

U N I V E R S I D A D D E C O N C E P C I O N

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES

Departamento de Silvicultura

EFFECTO DEL ALMACENAJE EN FRIO SOBRE ATRIBUTOS
MORFOFISIOLÓGICOS EN PLANTAS DE *PINUS RADIATA* D.DON.




MEMORIA PARA OPTAR
AL TÍTULO DE
INGENIERO FORESTAL.

CONCEPCION - CHILE
1999

EFFECTO DEL ALMACENAMIENTO RN FRIO SOBRE VARIABLES MORFOFISIOLOGICAS EN PLANTAS DE *Pinus radiata* D.Don.

Profesor asesor



Darcy Ríos Leal
Profesor Asociado
Profesora de Biología y
Química, M.Sc.Dr.

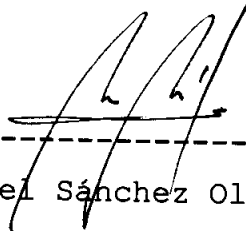
Profesor asesor



Manuel Sánchez Olate
Profesor Asistente
Ingeniero Forestal, Dr.

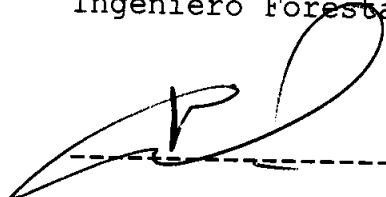


Director Departamento de
Silvicultura



Manuel Sánchez Olate
Profesor Asistente
Ingeniero Forestal, Dr.

Decano Facultad de Ciencias
Forestales



Fernando Drake Aranda
Profesor Asociado
Ingeniero Forestal

Calificación de la memoria de título:

Darcy Ríos L. : cien puntos.
Manuel Sánchez O. : cien puntos



A RENE Y FELY, MIS PADRES.
A DANY Y MAXI, MIS HERMANOS.
A LOS NIÑOS.
A PEDRO.

AGRADECIMIENTOS

Deseo dar las gracias a todas las personas que ayudaron a que este estudio llegase a buen puerto. En especial a:

Darcy y Manuel, quienes más que profesores guías han sido mis buenos amigos. Gracias por toda su comprensión y consejos.

A René Escobar, mi querido profesor, amigo y papá. Gracias por estar cada vez que te necesito.

A Forestal MININCO S.A. por financiar el estudio.

A Pedro Fernández. Gracias porque siempre me has acompañado, en los buenos momentos y en los que no lo son tanto también. Siempre me has apoyado. Siempre me has escuchado y comprendido.

A mis compañeros y amigos Mauricio Ramírez, Jaime Zapata, Italo Fazzi, Carlos Roa, René Lazo, Natalia Decarli, Alex Molina, Rodrigo Bustos y Hernán Arriagada. Gracias por todo el apoyo y ayuda brindada durante los años que permanecemos juntos.

A Don Dionisio, Don Leo, Ale y René, auxiliares de la facultad, muchísimas gracias por estar siempre dispuestos a ayudar.

A Fernando, laborante de la facultad, gracias por la ayuda brindada.

En fin, gracias a todos quienes ayudaron en mi formación personal y profesional.

ALE



INDICE DE MATERIAS.

CAPITULO	PAGINA
I INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Almacenaje en frío.....	2
1.2 Tipos de almacenamiento en frío.....	3
1.3 Efectos del almacenamiento en frío sobre atributos que determinan la calidad de las plantas.....	4
1.3.1 Efectos del almacenamiento en frío sobre el Potencial de crecimiento radicular.....	4
1.3.2 Efecto sobre el contenido de carbohidratos solubles.....	6
1.3.3 Efecto sobre la Conductividad Electrolítica (CE).....	7
1.3.4 Efecto sobre el potencial hídrico.....	9
1.3.4.1 Potencial hídrico.....	10
1.4 Aspectos de cosecha de plantas, almacenaje y transporte que afectan el comportamiento de las plantas.....	11
1.5 Estado sanitario de las plantas.....	12
II. MATERIAL Y MÉTODO....	15
2.1 Ubicación del estudio.....	15
2.2 Descripción del estudio.....	15
2.2.1 Almacenaje de plantas.....	16
2.2.1.1 Estado sanitario de las plantas durante el almacenamiento.....	17
2.2.2 Duración del ensayo.....	17

2.3 Medicion de las variable respuestas.....	17
2.3.1 Evaluación del ensayo de Potencial de crecimiento radicular (PCR).....	17
2.3.2 Evaluación de la Conductividad Electrolítica (CE).....	18
2.3.3 Evaluación del contenido de carbohidratos solubles (CS).....	19
2.3.4 Evaluación del Potencial Hídrico (PH).....	20
2.4 Diseño experimental.....	21
2.5 Tratamientos.....	21
2.6 Análisis estadístico.....	22
2.6.1 Análisis estadístico para la CER.....	22
III. RESULTADOS Y DISCUSION.....	23
3.1 Efecto del almacenamiento en frío sobre el Potencial Hídrico (PH).....	23
3.2 Efecto del almacenaje en frío sobre la conductividad electrolítica.....	25
3.3 Efecto del almacenaje en frío sobre el contenido de carbohidratos solubles..	27
3.4 Efecto del almacenamiento en frío sobre el Potencial de Crecimiento Radicular (PCR).....	30
IV CONCLUSIONES.....	34
V RESUMEN.....	35
VI SUMMARY.....	36
VII BIBLIOGRAFÍA.....	37
VIII APENDICE.....	44
8.1 Tablas de análisis de varianza para el potencial de crecimiento radical.....	44
8.2 Tablas de análisis de varianza para el	

contenido de carbohidratos solubles....	45
8.3 Tabla de análisis de varianza para el potencial hídrico.....	46
8.4 Tablas de análisis de varianza para la conductividad electrolítica.....	47
8.5 Tablas de resultados para los distintos atributos estudiados.....	48
IX ANEXO.....	49



INDICE DE TABLAS

En el texto:

TABLA N°		PAGINA
1	Tratamientos utilizados en el ensayo.....	21

En el apéndice:

1A	Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor temperatura.....	44
2A	Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor días de almacenaje.....	44
3A	Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor temperatura.....	45
4A	Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor días de almacenaje.....	45
5A	Tabla de ANOVA para tratamientos.....	46
6A	Tabla de ANOVA para tratamientos.....	47
7A	Tabla de ANOVA para temperatura de almacenaje.	47
8A	Valor del potencial hídrico (Mpa) en plantas de <i>Pinus radiata</i> almacenadas a diferentes	

	temperaturas por diferentes períodos de tiempo.....	48
9A	Valores promedios de conductividad electrolítica para las diferentes temperaturas y períodos de almacenaje.....	48
10A	Contenido de carbohidratos solubles (mg/gpf) para plantas de <i>Pinus radiata</i> almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes períodos de tiempo.....	49
11A	Número de raíces nuevas en plantas de <i>Pinus radiata</i> , almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes períodos de tiempo.....	49

En el anexo

1B	Escala semicuantitativa para evaluar el potencial de crecimiento radicular.....	50
----	---	----

I INTRODUCCIÓN

En el país la producción de plantas es, en general, un proceso llevado a cabo con tecnología usada a nivel mundial, tanto para la producción de plantas a raíz desnuda como a raíz cubierta. Sin embargo, en las labores de cosecha y manejo de plantas, se mantienen técnicas de hace más de 30 años, con lo que todos los esfuerzos por producir una planta de calidad pueden ser en vano.

Además, al ser la faena de plantación una actividad que se realiza aproximadamente entre mediados de abril hasta fines de septiembre, las plantas cosechadas, para ser plantarse, a inicios de la temporada de plantación probablemente presentan una condición fisiológica muy diferente a la de las plantas cosechadas a finales ésta.

El almacenamiento en frío podría ser la solución para ambos problemas. Este tipo de almacenamiento plantea la cosecha de las plantas cuando todas están en un estado de desarrollo fisiológico óptimo para ser plantadas. Luego son almacenadas en cámaras de frío a temperatura y contenido de humedad constantes y desde aquí se abastece al programa de plantación; asegurando de este modo, que la condición fisiológica de las plantas utilizadas a comienzo y final de la temporada sean lo más similar posible.

El presente estudio analiza el efecto de dos temperaturas de almacenamiento en frío y tres períodos diferentes de almacenaje en cuatro atributos del comportamiento que determinan la calidad de las plantas; potencial de crecimiento radicular, potencial hídrico, conductividad electrolítica y contenido de carbohidratos totales.

1.1 Almacenaje en frío

El almacenaje en frío es útil para mantener la calidad de las plantas cuando éstas sean requeridas en la plantación, también es necesario que éstas se encuentren sanas y en estado de dormancia para evitar que disminuya su calidad, lo que ocurriría cuando se cosechan plantas cuyas yemas están brotando (Hintz, 1978; Nelson, 1980; Hee, 1987; Dewald y Feret, 1988, citados por Cea, 1993).

