*. 22 (5): 836-845.
32. HALGRYN, P.; THERON, K.; COOK, N. 2001. Genotypic response to chilling period of apple buds from two Western Cape localities. *South African Journal of Plant and Soil*. 18(1): 21-27.

33. HAUAGGE, R.; CUMMINS, J. 1991a. Genetics of length of dormancy period in *Malus* vegetative buds. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 116: 121-126.
34. _____.; _____. 1991b. Seasonal variation intensity of bud dormancy in apple cultivars and relates *Malus* species. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 116 (1): 107-115.
35. HEIDE, O. M.; PRESTRUD, A. K. 2004. Low temperature, but not photoperiod, controls growth cessation and dormancy induction and release in apple and pear. (en línea). *Tree Physiology*. 25: 109–114. Consultado ago. 2009. Disponible en <http://treephys.oxfordjournals.org/cgi/reprint/25/1/109>
36. HERTER, F.; POSSER, C., BASSOLS, M., CAMELATTO, D.; TREVISAN, R.; CHAVARRIA, G.; VERÍSSIMO, V. 2006. Utilização da cianamida hidrogenada e óleo mineral na brotação e floração de pessegueiro. (en línea). Pelotas, Brasil, EMBRAPA. Consultado set. 2009. Disponible en http://www.cpact.embrapa.br/publicacoes/download/boletins/boletim_33.pdf
37. LANG, A.; EARLY, J.D.; MARTIN, G.C.; DARNELL, R. 1987. Endo-, para-, and ecodormancy; physiological terminology and classification for dormancy research. *HortScience*. 22(3): 371-377.
38. _____. 1994. Dormancy- the missing links; molecular studies and integration of regulatory plant and environmental interactions. *HortScience*. 29 (11): 1255-1263.
39. LARCHER, W. 1995. *Physiological plant ecology*. 3a ed. Berlin, Springer. 506 p.
40. LEGAVE, J.M., REGNARD, J.L., FARRERA, I., ALMÉRAS, T., CALLEJA, M. 2008. The modelling of flowering time in the french apple cropping area in relation to global warming. *Acta Horticulturae*. no. 772: 167-174.
41. LLAMAS, J.; CARVAJAL, E.; OROZCO, A.; RASCÓN, A.; ROMO, A.; GUERRERO, V.; GONZÁLEZ, V.; GARDEA, A. 2002. Respuesta metabólica y brotación de yemas de manzano por la aplicación de promotores de brotación. (en línea). *Revista Fitotecnia Mexicana (México)*. 25(4): 411-417. Consultado set. 2009. Disponible en <http://redalyc.uaemex.mx/redalyc/pdf/610/61025411.pdf>
42. LORENZO, M.E.; MARTÍNEZ, N.; VIDART, M.V. 2003. Estudio de la diferenciación floral y el requerimiento de frío invernal en cuatro cultivares de

duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch). Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 133 p.

43. MCARTNEY, S; PALMER, J.; DIACK, R.; WARD, S. 2004. Chemical regulation of timing and synchrony of bud break and flowering in different wood types of apple. (en línea). In: Annual meeting Plant Growth Regulation Society of America (31st., 2004, Charleston, South Carolina). Proceedings. s.n.t. s.p. Consultado ago. 2009. Disponible en http://www.pgrsa.org/Charleston_PGRSA_Proceedings_2004/papers/006.pdf
44. MANZI, M.J. 2007. Evaluación de diferentes tratamientos compensadores de frío en manzanos (*Malus domestica* Borkh.) Cv. "Royal Gala". Tesis Ing. Agr. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 74 p.
45. MARODIN, G.; SARTORI, I.; SALVATI, D. 2002. Efeito da aplicação de cianamida hidrogenada e óleo mineral na quebra de dormência e produção do pessegueiro 'Flamecrest'. (en línea). Revista Brasileira de Fruticultura. (Jaboticabal). 28 (1): 32-35. Consultado set. 2009. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/rbf/v24n2/a29v24n2.pdf>
46. MOHAMED, A. 2008. The effect of chilling, defoliation and hydrogen cyanamide on dormancy release, bud break and fruiting of Anna apple cultivar. Scientia Horticulturae. 118: 25–32.
47. NAOR, A.; FLAISHMAN, M.; STERN, R.; MOSHE, A.; EREZ, A. 2003. Temperature effects on dormancy completion of vegetative buds in apple. Journal of the American Society for Horticultural Science. 128 (5): 636-641.
48. NORTH, M.S. 1995. New rest-breaking agents for the control of delayed foliation of apples. Acta Horticulturae. no. 409: 151-154.
49. _____; GONGGRIJP, F.W.R. 2008. Development of a safer and new bud-rest breaking agent for "Golden Delicious" apples grown under marginal climatic conditions. Acta Horticulturae. no. 772: 399-401.
50. OLSEN, J.E. 2006. Mechanisms of dormancy regulation. Acta Horticulturae no. 727:157-166.
51. PEEREBOOM VOLLER, C.; YURI, J. 2004. Receso y calidad de fruta. Pomáceas. (en línea). Boletín Técnico (Universidad de Talca). 4 (3): 1-3. Consultado oct. 2009. Disponible en <http://pomaceas.utalca.cl/publicaciones/boletin/BoletinMayo04.pdf>