El uso del almacenaje en frío posibilita cosechar parte o toda la producción del vivero de una sola vez, lo que permite que la producción del vivero sea guardada y se extraiga sólo la cantidad de plantas demandadas para la plantación (Hocking 1972, citado por McCracken ,1979). Además, permite contar con disponibilidad de plantas para un inmediato envío cuando las condiciones de plantación sean las adecuadas (Mckay y Mason, 1991). También, es una medida para proporcionar una reserva de abastecimiento de plantas para aprovechar el trabajo en el vivero de clasificación o empaque durante períodos de mal tiempo (Stoeckeler y Jones, 1957).

Según Oldenkamp et al. (1969), citados por Mullin et al., (1972), un almacenamiento prolongado de las plantas durante el invierno origina una reducción de la presión de las operaciones del vivero en primavera , además de permitir una temprana habilitación de la superficie de cultivo y una posible extensión de la temporada de plantación. Por ello, el almacenaje de plantas ha sido una importante herramienta que posibilita al viverista una mayor flexibilidad en la carga de trabajo, asegurando una temprana viabilidad de las plantas en la primavera (Nelson, 1980; Hinesley, 1982;

Ritchie, 1987). También permite evitar la pérdidas de plantas provocadas por heladas tardías en la primavera (Jorgensen y Stank, 1962, citados por Hinesley, 1982; Ritchie, 1987).

El almacenamiento efectuado en invierno puede proporcionar una gran ayuda en la técnica de producción de plantas, ya que una brotación de las yemas en primavera debería redundar en una mayor supervivencia para sitios que presentan un temprano estrés hídrico (Nelson, 1980).

El almacenamiento de plantas en frío tiene un considerable efecto en el ahorro financiero. En Polonia, un estudio demostró que la producción del vivero por unidad de superficie aumenta en un 38% dependiendo de la superficie, y el trabajo se redujo entre un 38 y 39% (Kosior, 1987).

1.2 Tipos de almacenamiento en frío

El almacenamiento en frío se puede hacer refrigerando o frigorizando las plantas. La refrigeración consiste en almacenar a temperaturas sobre los cero grados, en cambio la frigorización almacena las plantas bajo el punto de congelación.

El almacenamiento refrigerado se recomienda cuando las plantas deben permanecer almacenadas por un período menor a 3 meses. Si se requiere de un período más prolongado, esta práctica debe realizarse haciendo uso de frigoríficos, ya que las bajas temperaturas suspenden la actividad metabólica de la planta y conserva las reservas de carbohidratos que ésta posea (Cultural Perspectives, 1997).

1.3 Efectos del almacenamiento en frío sobre atributos que determinan la calidad de las plantas

La calidad de una planta está determinada tanto en función de los atributos del material como de los de comportamiento. Dentro de los atributos del material, que corresponden a características que pueden ser observadas, destacan la morfología, estatus nutricional, condición hídrica y dormancia de yemas. Como atributos del comportamiento, los que son evaluados midiendo la actividad de las plantas cuando son sometidas a condiciones específicas de prueba, destaca; potencial de crecimiento radicular (PCR), resistencia a heladas, resistencia al estrés, conductividad electrolítica (CE) y contenido de carbohidratos solubles.

Según Escobar (1994), una planta de buena calidad es aquella que logra la más alta tasa de supervivencia y de crecimiento inicial en un lugar determinado, por lo que el comportamiento en terreno será la prueba final de una planta producida en vivero.

Dependiendo del sistema de manejo desde el vivero al lugar de plantación, un conjunto de factores que producen estrés, pueden afectar los resultados del almacenamiento en frío (Landis y McDonald, 1981; Krauppi, 1984, citados por Mattsson, 1986).

1.3.1 Efectos del almacenaje en frío sobre el Potencial de Crecimiento Radicular (PCR). El Potencial de Crecimiento Radicular se define como la capacidad del sistema radicular de una planta, para producir nuevas raíces después de haber sido cosechada y posteriormente plantada. De los atributos

del comportamiento anteriormente mencionados es el criterio que mejor predice la calidad de las plantas (Ritchie, 1985). Se encuentra influenciado por una serie de factores claves, como son el estado fisiológico de la planta al ser cosechada, especie, tipo de semilla y cantidad de carbohidratos disponibles para el crecimiento (Ritchie, 1985; Peña, 1996).

Está establecido que un alto nivel de PCR en la planta es un importante atributo de calidad ya que le permite establecerse rápidamente después de plantada. Por otra parte una planta que no forma rápido raíces, en el sitio de plantación, llega fácilmente al estrés hídrico y posteriormente a la muerte (Ritchie, 1985).

Las diferencias existentes en el desarrollo del PCR, tanto entre diferentes especies, como entre de plantas de una misma especie, están dadas además de los factores ya mencionados, por el almacenaje en frío, fecha de extracción e incluso por algunos atributos morfológicos (Ritchie, 1985).

El ensayo de PCR es considerado uno de los métodos más confiables para evaluar la viabilidad y vigor del stock de plantas; sin embargo, presenta el inconveniente de ser un test de relativa larga duración (Ritchie y Tanaka, 1990). A través de él, se pueden detectar partidas de plantas incapaces de producir nuevas raíces en condiciones favorables de crecimiento. Los patrones de desarrollo de raíces pueden variar fuertemente dependiendo de la especie y el manejo de vivero con que cuenta la planta, por lo tanto, los resultados de la prueba de PCR sólo se pueden

comparar con plantas de la misma especie y desarrolladas bajo el mismo sistema (Peña, 1996).

Los ensayos de PCR no indican los problemas que podría tener la planta y que impiden que éstas se establezcan, pero sí señalan que las plantas bajo estudio presentan problemas, ya sean estructurales o metabólicos (Ritchie y Tanaka 1990, citados por Rose, et al. 1990).

1.3.2 Efecto sobre el contenido de carbohidratos.

McCracken (1979), señala que los carbohidratos contenidos en raíces y tallos durante el almacenamiento van a constituir un recurso vital para el posterior crecimiento de las plantas.

De acuerdo a lo establecido por Dierauf et al. (1969), citados por Garber et al. (1980), las plantas almacenadas en estado de dormancia tienden a disminuir su crecimiento a lo largo de la primavera. Probablemente, parte de este fenómeno se puede atribuir a la degradación ocurrida en el almacenamiento. El almacenamiento realizado por cortos períodos de tiempo, resulta en una pérdida significativa de peso, a causa de la respiración, lo que representa una disminución de las reservas disponibles, las que son necesarias para el posterior crecimiento (Garber et al, 1980).

El almacenaje de plantas es un proceso que interfiere en el desarrollo natural de la resistencia al frío, éste requiere de energía metabólica, por lo tanto, se debería esperar una disminución de este atributo de las plantas durante el almacenamiento. (Ritchie, 1987).

Ritchie (1983) señala que durante el almacenamiento refrigerado, las reservas de carbohidratos declinan rápidamente a nivel del follaje, tallo y raíces. A igual conclusión llega McCracken, (1979), para plantas de *Pinus mugo* y *Pinus radiata*, señalando además, que el crecimiento de raíces y tallos después que las plantas han sido puestas en terreno dependen de las reservas de carbohidratos que éstas tengan, las que pueden disminuir fuertemente durante el almacenamiento, comprometiendo de esta forma, la supervivencia de las plantas.

1.3.3 Efecto sobre la Conductividad Electrolítica (CE). La célula vegetal contienen una gran cantidad de electrolitos, los que se deben entender como sustancias que al disolverse en agua conducen corriente eléctrica, siendo el potasio (K) el principal de ellos. (Sampson et al. 1994)

El daño sufrido por las plantas se puede correlacionar con la magnitud de la conductividad electrolítica del agua en que son estudiadas. Altos niveles de conductividad electrolítica, por lo general, indican la presencia de daño a nivel celular (Burr et al, 1990). Sin embargo, debe tenerse cuidado de no confundir una conductividad relativa alta con el probable efecto que pueda tener sobre la muestra la aplicación de algún herbicida o fertilizante que se mantengan como residuos de la muestra. Una conductividad electrolítica relativa bajo el 10 % es considerada como buena, conductividades sobre el 20 %, por lo general, acusan la presencia de niveles de daño moderados a altos. (Sampson et al.,1994)

Utilizando la conductividad electrolítica Mathews y Whibread (1968), citados por Mathews y Powell (1981), lograron poner de manifiesto la asociación existente entre la facilidad con que los solutos eran lixiviados, a partir de diferentes lotes de semillas de guisantes, y su posterior capacidad de emerger. Más tarde, Matthews y Bradnock (1967), citados por Matthews y Powell (1981), desarrollaron esta teoría hasta convertirla en un ensayo de rutina para la predicción de emergencia de semillas en el campo.

Las mediciones de conductividad electrolítica son usadas con frecuencia para determinar la resistencia de las plantas a las heladas, de hecho Flint et al. (1967), citados por Sampson et al., (1994), señalan que en países como Nueva Zelanda se convirtió en un análisis obligado para determinar la calidad de las plantas frente a tratamientos de frío-resistencia.

Para latifoliadas Hallam y Tibbits (1988), proponen analizar tejidos de la hoja, ya que presentan un mayor incremento en la conductividad, que los tejidos de tallo y raíces, como respuesta a la exposición de éstos a temperaturas nocivas. En el caso de estudiar coníferas Sampson et al., (1994), plantean la utilización de los 2-3 primeros centímetros del ápice del tallo.

De acuerdo a lo expresado por Raymond (1986), el método de medición de la conductividad electrolítica es el más adecuado para la evaluación del daño fisiológico de plantas forestales.

1.3.4 Efecto sobre el potencial hídrico (PH). La importancia del estado hídrico de las plantas ha sido reconocida por siglos, pero hasta hace poco tiempo sólo era descrito en términos generales como marchito o no marchito. (Kramer, 1983, citado por Peña, 1996). El fenómeno de marchitez es un síntoma visible que se observa en plantas que están sometidas a un déficit hídrico acentuado, lo que afecta a numerosos procesos fisiológicos.

De acuerdo a lo establecido por Lopushinsky (1990), el déficit hídrico puede ocasionar cierre de los estomas, reducir la fotosíntesis, afectar los procesos de respiración y translocación, interrumpir el metabolismo de carbohidratos y proteínas, dañar las estructuras y membranas de las células o causar cambios en la actividad enzimática, junto con aumentar la susceptibilidad a los ataques de patógenos e insectos.

El déficit hídrico ocurre en forma normal y llega a ser importante sólo cuando afecta en forma negativa los procesos fisiológicos, el crecimiento o la supervivencia. En el caso de plantas provenientes de viveros a raíz desnuda el déficit hídrico puede presentarse en cualquier momento desde la faena de extracción hasta la de plantación, como resultado de pérdidas de agua ya sea de brotes y/o raíces (Lopushinsky, 1990).

La forma más simple para estimar el déficit hídrico es la medición del contenido de agua de la planta. El método involucra la medición del peso fresco y peso seco, expresando el peso de la pérdida de agua como un porcentaje del peso seco. Sin embargo, el peso seco puede sufrir cambios, por esta razón surgen metodologías que expresan el

contenido de humedad como un porcentaje del peso de turgencia o saturado, tales como el Contenido Hídrico Relativo o el Déficit Hídrico (Lopushinsky, 1990).

1.3.4.1 Potencial hídrico. El potencial hídrico, o potencial del agua, es el potencial químico que ésta presenta, presentándose como una medida de la energía disponible para reacción o movimiento. Bajo condiciones biológicas normales el potencial hídrico es, por lo general, bastante alto. Su símbolo es ψ , y se expresa, usualmente, en atmósferas, bars, dinas por centímetro cuadrado y pascales (Bidwell, 1993).

El agua se mueve a favor de un gradiente de energía, cediendo energía a medida que se moviliza. Esta energía puede perderse como resultado del movimiento del agua. El equilibrio sólo se logra cuando al aumentar el movimiento no implique una pérdida adicional de energía, lo que significa que el agua siempre se desplaza hacia la región de más baja energía en un sistema, es decir, el movimiento neto del agua se realiza desde una zona de alto potencial a una de potencial bajo (Bidwell, 1993).

El potencial hídrico, de acuerdo a lo expresado por Kramer (1983), citado por Barceló et al. (1995) es disminuido, en cualquier sistema, por factores que reducen la presión de vapor relativa, tales como; adición de solutos que diluyen el agua y reducen su actividad mediante hidratación de moléculas o iones disueltos, reducción de la temperatura, fuerzas matriciales o fuerzas microcapilares halladas en suelos, paredes celulares, protoplasma y demás sustancias que absorben o fijan agua, y finalmente, por tensiones o

presiones negativas como las del xilema de plantas transpirantes. Además, indica que el potencial hídrico es aumentado por los factores que incrementan la presión de vapor relativa, tales como; presión (por ejemplo la de la pared celular expandida sobre el contenido de la célula) e incremento en la temperatura. (Barceló et al. 1995)

1.4 Aspectos de cosecha de plantas, almacenaje y transporte que afectan el comportamiento de las plantas Una planta está en condiciones de ser cosechada cuando en el vivero ha logrado los atributos morfológicos y fisiológicos deseados y se encuentra debidamente endurecida (Escobar, 1994). En el proceso de cosechar las plantas se debe tener especial cuidado en el tratamiento que se le den a las raíces, ya que la intensidad de pérdida de estas afecta directamente al potencial de crecimiento de raíces (Escobar, 1994, Santibáñez, 1997) y a la supervivencia (Tinus, 1974; Mexal 1994; citados por Escobar, 1994). Además, se debe evitar la exposición directa de las plantas al viento y al sol (Escobar, 1994).

En un estudio realizado por Fancher et al. (1989), citado por Escobar (1994), utilizando diferentes plantas de coníferas, determinó que si durante el proceso de cosecha las plantas estas son expuestas, por cinco minutos, a temperaturas menores a los 20 °C y con ausencia de viento, el crecimiento posterior es vigoroso. Cuando las plantas son expuestas a 21 °C y con viento, por el mismo período de tiempo, se va a producir una reducción en la tasa de crecimiento y una disminución en la tasa de supervivencia. Si la extracción de las plantas se realiza con temperaturas superiores a los 31 °C y con viento, la pérdida de agua de

éstas es cercana al 75% con lo que se produce mortalidad. Si las condiciones del sitio a forestar son las adecuadas, la faena de plantación se debe realizar apenas las plantas son extraídas del vivero, en caso de no poder realizar la plantación en forma inmediata, después de cosechar las plantas deben ser almacenadas (Escobar, 1994).

El tipo de almacenaje dependerá del tiempo que las plantas deban esperar para ser llevadas a terreno. Si las plantas deben permanecer unos pocos días almacenadas, basta con que sean refrigeradas. Ahora, si la permanencia es de varias semanas o meses es necesario frigorizarlas (Stoekeler y Jones, 1957).

Cea (1993), determinó que en plantas de pino radiata, cosechadas en junio, la frigorización durante 15 días no afecta la tasa de supervivencia y crecimiento inicial.

Ritchie (1987) indica que 2 meses de almacenamiento para plantas que son cosechadas en otoño y principio de primavera es beneficioso; por el contrario, seis meses rara vez es positivo cuando la cosecha se realiza en forma tardía en primavera o invierno.

1.5 Estado sanitario de las plantas

Durante el almacenamiento, la condición de las plantas puede variar mucho debido a la acción de hongos patógenos.

La relación de estos cambios está estrechamente relacionada con el ambiente del almacenamiento, en otras palabras, por factores como temperatura y humedad relativa (Burdett et al., 1994).

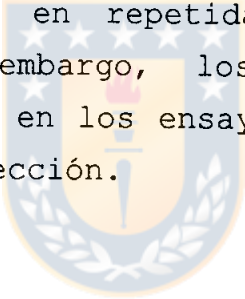
Por lo general, las plantas de coníferas son almacenadas entre 0 y 3 °C, ya que las bajas temperaturas reducen la respiración e inhiben el desarrollo de hongos que dañen a la plantas (McCreary, 1987). Sin embargo, las plantas que no se encuentran en dormancia al momento de ser almacenadas estarían más susceptibles al ataque de mohos, ya que continuarían con el consumo de las reservas alimenticias (Edgren, 1984).

Según Navratil, (1978) citado por Cea, (1993), el potencial daño por efecto de bacterias y hongos existe cuando la temperatura de almacenaje no es mantenida bajo los 2 °C. Almacenar plantas entre 1 - 2 °C reduciría el daño debido a una severa limitación del crecimiento de la mayoría de los hongos. Hee en 1987, citado por Cea, (1993), señala que los efectos perjudiciales provocados por mohos y hongos son mayores a una temperatura de 2 °C que a -2 °C.

Las plantas que son almacenadas por largos períodos de tiempo están propensas al daño por mohos. El grado de infección depende de varios factores, tales como el tipo y duración del almacenamiento, condición fisiológica de las plantas antes de ser almacenadas y el grado de inoculación que presenten con esporas de hongos como *Botrytis cinerea* y *Rhizoctonia solani*. (Burdett y Simpson, 1984). De igual forma, Jakabffy (1975), citado por Cea, (1993), indica la relación existente entre la intensidad del ataque de hongos con la longitud del tiempo de almacenaje, señalando que el ataque aumenta en la medida que lo hace el almacenamiento, especialmente durante la parte final del período.

Por otra parte, los hongos de almacenamiento de plantas producidas a raíz cubierta son diferentes a los que atacan a plantas producidas a raíz desnuda, caso en el cual solamente uno o dos hongos están comprometidos ; *Botrytis cinerea* y en algunos casos *Rosellinia*. Estos hongos pueden establecerse durante la etapa de crecimiento de las plantas y continuar su desarrollo después que éstas hayan sido almacenadas (Rose et al., 1989).