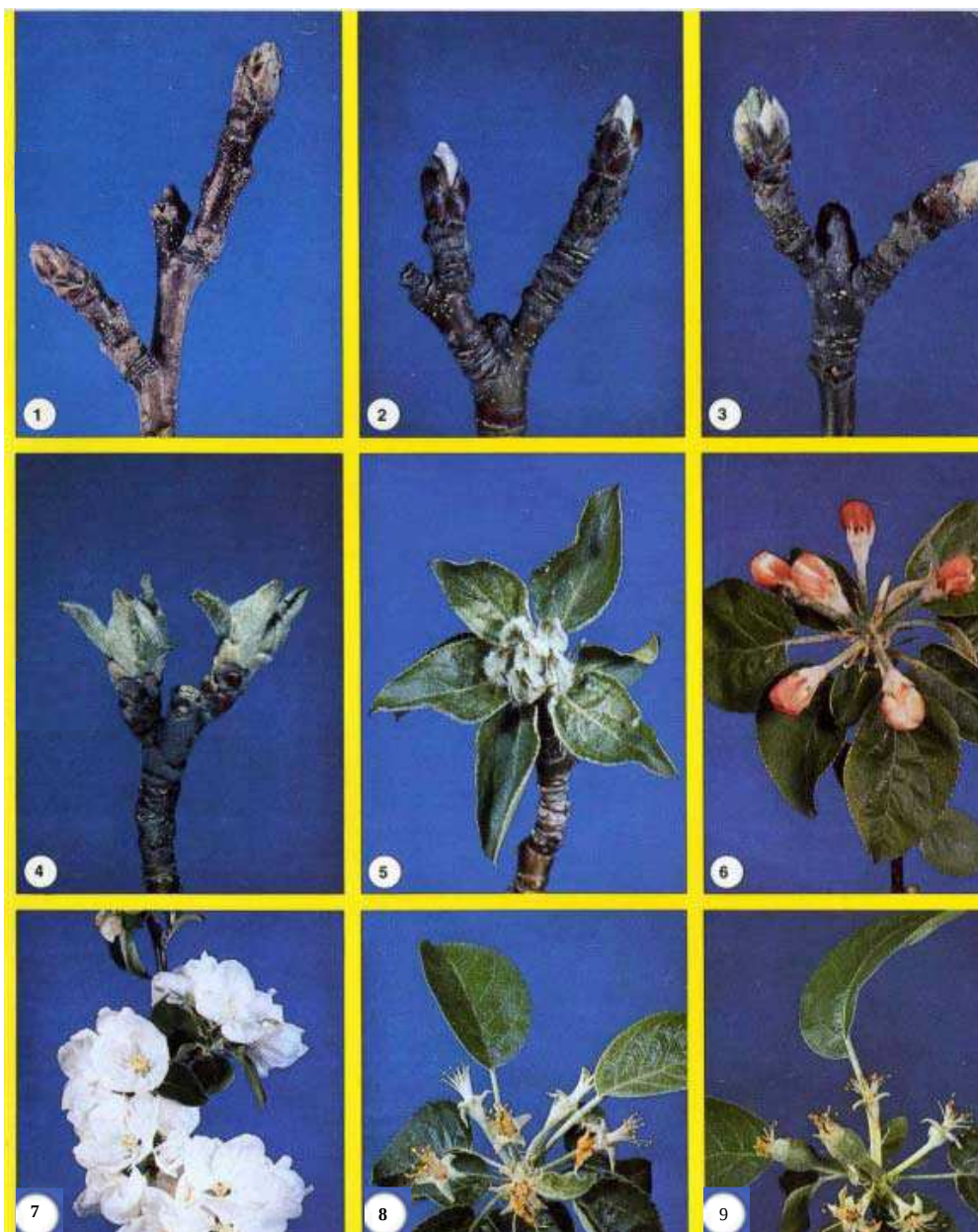
52. PINTO, M.; LIRA, W.; UGALDE, H.; PÉREZ, F. s.f. Fisiología de la latencia de las yemas de vid; hipótesis actuales. (en línea). Santiago, Chile, Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Agronómicas. Grupo de Investigación Enológica (GIE). s.p. Consultado ago. 2009. Disponible en <http://www.gie.uchile.cl/.../publicaciones/index.html>
53. POWELL, L. E. 1987. Hormonal aspects of bud and seed dormancy in temperate-zone woody plants. *HortScience*. 22(5): 845-850.
54. QUINTANA, E. 2006. Aplicación de promotores de brotación en base a la actividad metabólica de las yemas en manzano 'Golden Delicious'. Tesis Maestría. Chihuahua, México. Universidad Autónoma de Chihuahua. Facultad de Ciencias Agrotecnológicas. 92 p.
55. RAMINA, A.; COLAUZZI, A.; MASIA, A.; PITACCO, A.; CARUSO, T.; MESSINA, R.; SCALABRELLI, G. 1995. Hormonal and climatological aspects of dormancy in peach buds. *Acta Horticulturae*. no. 395: 35-46.
56. REINOSO, H.; LUNA, V.; DAUARÍA, C.; PHARIS, R.; BOTTINI, R. 2002. Dormancy in peach (*Prunus persica*) flower buds. VI. Effects of gibberellins and an acylcyclohexadione (trinexapac-ethyl) on bud morphogenesis in field experiments with orchard trees and on cuttings. *Canadian Journal of Botany*. 80: 664-674.
57. RICHARDSON, E.; SEELEY, S.; WALKER, D. 1974. A model for estimating the completion of rest for "Redhaven" and "Elberta" peach trees. *HortScience*. 9 (4): 331-332.
58. SAURE, M. C. 1985. Dormancy release in deciduous fruit trees. *Horticultural Reviews*. 7: 239-300.
59. SEELEY, S.D. 1994. Dormancy-the black box. *HortScience*. 29 (11): 1248.
60. SEVERINO, V. 2008. Endodormancia en manzano, ajuste de estimación y métodos de manejo en el Sur del Uruguay. Tesis de Maestría en Ciencias Agrarias. Montevideo, Uruguay. Facultad de Agronomía. 73 p.
61. SHALTOUT, A.; UNRATH, C. 1983. Rest completion prediction model for "Starkimson Delicious" apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 108 (6): 957-961.
62. SOZZI, G. O.; MARTÍNEZ, G. P. 2004. Metabolismo energético en primordios vegetativos y de flor en durazneros (*Prunus persica*) bajo diferentes