De acuerdo a lo señalado por Rose et al. (1989), en la mayoría de los intentos por controlar los hongos durante el almacenamiento se utilizan fungicidas sistémicos, de protección o los dos en repetidas ocasiones antes del almacenamiento. Sin embargo, los resultados han sido erráticos, en especial en los ensayos que se han utilizado los fungicidas de protección.



II MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Ubicación del estudio.

El estudio se realizó en los Laboratorios de Fisiología de Árboles y de Semillas de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción.

2.2 Descripción del estudio.

El estudio evalúa el efecto del almacenamiento en frío en plantas de *Pinus radiata* D. Don sobre atributos que predicen la calidad de éstas. El almacenamiento se realizó bajo dos regímenes de temperaturas; 3 y -3 °C; por tres períodos de tiempo; 15, 30 y 45 días.

La evaluación del efecto del almacenamiento sobre las plantas se realizó mediante la determinación del potencial de crecimiento radicular (PCR), potencial hídrico (PH), conductividad electrolítica (CE) y contenido de carbohidratos solubles (CCS).

Para realizar el estudio se utilizaron 3564 plantas producidas por macropropagación a raíz desnuda, provenientes del vivero Colicheu, propiedad de Forestal Mininco S.A., ubicado en el fundo Colicheu, Cabrero.

Para homogeneizar el material se extrajeron plantas con diámetro de cuello de 8 mm aproximadamente con una altura promedio de 30 cm, y que fueron sometidas a las mismas técnicas de manejo en vivero. Al momento de ser cosechadas, las plantas contaban con 238 horas frío, que corresponde a la exposición de las plantas a temperaturas inferiores a

10°C por el lapsus de tiempo ya mencionado (René Escobar¹). Las raíces fueron bañadas con gel y cubiertas con paños de celulosa para evitar la pérdida de humedad. Las plantas fueron transportadas en cajas plantadoras, dentro de un camión refrigerado a 5 °C. En el laboratorio de Fisiología de Arboles se almacenaron por 24 h a 5 °C, con el fin de acondicionarlas para el almacenamiento a 3 y -3 °C.

Transcurridos 15 días de almacenamiento, se retiraron 248 plantas de las cámaras de almacenamiento para realizar las evaluaciones de las variables de interés. Además, se retiraron 200 plantas de cada cámara para ser llevadas a terreno. Del mismo modo se procedió a los 30 y 45 días de iniciado el almacenamiento.

2.2.1 Almacenaje de plantas. El almacenamiento se realizó en dos cámaras de frío, una se mantuvo a 3 °C y la otra a -3 °C, con una humedad relativa cercana al 75% en ambos casos.

Las plantas fueron embaladas y almacenadas en bolsas de papel kraft y cubiertas por una bolsa plástica (Cea, 1993). El almacenamiento se realizó a las 24 h. de haber llegado las plantas al laboratorio. Dentro de las cámaras se mantuvieron en repisas de madera y cada 2 semanas se iban moviendo para airearlas.

Producto de las distintas variables respuestas a evaluar y de la cantidad de plantas que cada una de las pruebas requería se embalaron paquetes de 20 y 22 plantas.

¹ René Escobar R. 1997. Docente del Departamento de Silvicultura, Facultad de Ciencias Forestales, Universidad de Concepción. Comunicación personal.

2.2.1.1 Estado sanitario de las plantas durante el almacenamiento. Antes de ser cosechadas la plantas fueron sometidas a 2 aplicaciones de fungicida sistémicos de pre - cosecha para evitar el ataque de hongos que se encuentran en el medio ambiente. Al momento de ser almacenada las plantas se encontraban en óptimas condiciones morfológicas y sanitarias.

2.2.2 Duración del ensayo. El ensayo tuvo una duración de dos meses y medio, extendiéndose desde mayo hasta mediados de julio.

2.3 Medicion de las variables respuestas.

2.3.1 Evaluación del ensayo de PCR. La determinación del PCR se llevó a cabo en el laboratorio de Fisiología de Arboles de la Facultad de Ciencias Forestales. Para ello, las plantas utilizadas fueron sometidas a lavado del sistema radicular y posterior eliminación de raíces no suberizadas cuando éstas se presentaron (Peña ,1996; Santibañez ,1997 y Mendoza ,1997). Durante el tiempo que duró este proceso las plantas se mantuvieron en baldes con agua para evitar pérdidas de humedad. Luego, fueron puestas en una cámara de crecimiento radicular con sistema aeropónico o de llovizna que permaneció a una temperatura constante de 22 °C. La duración y frecuencia de los baños de agua atomizada fue de 10 segundos y 6 minutos respectivamente (Peña, 1996). La evaluación del PCR se realizó siguiendo la metodología propuesta por Ritchie y Tanaka (1990). Las variables consideradas en este estudio fueron:

- Número de raíces nuevas: A través de censo de las raíces no suberizadas, que se caracterizan por ser de color blanco.
- Largo de raíces: Se mide la longitud de las tres raíces más largas, de magnitud igual o superior a 0.5 cm. La precisión con la que se midió fue de 0.1 cm.

Para este ensayo se utilizó 1 paquete de 20 plantas, para cada uno de los tratamientos del estudio.

2.3.2 Evaluación de la Conductividad Electrolítica (CE).

Para determinar la CE se utilizaron las instalaciones del laboratorio de Semillas de la Facultad de Ciencia Forestales, y se empleó la metodología utilizada por el OFRI (Ontario Forest Research Institute) que consiste en ocupar los primeros 2 a 3 cm del ápice de cada planta (Sampson, 1994). Cada ápice cortado se introdujo en un recipiente individual que contenía 80 ml de agua desionizada. Después de 24 horas de reposo, se midió la conductividad electrolítica a cada muestra con un conductímetro marca Eijkelkam modelo pH/CH 18-36, para luego ser llevadas a un horno, Kotterman, a 90 °C por 4 horas. Pasadas las 4 horas, se dejaron reposar por otras 24 horas. Finalmente se volvió a medir la conductividad a cada muestra.

De este modo, la conductividad electrolítica es expresada como una conductividad relativa, ya que relaciona la conductividad medida antes y después de la aplicación de alta temperatura en el horno, mediante la siguiente relación matemática:

$$CR = (CE_1/CE_2) \times 100$$

Para determinar si las plantas presentaron daño fisiológico, se utilizó el índice señalado por Sampson (1994) que establece para conífera, como valores normales de conductividad relativa bajo 10 % y presencia de daño severo, a nivel celular, sobre el 20 %.

Para la evaluación de la CE se utilizaron 2 paquetes de 20 plantas cada uno por tratamiento.

2.3.3 Evaluación de contenido de Carbohidratos solubles.

(CS). Los carbohidratos solubles se evaluaron en el laboratorio de Semillas de la Facultad de Ciencia Forestales, mediante el método de fenol sulfúrico descrito por Ríos (1985), basado en la hidrólisis del almidón u otros carbohidratos complejos a monosacáridos, los que al reaccionar con el compuesto dan una determinada coloración.

Para la obtención de las muestras se extrajo 1 gramo de follaje de las plantas de pino que constituían la unidad muestral, el que fue cortado en trozos de aproximadamente 0.5 cm de longitud, luego fué depositado en un mortero de porcelana donde fue macerado junto a 50 ml de agua des-ionizada. Esta mezcla fue filtrada para separar los residuos de la solución acuosa que contenía a los carbohidratos de interés. La solución fue almacenada a -20 °C , en frascos esterilizados, hasta ser utilizada. Para preservar las muestras libres de patógenos a cada frasco se le incorporaron pequeños cristales de timol.

Haciendo uso de micropipetas Eppendorf, de cada uno de los frascos se extrajeron 0,1 ml de muestra, que fueron

mezclados con 1,9 ml de agua des-ionizada, 0,05 ml de fenol (C_6H_6O) al 80% y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4). Después de 30 minutos, las mezclas fueron puestas en tubos de medición, obteniendo tres repeticiones por tratamiento, para determinar la absorvancia de cada una de ellas. La medición de ésta se realizó utilizando un espectrofotómetro marca GBC, a una longitud de onda de 490 nm. El valor de absorvancia obtenido fue llevado a la curva patrón de sacarosa, obteniendo así la cantidad de carbohidratos solubles en cada muestra expresados en mg/gpf.

Para la determinación de esta variable respuesta se utilizó un paquete de 20 plantas para cada tratamiento.

2.3.4 Evaluación del Potencial Hídrico (PH). Para determinar el PH se utilizaron las instalaciones del laboratorio de Fisiología de árboles de la Facultad de Ciencias Forstales, 2 paquetes de 22 plantas por tratamiento y se siguió el método de la cámara de presión descrito por Scholander et al. (1965), citado por Peña (1996).

La determinación del PH, se realizó cortando los primeros 10 cm, aproximadamente, de cada una de las 11 plantas que constituían la unidad muestral. La muestra obtenida se colocó dentro de la cámara dejando afuera el extremo cortado, expuesto a la presión atmosférica. Luego, la presión de la cámara fue aumentada lentamente, hasta que el agua contenida en el xilema fue forzada a salir por la superficie cortada. El PH fue expresado en megapascales, con una precisión de 0.02 unidades.

2.4 Diseño experimental

Para el análisis de los resultados se utilizó un diseño factorial de dos factores con cuatro repeticiones (Steel et al. 1988) para cada una de las variables respuestas a evaluar. Los factores fueron días de almacenaje (15, 30 y 45) y temperatura de almacenamiento (3 y -3°C)

2.5 Tratamientos.

El estudio constó de 6 tratamientos, que corresponden a la combinación de los factores tiempo y temperatura de almacenaje, más el tratamiento testigo (Ta;0). El tratamiento testigo corresponde a un set de plantas al que se le midieron las 4 variables respuestas analizadas, el día que las plantas llegaron al laboratorio.

En la tabla 1, se presentan los tratamientos evaluados en el estudio. A cada uno de ellos se le evaluaron las 4 variables respuestas en cuatro oportunidades.

Tabla 1. Tratamientos utilizados en el ensayo.

Días de almacenamiento	Temperatura de almacenaje (°C)		
	T.ambiente	3	-3
0	Ta;0	-	-
15	-	T3;15	T-3;15
30	-	T3;30	T-3;30
45	-	T3;45	T-3;45

Donde:

Ta;0 corresponde a plantas que permanecieron a temperatura ambiente (control).

T3;15 corresponde a plantas almacenadas a 3°C por 15 días.

T3;30 corresponde a plantas almacenadas a 3°C por 30 días.

T3;45 corresponde a plantas almacenadas a 3°C por 45 días.

T-3;15 corresponde a plantas almacenadas a -3°C por 15 días.

T-3;30 corresponde a plantas almacenadas a -3°C por 30 días.

T-3;45 corresponde a plantas almacenadas a -3°C por 45 días.

2.6 Análisis estadístico.

Los datos recopilados fueron evaluados mediante un análisis de varianza correspondiente al diseño utilizado. Como en algunas variables respuesta se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos, éstas se identificaron a través del test de comparaciones múltiples de Tukey (Steel et al. 1988), con un 95% de confianza.

2.6.1 Análisis estadístico para la Conductividad Electrolítica Relativa (CER). En el modelo de análisis de varianza se trabajó con el logaritmo de la conductividad electrolítica relativa (Log CER), ya que la CER es una proporción (G. Hofmann²). De este modo se logró normalizar los datos e igualdad de varianza en los grupos.

² Glenn Hofman, 1998. Docente departamento de estadística, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas de la Universidad de Concepción. Comunicación personal.

III Resultados y discusión.

3.1 Efecto del almacenamiento en frío sobre el Potencial Hídrico (PH).

En la figura 1, se puede observar como el potencial hídrico disminuye lentamente en el tiempo y es menor, en valor absoluto, en las plantas que fueron sometidas a almacenamiento a 3 °C.



Figura 1. Comportamiento del potencial hídrico (Mpa) en plantas de *Pinus radiata*, almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes períodos de tiempo.

En la figura se observan las diferencias existentes en el potencial hídrico, tanto para el factor temperatura como para los días de almacenaje. Las plantas almacenadas a 3°C presentan menor potencial hídrico que las que permanecieron a -3 °C. Estas, en los primeros días de almacenamiento mantuvieron una condición hídrica muy similar al control, en la medida que fueron aumentando los días de almacenamiento fue disminuyendo su contenido de humedad,

pero sin alcanzar los valores de las plantas almacenadas a -3°C .

Las plantas almacenadas a -3°C se encuentran en mejores condiciones hídricas que las almacenadas a 3°C . Sin embargo, dicha condición se va igualando en la medida que aumentan los días de almacenamiento. También se puede apreciar que, si bien las plantas almacenadas en condiciones de refrigeración presentan valores de potencial hídrico más bajos, éstos a partir de los 30 días de almacenamiento se mantienen constantes, a diferencia de las plantas sometidas a almacenamiento a -3°C , que en la medida que van aumentando los días de almacenamiento se va produciendo una mayor deshidratación.

Los resultados obtenidos concuerdan plenamente con lo señalado por Ritchie (1987), quien indica que el estado hídrico que posee una planta debiera ir disminuyendo en la medida que aumenta el tiempo de almacenamiento.

De la tabla de resultados (tabla 8A, en apéndice), se puede indicar, basándose en las pautas de calidad de plantas propuestas por N.Z.F.R.I. (1988), citado por Peña (1996), que las plantas almacenadas a -3°C , en su totalidad, junto con las T3;15, presentan una apariencia morfofisiológica óptima y T3;30 al igual que T3;45, podrían alcanzar un rendimiento menor al ser llevadas a plantación.

El potencial hídrico que presentan las plantas almacenadas a 3°C ($-0,5$ Mpa), de acuerdo a los resultados obtenidos por Peña (1996), corresponde el máximo valor hasta el cual

puede descender el contenido de humedad de la planta sin comprometer su potencial de crecimiento radicular.

3.2 Efecto del almacenaje en frío sobre la conductividad electrolítica.

En la figura 2, se presenta el comportamiento de la conductividad electrolítica relativa para los distintos tratamientos.



Figura 2. Valores promedios de la conductividad electrolítica relativa (%), para cada uno de los tratamientos.

En la figura se observa que existe una clara diferencia entre las dos temperaturas de almacenaje. Los valores de CE de plantas almacenadas a -3°C , son significativamente más altos que los que presentan las plantas almacenadas a 3°C . Se aprecia que las plantas del tratamiento T-3;15

son las que se ven más afectadas llegando incluso a sobrepasar el valor de 20 % de conductividad electrolítica a partir del cual, de acuerdo a lo establecido por Sampson et al. (1994), los tejidos celulares sufren daños irreparables que pueden comprometer la supervivencia de las plantas y posterior desarrollo.

La diferencia significativa que existe entre las dos temperaturas de almacenaje, concuerda con lo señalado por diversos autores que señalan que las plantas almacenadas en condiciones de refrigeración (3°C) presentan una mejor condición que las almacenadas en condiciones de frigorización (-3°C) (Nelson, 1980; DeWalt et al. 1988).

En cuanto a las plantas almacenadas a 3°C, los valores muestran que se mantiene una conductividad electrolítica relativamente baja, siendo la más alta la del tratamiento T3;30, que corresponde a las plantas almacenadas por 30 días. Estas plantas, al momento de ser extraídas de la cámara de refrigeración, presentaban claros signos de *Botritis* sp., lo que podría estar explicando su comportamiento. A igual determinación llegan Barnett et al. (1988) en estudios realizados en almacenamiento refrigerado de diferentes especies de pino, donde la infestación con hongos muestra un daño a nivel celular expresado por altos niveles de CE.

Además, se observa que la tendencia de la conductividad, a las dos temperaturas de almacenaje, es creciente en el tiempo hasta los 30 días, y que existen diferencias entre los distintos tiempos de almacenamiento. Las plantas almacenadas por 30 y 45 días bajo condiciones de

refrigeración, tienen mayor valor de conductividad electrolítica, (96,3% y 55,3% respectivamente), que las almacenadas por 15 días, ya que están por más tiempo expuestas a condiciones extremas, lo que concuerda con lo señalado por Ezell et al. citado por Li (1997), haciendo referencia a estudios de almacenamiento de plantas de pinos de distintas especies, con las mismas condiciones de embalaje y dormancia que las plantas utilizadas en éste estudio.

En general, se aprecia que las plantas sin almacenamiento, que constituyen el tratamiento contro, presentan un menor valor de conductividad electrolítica que las refrigeradas, contrario a lo determinado por Feijoo (1997). Esta diferencia se podría deber a que Feijoo mantuvo las plantas a temperatura ambiente por 96 horas, en cambio en éste estudio las plantas permanecieron sólo por 6 horas a temperatura ambiente. Esto implica que fueron expuestas por una menor cantidad de tiempo a condiciones desfavorables, lo que acarrea un menor daño celular, lo que se traduce en una menor CE.

3.3 Efecto del almacenamiento en frío sobre el contenido de carbohidratos solubles (CS).

En la figura 3 se presenta la cantidad de carbohidratos solubles (mg/gpf), para cada uno de los tratamientos evaluados en el estudio.

De la figura se desprende que las plantas almacenadas a -3°C , presentan una menor concentración de carbohidratos solubles que las almacenadas a 3°C , pero esta diferencia se va estrechando en la medida que aumentan la cantidad de

días de almacenamiento. También se puede observar que las plantas que permanecieron a temperatura ambiente, que corresponden al set de plantas del tratamiento testigo o control ($T_a:0$), presentan mayores niveles de carbohidratos solubles que las plantas almacenadas por 15 días; un 13,3 % más que las que permanecieron a 3 °C y un 18,2 % que las que lo hicieron a -3 °C .