- regímenes térmicos. (en línea). Ciencia e Investigación Agraria. 31(2): 101-109. Consultado jun. 2009. Disponible en <http://www.rcia.puc.cl/Espanol/pdf/31-2/metabolismo.pdf>
63. _____. 2007. Árboles frutales; ecofisiología, cultivo y aprovechamiento. Buenos Aires, Universidad de Buenos Aires. Facultad de Agronomía. 511 p.
 64. SUBHADRABANDHU, S. 1995a. Induction of budbreak in apple trees that received insufficient chilling by hydrogen cyanamide. Acta Horticulturae. no. 409: 171-178.
 65. _____. 1995b. Problems in growing fruits in warm tropics. Acta Horticulturae. no. 395: 69-80.
 66. TALICE, R.; CONTARIN, S.; CURBELO, L. 1988. Evaluación de dos métodos de medida de frío invernal para las condiciones de Uruguay. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura (9o., 1988, Campinas). Anais. s.n.t. pp. 773- 776.
 67. URUGUAY. MINISTERIO DE DEFENSA NACIONAL. DIRECCION NACIONAL DE METEOROLOGÍA. s.f. El clima del Uruguay. (en línea). Montevideo. Consultado 25 oct. 2009. Disponible en http://www.meteorologia.com.uy/caract_climat.htm
 68. _____. _____. _____. 2009. Aspectos generales del clima durante el invierno en el Uruguay. (en línea). Montevideo. Consultado 25 oct. 2009. Disponible en <http://www.meteorologia.com.uy/Invierno2009.pdf>
 69. _____. MINISTERIO DE GANADERÍA, AGRICULTURA Y PESCA. DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES ECONÓMICAS AGROPECUARIAS. 2008. Anuario estadístico agropecuario 2008, versión digital. (en línea). Montevideo. Consultado set. 2009. Disponible en http://www.mgap.gub.uy/Diea/Anuario2008/Anuario2008/pages/DIEA-Anuario-2008-cd_000.html
 70. WANG, S.Y.; FAUST, M. 1990. Changes in membrane lipids in apple buds during dormancy and budbreak. Journal of the American Society for Horticultural Science. 115 (5): 803-808.
 71. YOUNG, E. 1992. Timing of high temperature influences chilling negation in dormant apple trees. Journal of the American Society for Horticultural Science. 117(2): 271-273.

72. _____.; DAUTLICK, K.; BELDING, R. 1995. Respiratory changes during dormancy breaking of apple trees. *Acta Horticulturae*. no. 395: 21-33.
73. YURI, J.A. 2002. El receso en frutales. Pomáceas. *Boletín Técnico* (Universidad de Talca). 2 (4): 1-3.

9. ANEXOS**Anexo 1.**

Escala de desarrollo de estructuras reproductivas (Chapman y Catlin, 1976)



Anexo 2.

Brotación final (%) por producto según edad de la rama