La brusca disminución en los de carbohidratos solubles pasados 15 días de almacenaje, podría deberse a una rápida traslocación de estos metabolitos hacia puntos de mayor actividad metabólica (Ríos, 1998³)

Se observa que no existen diferencias significativas en las concentraciones de carbohidratos para las distintas temperaturas de almacenaje, pero si las hay entre los distintos días de almacenamiento.

El análisis estadístico de ésta variable, señala que no existen diferencias significativas en la concentración de carbohidratos totales para el factor temperatura. En cambio, se verifican diferencias significativas, con un 95 % de confianza, entre los períodos de almacenaje, siendo más significativa la diferencia entre las plantas almacenadas por 15 y 45 días. También existen diferencias significativas entre las que permanecieron almacenadas por 15 días versus las de 30 y, entre el tratamiento control (plantas a temperatura ambiente) con las de 15 días de permanencia en frío.

³ Ríos D. 1998. Docente de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad de Concepción. Comunicación personal.

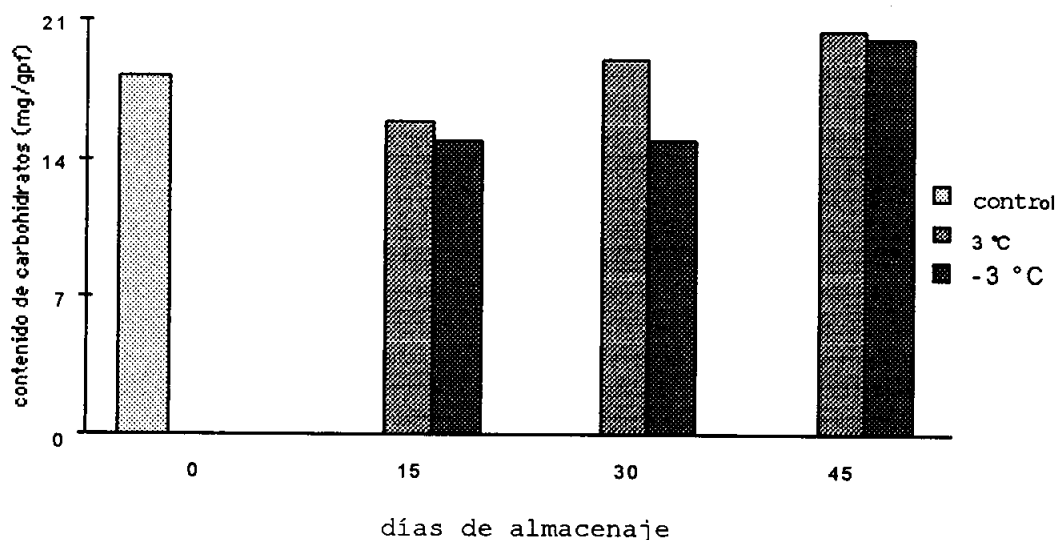


Figura 3. Contenido de carbohidratos solubles en plantas de *Pinus radiata*, almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes periodos de tiempo.

Estos resultados difieren de los encontrados por Ritchie (1987) quien obtuvo mayores niveles de carbohidratos en plantas de pino oregón almacenadas a -2°C que las que permanecieron sobre los 0°C . Esta diferencia en los resultados podría ser explicada por las distintas condiciones de los ensayos y especies trabajadas. Sin embargo, nuestros resultados concuerdan por lo expresado por Marshall (1984), quien indica que plantas que presenten una mayor concentración de carbohidratos también presentan una mayor capacidad de originar raíces nuevas, situación que ocurre con las plantas de este estudio, ya que aquellas que permanecieron almacenadas a 3°C presentan un mayor PCR que las almacenadas a -3°C . Del mismo modo, se relaciona la cantidad de carbohidratos solubles con el potencial hídrico de las plantas, encontrándose más hidratadas aquellas

almacenadas a -3°C , las que además, contienen una menor cantidad de carbohidratos que las almacenadas a 3°C . Esta situación es producto de que la presencia de cualquier sustancia disuelta en el agua disminuye su potencial (Bidwell, 1993), por lo tanto, al tener una mayor cantidad de carbohidratos solubles en la solución acuosa menor es el potencial hídrico.

El hecho de que exista un aumento en la concentración de carbohidratos totales en la medida que aumenta la cantidad de días de almacenamiento podría ser explicada por la acción de las enzimas hidrolíticas, entre ellas las α -amilasas, las que se activan a temperaturas inferiores a los 10°C , comenzando con los procesos de desdoblamiento de azúcares del tipo oligosacaridos (Alberdi, 1998⁴).

3.4 Efecto del almacenamiento en frío sobre el Potencial de Crecimiento Radicular (PCR).

En la figura 4 se presentan los valores de PCR, relativo al número de raíces nuevas, obtenidos para plantas almacenadas a 3°C y -3°C por 15, 30 y 45 días, junto con el valor obtenido para el tratamiento control.

La figura muestra que existen claras diferencias en el número de raíces en los diferentes tratamientos, siendo las plantas del tratamiento control, que permanecieron a temperatura ambiente, quienes presentan más alto PCR. Este es un 13,2% más que el de las plantas que se almacenaron por 15 días a 3°C , y un 73% superior al presentado por las almacenadas por 30 días. Las plantas almacenadas a -3°C son

⁴ Alberdi, M. 1998. Docente del Instituto de Botánica. Universidad Austral de Chile. Comunicación personal.

afectadas negativamente, ya que ninguna de las plantas de los tratamientos a ésta temperatura presentó raíces. Este resultado es antagónico a lo planteado por Ritchie (1982), citado por Li (1997), quien señala que las plantas almacenadas en condiciones de frigorización debieran presentar un mayor número de raíces nuevas que las almacenadas en condiciones de refrigeración. Esta situación podría deberse al hecho de que al momento de almacenar las plantas, éstas estaban fisiológicamente activas, había crecimiento radicular y sólo contaban con 238 horas frío acumuladas y no las 400 h. requeridas para realizar el almacenaje, (Ritchie, 1985). Este autor determina que la fecha de extracción de las plantas del vivero interactúa con la duración del tiempo del almacenaje en frío, impactando al PCR.

En el caso de las plantas almacenadas a 3°C, los resultados muestran claras diferencias entre los distintos períodos de almacenamiento, logrando un 69,7% más de raíces nuevas las plantas almacenadas por 15 días. Se observa claramente como decrece el número de raíces nuevas a medida que aumentan los días de almacenamiento. Este comportamiento podría ser explicado por la falta de dormancia de las plantas al momento de ser almacenadas (producida por no contar con las mínima cantidad de horas frío requeridas), por las faenas de manejo realizadas en vivero o, por una combinación de ambos factores. Sería necesario realizar estudios específicos al respecto que nos permitieran dilucidar estas interrogantes.

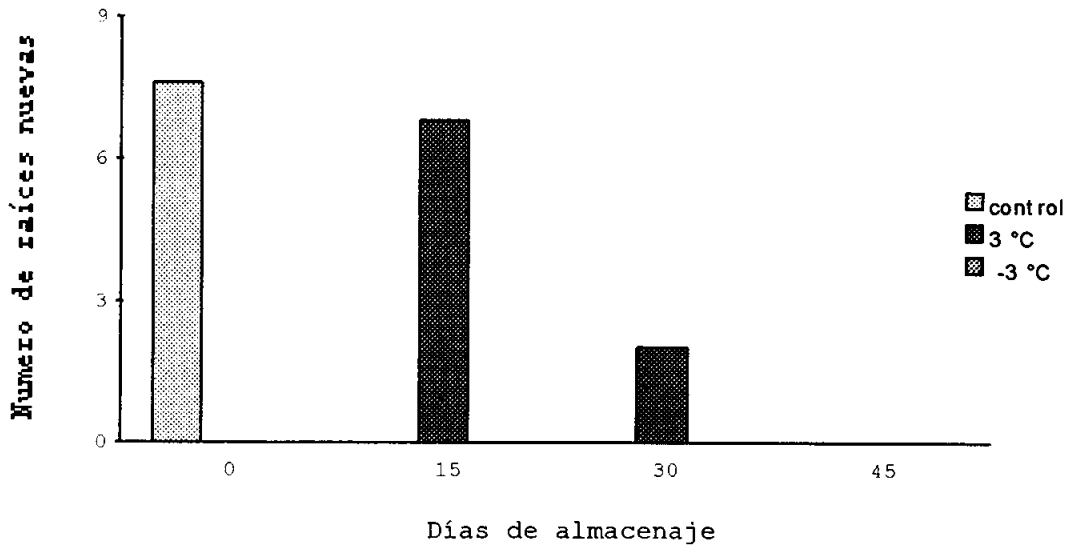


Figura 4. Número de raíces nuevas en plantas de *Pinus radiata* almacenadas a, 3 y -3 °C, por diferentes períodos de tiempo, comparadas con el control.

Las raíces nuevas encontradas en las plantas de los tratamientos Ta;0, T3;15 y T3;30, no tienen más de 1 cm de longitud promedio, por lo que de acuerdo a la metodología propuesta por Burdett (1979) (en anexo 1), citado por Santibañez (1997) y Mendoza (1997) corresponden a plantas categoría 1. El resto de las plantas clasifican en categoría 0; es decir las dos más bajas categorías establecidas para la evaluación de ésta variable.

Los resultados de PCR obtenidos en este estudio son bajos en comparación a los encontrados por Peña (1996) y Mendoza (1997), quienes utilizando la misma metodología que la empleada en éste trabajo, obtuvieron plantas con mayor número de raíces nuevas y de mayor longitud. Esto, en el caso de las plantas almacenadas a -3°C, podría ser explicado por los valores de CE que presentan, los que son

altos y estarían indicando daños irreparables a nivel celular, lo que se traduce en una no expresión del PCR.

Las plantas almacenadas a 3°C, al ser comparadas con las que fueron sometidas a almacenamiento a -3°C, presentan una mayor concentración de carbohidratos solubles. Lo que provoca un menor potencial hídrico, acompañado de un nivel de daño celular más bajo, es decir, menor valor de conductividad electrolítica, y todo lo anterior se expresa, en un mayor potencial de crecimiento radicular.

Para posteriores ensayos de almacenamiento se sugiere utilizar plantas que cuenten con al menos 400 horas frío y que se encuentren en estado de dormancia, con el fin de evitar daños celulares producto de la presencia de tejidos nuevos y metabólicamente activos con que pueda contar la planta al momento de ser llevada a almacenaje.

Además se sugiere utilizar bolsas de almacenaje, que se encuentran en el mercado, ya que mantienen en mejor estado morfofisiológico a las plantas. Mantener una humedad relativa alta dentro de la cámara, ojalá lo más cercano al 100%, es primordial para la futura supervivencia de las plantas, ya que con esto se evitaría la pérdida de agua de los tejidos provocados por las diferencias de humedad entre el medio de almacenaje y el de las plantas.

IV CONCLUSIONES

En plantas cosechadas a inicios del periodo de plantación, el almacenaje frigorizado (-3°C) inhibe el potencial de crecimiento radicular. En almacenaje refrigerado (3°C), el potencial de crecimiento radicular decrece en la medida que aumentan los días de almacenaje.

El almacenaje a -3°C afecta a los valores de conductividad electrolítica de plantas de *Pinus radiata*, mientras que el refrigerado no la afecta.

El potencial hídrico en plantas almacenadas a 3°C fue más bajo que el de las que se almacenaron a -3°C , siendo afectado tanto por la temperatura de almacenaje como por los días de almacenamiento.

El contenido de carbohidratos totales en las plantas de *Pinus radiata* después del almacenamiento en frío, no es afectado por las temperaturas de almacenaje, si no que por los días de almacenamiento, produciéndose un aumento de éstos en la medida que el período de almacenaje fue mayor

Para plantas de *Pinus radiata* sometidas a almacenamiento en frío a 3 y -3°C , existe una relación directa entre los diferentes parámetros morfofisiológicos estudiados.

V RESUMEN

Plantas de *Pinus radiata*, producidas por macropropagación en vivero a raíz desnuda, y que contaban con 238 horas frío acumuladas, fueron almacenadas a 3 y -3°C por 15, 30 y 45 días, con el objeto de conocer el efecto que tienen estas temperaturas sobre la conductividad electrolítica, potencial de crecimiento radicular, contenido de carbohidratos solubles y potencial hídrico, variables que predicen el comportamiento de plantas en terreno.

Los resultados indican que el PCR es afectado significativamente por los factores temperatura de almacenaje y días de almacenamiento, existiendo sólo raíces nuevas, y en baja cantidad, en las plantas que permanecieron a 3°C por 15 y 30 días. La conductividad electrolítica también fue afectada por la temperatura de almacenaje, no así por los días de almacenamiento, encontrándose un mayor nivel de daño en las plantas que permanecieron a -3°C. El potencial hídrico es afectado por ambos factores, encontrándose en mejor condición hídrica las plantas que permanecieron almacenadas a -3°C y por una menor cantidad de días. Los niveles de carbohidratos solubles sólo se ven afectados en forma significativa por los días de almacenaje, aumentando en la medida que lo hacen la cantidad de días que permanecen las plantas en condiciones de frío.

VI SUMMARY

Pinus radiata seedling produced by micropropagation in a nursery, who had 238 accumulated chilling hours, where stored to 3 and -3 °C for 15, 30 and 45 days, with the purpose of determinate the effect of this temperatures on the electrolitic conductivity, radicular potential growing, soluble carbohidrtats contents and hidric potential, variables who predict the behavior of plants in the field.

Results shows that the PCR if significantly affected by the factors storing temperature y number of storing days. There where only new roots and in small quantity in seedlings who where stored at 3 °C for 15 and 30 days. Electrolitic conductivity also was affected by the storing temperature but not by the storign days. There was a greater level of damage in seedling who was stored at -3 °C. The hidric potential is affected by both factors, seedling who where stored at -3 °C and for a less cuantity of days, where in better hidric condition. Soluble carbohidrats levels are significativly affected only by number of storing days, increasing as the number of days that the seedling where stored in cold conditions increase.

VII BIBLIOGRAFÍA

- Barceló, J; Rodrigo, N; Sabater, B y Sánchez, R. 1995. Fisiología Vegetal. Séptima Edición. Ediciones Pirámide, S.A. Madrid, España.
- Barnett J.P.; Brissette, J.C; Kais, A.G y Jones, J.P. 1988. Improving field performance of southern pine seedlings by trating with fungicides before storage. Southern Journal of Applied Forestry 12:281-285.
- Bidwell, R.G.S. 1993. Fisiología Vegetal. Primera edición en español. A.G.F. Editor, S.A. México, D.F., México.
- Burdett, A.N. y Simpson, D.G. 1984. Lifting, grading, packaging and storing. pp:227-233. In: M.L. Duryea y T.D.Landis. Forest Nursery Manual: Production of Bareroot seedling. For.Res. Laboratory, Oregon State University, Corvallis.
- Burr, K.E., Tinus, R.W., Wallner, S.J. y King, R.M. 1990. Comparision of Tree Cold Hardiness Test for Conifer Seedling. Tree Physiology 6: 351-369
- Cea, J. 1993. Almacenamiento en frío de plantas de *Pinus radiata* D.Don y *Eucalyptus globulus* Labill. Tesis de grado. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Silvicultura. Chile.

- Cultural Perspectives. 1997. In: Forest Nursery Notes (1/96) http://willow.nefes.umn.edu/fnn_196/cult_per.htm
- DeWald, L.E. y Feret, P.P. 1988. Changes in Loblolly Pine seedling root and growth potential, dry weight, and dormancy during cold storage. For. Sci.36:1153-1158.
- Edgren, J.W. 1984. Nursery storage to planting hole: a seedling's hazardous journey. pp:235-242. In: M.L. Duryea y T.D.Landis. Forest Nursery Manual: Production of Bareroot seedling. For.Res. Laboratory, Oregon State University, Corvallis.
- Escobar, R. 1994. La planta ideal. Exposición. Silvotecnica IV. Forestal MININCO, Fundación Chile (Ed). Noviembre, 24 -25, 1994. Concepción, Chile.
- Feijoo, F. 1997. Evaluación de deterioro fisiológico de plantas de pino radiata a través de la conductividad electrolítica. Tesis de grado. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Silvicultura. Concepción, Chile.
- Garber, M.P y Mexal, J.G. 1980. Lift and storage practiques: their impact on successful establishment of sothern pine plantations. N. Z. J. For. Sci. 10:72-82.
- Hallam P. y Tibbits, W. 1988. Determination of frost hardiness of Eucalyptus using the electrical conductivity of diffusate in conjunction with a

- freezing chamber. Canadian Journal Forestry Res., 18:598-600.
- Hee, S.M. 1987. Freezer storage practices at weyerhaeuser nurseries. pp. 62-66. In: Proceeding: Combined Western Forest Nursery Council and Intermounta in Nursery Association Meeting. August 12-15, 1986. Tumwater, Washington. USDA For. Ser. USA.
- Hinesley, L.E. 1982. Cold Storage of Fraser fir seedling. For. Sci.28:772-776.
- Koissor, R. 1987. Cold storage of seeds and seedlings and its effects on production techniques. Forestry Abstract.48:326.
- Li, G. 1997. Seedling Storage. Documento internet. En: <http://www.forestry.auburn.edu/coops/sfinmc/class/fy614/storage.html>
- Lopushinsky, W. 1990. Seedling Moisture Status. pp 123-138. In : Rose, R., Campell, S.J. y Landis T.D. (Eds) Target Seedling Symposium: Proceeding Combined Meeting the Western Forest Nursery Associations. 13-17 August 1990. Roseburg, Oregon. USDA For. Serv. Rocky Mt.For. and Range Expt. Stn., Fort Collins, Colorado,USA.
- Marshall, J.D. 1984. Carbohydrate status as a measure of seedling quality. pp:49-58. In: Evaluating seedling quality:principes, procedures, and predictive

- abilities of major test. Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis, U.S.A.
- Mathews, S. y A. Powell. 1981. Ensayo de conductividad eléctrica. In: Manual de Métodos de Ensayos de Vigor. Instituto Nacional de Semillas y Plantas de Vivero.
- Mattsson, A. 1986. Planting site storage: effects on survival and growth of overwinter-stored Scots pine *Pinus sylvestris* containerized seedlings. Forest researche, 16:84-89.
- Mendoza, A. 1997. Influencia de la temperatura en el potencial de crecimiento redicular en plantas de *Pinus radiata*, *Eucalyptus nitens* y *Eucalyptus globulus*. Tesis de grado. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Silvicultura. Concepción, Chile.
- McCracken, J. 1979. Changes in the carbohydrate concentration of pine seedlings after cool storage. Forest science. 9:34-43.
- McCreary, D.D. 1984. Using a pressure chamber to detect damage to seedlings accidentally frozen during cold storage. pp: 58-60. In: The challenge of Producing Native Plants for the Intermountain Área. Proccedings: Intermountain Nurseryman`s Association 1983 Conference. August 8-11, 1983. Las Vegas, Nevada. USDA For. Serv. Report INT-168.

- McKay, M. y Mason, W. 1991. Physiological indicators of tolerance to cold storage in Sitka spruce and Douglas-fir seedlings. *Forest Research*. 21:890-901.
- Mullin, R.E y Bunting, W.R. 1972. Refrigerated overwinter storage of nursery stock. *Journal Forestry*. 70:354358.
- Nelson, E.A. 1980. Survival of Western Hemlock seedling after cold storage. *Tree Planter's Notes* 31:21-24.
- Peña, I. 1996. Potencial de crecimiento radicular de plantas de *Pinus radiata* D. Don con diferente potencial hídrico. Tesis de grado. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Silvicultura. Concepción, Chile.
- Raymond, C.A; Harwood, C.E y Owen, J.V. 1986. A Conductivity Method for Screening Populations of Eucalyptus for Frost Damage and Frost Tolerance. Division of Forest Research, CSIRO. Canberra. Australia.
- Ríos, D. 1985. Resistencia al frío en hojas de *Nothofagus dombeyi* Mirb. Oertes y su relación con el contenido de carbohidratos. Tesis de Magister en Ciencias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile.
- Ritchie, G.A. 1983. Carbohydrate reserves and root growth potential in Douglas-fir seedlings before and after cold storage. *For. Abstr.* 44:401-402.

- Ritchie, G.A. 1985. Root growth potencial: Principles, procedures and predictive ability. pp:93-105. In: Forest Research Laboratory, Oregon State University, Corvallis. USA.
- Ritchie, G.A. 1987. Some effect of cold storage on seedling physiology. pp:57-61. In: Proceeding: Combined Western Forest Nursery Council and Intermountain Nursery Association Meeting. August 12-15, 1986. Tumwater, Washington. USDA For. Ser. USA.
- Ritchie, G.A. y Tanaka. 1990. Root Growth Potential and the Target Seedling, pp:37-51. In: Rose, R.; Campbell, S.J. y T. Landis (Eds). Target Seedling Symposium: Proceeding Combined Meeting the Western Forest Nursery Associations. 13-17 August 1990. Roseburg, Oregon. USDA For. Serv. Rocky Mt.For. and Range Expt. Stn., Fort Collins, Colorado,USA.
- Rose, R.; Sutherland, J.R.; Shirimpton, G.M. y Sturrock, R.N. 1989. Moulding of Stored Seedlings. pp:38-39. In: Diseases and Insects in British Columbia Forest Seedlings Nueseries. Nursery Technology Cooperative. Report IRDA - 65. Departament of For. Sci., Clooega of Forestry, Oregon State University, Corvallis.
- Rose, R.; Campbell, S.J. y Landis T. 1990. Target Seedling Symposium. In: Proceeding Combined Meeting the Western Forest Nursery Associations. 13-17 August 1990. Roseburg, Oregon. USDA For. Serv. Rocky Mt.For. and Range Expt. Stn., Fort Collins, Colorado,USA.

Sampson, P. 1994. Exposición. Silvotecnica IV. Forestal MININCO, Fundación Chile (Ed). Noviembre, 24-25, 1994. Concepción, Chile.

Santibáñez, C. 1997. Efecto del esquema de manejo en vivero, sobre el potencial de crecimiento radicular de plantas de *Eucalyptus globulus* Labill. Tesis de grado. Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Forestales. Departamento de Silvicultura. Concepción , Chile.

Steel, R. y Torrie, J. 1988. Principles and procedures of statistics. Mac. Graw - Hill. New York, U.S.A.

Stoeckeler, J.H. y Jones, G.W. 1957. Packaging, shipping weigth of trees, and storage and shipment of nursery stock. pp:104-110. In: Forest Nursery Practice in the Lake State. USDA Agric. Handb. N° 110.

VIII APENDICE

8.1 Tablas de análisis de varianza para potencial de crecimiento radical.

1A Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor temperatura.

temperatura	ta	3°C	-3°C
ta	1.00000		
3°C	0.10622	1.00000	
-3°C	0.3953	0.30717	1.00000

2A Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor días de almacenaje.

días de almacenaje	0	15	30	45
0	1.00000			
15	0.64480	1.00000		
30	0.37976	0.84455	1.00000	
45	0.29928	0.68011	0.98283	1.00000

8.2 Tablas de análisis de varianza para contenido de carbohidratos solubles.

3A Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor temperatura.

temperatura	ta	3°C	-3°C
ta	1.00000		
3°C	0.96764	1.00000	
-3°C	0.92998	0.99638	1.00000

4A Matriz de comparación múltiple de medias de Tukey, con resultados en porcentaje, para el factor días de almacenaje.

días de almacenaje	0	15	30	45
0	1.00000			
15	0.01359	1.00000		
30	0.91764	0.00951	1.00000	
45	0.04203	0.00194	0.06939	1.00000

8.3 Tabla de análisis de varianza para potencial hídrico.

5A Tabla de ANOVA para los tratamientos.

efecto	sum.cuad	gl	cuad.medio	F	p
temp.	1.83001	1	1.83000	156.974	0.0000
tiempo	0.72227	2	0.36113	30.9777	0.0000
interac	0.03419	2	0.01709	1.46645	0.2326
error	3.00774	258	0.01165		



8.4 Tablas de análisis de varianza para conductividad electrolítica.

6A Tabla de ANOVA para los tratamientos.

efecto	sum.cuad	gl	cuad.medio	F	p
temp.	85.1698	1	85.1698	343.117	0.0000
tiempo	1.44884	2	0.72441	2.91840	0.0560
error	57.5879	232	0.24822		

7A Tabla de ANOVA para las temperaturas de almacenaje.

efecto	sum.cuad	gl	cuad.medio	F	p
tiempo	4.09264	3	1.364213	7.992121	0.00005
error	26.45768	155	0.170695		

8.5 Tablas de resultados para los distintos atributos estudiados.

8A Valor del potencial hídrico (Mpa), en plantas de *Pinus radiata* almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes períodos de tiempo.

Temperatura de almacenaje	Días de almacenamiento			
	0	15	30	45
T.ambiente	-0.24	-	-	-
3 °C	-	- 0.49	-0.51	-0.51
-3 °C	-	- 0.28	- 0.39	- 0.41

9A Valores promedio de conductividad electrolítica relativa, para las distintas temperaturas y períodos de almacenaje.

Temperatura de almacenaje	Días de almacenamiento			
	0	15	30	45
T.ambiente	3,34	-	-	-
3 °C	-	3,25	6,38	5,05
-3 °C	-	20,83	11,40	11,85

10A Contenido de carbohidratos solubles (mg/gpf) para plantas de *Pinus radiata* almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes periodos de tiempo.

Temperatura de almacenaje (°C)	Días de almacenamiento			
	0	15	30	45
3	-	15,7	18,9	20,2
-3	-	14,8	17,9	20,1
T.ambiente	18,1	-	-	-



11A Número de raíces nuevas en plantas de *Pinus radiata*, almacenadas a diferentes temperaturas por diferentes periodos de tiempo.

Temperatura de almacenamiento	Días de almacenamiento			
	0	15	30	45
T.ambiente	7,6	-	-	-
3 °C	-	6.6	2.0	0
-3 °C	-	0	0	0

IX ANEXO

Tabla 1b. Escala semicuantitativa para evaluar potencial de crecimiento radicular, propuesta por Burdett (1979).

Categoría	Característica
0	No existen raíces nuevas
1	Algunas raíces nuevas no mayores a 1 cm de largo
2	1 - 3 raíces nuevas mayores a 1 cm de largo
3	4 - 10 raíces nuevas mayores a 1 cm de largo
4	11 - 30 raíces nuevas mayores a 1 cm de largo
5	Más de 30 raíces nuevas mayores a 1 cm de largo

