

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFFECTO DE DISTINTAS FECHAS DE PODA SOBRE LA BROTACIÓN Y TIEMPO
A ENVERO EN VIDES DE CABERNET SAUVIGNON**

VALERIA CONSTANZA CONCHA MENESES

Santiago, Chile.
2015

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE PREGRADO

MEMORIA DE TÍTULO

**EFECTO DE DISTINTAS FECHAS DE PODA SOBRE LA BROTACIÓN Y
TIEMPO A ENVERO EN VIDES DE CABERNET SAUVIGNON**

**EFFECT OF DIFFERENT PRUNING DATES ON BUDBURST AND TIME TO
VERAISON OF CABERNET SAUVIGNON VINES**

VALERIA CONSTANZA CONCHA MENESES

Santiago, Chile.
2015

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

Efecto de distintas fechas de poda sobre la brotación y tiempo a envero en vides de Cabernet Sauvignon

Memoria para optar al título profesional de
Ingeniero Agrónomo

VALERIA CONSTANZA CONCHA MENESES

	Calificaciones
PROFESORES GUÍAS	
Sr. Claudio Pastenes V. Ingeniero Agrónomo, Ph. D.	7,0
Sra. Karen Sagredo U. Ingeniera Agrónomo, Ph. D.	6,6
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Rodrigo Callejas R. Ingeniero Agrónomo, Dr. Sc. Agr.	6,0
Sr. Mauricio Galleguillos T. Ingeniero Agrónomo, M.S. Dr.	6,8

Santiago, Chile.
2015

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradecer a mis padres, Gema y Gregorio, por la oportunidad, el apoyo y amor incondicional, por comprometerse con mi educación y formación toda la vida, junto a todos los esfuerzos necesarios para llevarlo a cabo; y por ser un enorme ejemplo de personas, de entrega desinteresada y preocupación por los suyos. A toda mi familia Concha Meneses, por el apoyo, presencia y cariño. A Esteban, amor, por sus consejos, aguante y apoyo en todo este proceso.

Además de encantarme con mi carrera, mi lindo Antumapito me presentó en la vida a grandes personas, de las cuales destaco a mis amigas Camila, Daniela, Fernanda, Nataly y Tania, gracias por los buenos momentos juntas.

Al profesor Claudio Pastenes, por su confianza, paciencia, apoyo y conocimientos entregados; excelente docente y persona. A la profesora Karen Sagredo por sus conocimientos y ayuda. Al LFEV, por la ayuda y sugerencias, que siempre fueron valiosas y acertadas. A los integrantes del Laboratorio Química de Suelos y Aguas, por la ayuda, buena onda y amabilidad de siempre.

Y en general, a todas las personas con quienes me crucé en este camino, ya que fueron parte de mi formación como Ingeniera Agrónoma, y persona.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis	5
Objetivo	5
MATERIALES Y MÉTODOS	6
Lugar de estudio	6
Materiales y métodos	6
Tratamientos y diseño experimental	6
Material vegetal	6
Determinaciones	7
Evolución de las temperaturas durante la temporada	7
Fecha de brotación	7
Fenología	7
Tiempo térmico	7
Características del racimo	8
Análisis estadístico	8
RESULTADOS	9
Temperaturas temporada 2012-2013	9
Fecha de brotación	10
Desarrollo de yemas	13
Fenología de plantas de vid	14
Acumulación de tiempo térmico	16
Características del racimo	17
DISCUSIÓN	20
CONCLUSIONES	23
BIBLIOGRAFÍA	24
ANEXO	28

RESUMEN

Durante el receso invernal, la planta de vid resiste bajas temperaturas, sin embargo esta capacidad disminuye con el advenimiento de la primavera, volviéndose susceptible al daño por frío. Chile, comúnmente se enfrenta a la ocurrencia de heladas primaverales, las cuales perjudican la producción de vides con fines enológicos, tanto en calidad como cantidad, afectando el desarrollo de la yema primaria en estado de brotación, principalmente. En el presente estudio se realizaron cinco podas en fechas distintas con el fin de evaluar el efecto de un retraso en poda sobre la época de brotación. La investigación se llevó a cabo durante la temporada 2012-2013 en la variedad Cabernet Sauvignon en el valle del Maipo, posponiéndose la poda usual (1 agosto) en cuatro fechas, 29 de agosto, 13 y 25 de septiembre, y 10 de octubre. Además, se evaluaron algunas características del racimo, como la relación entre el número de bayas y peso de racimo, número y peso promedio de bayas y la acumulación de sólidos solubles en estas al momento de la cosecha. El retraso en la fecha de poda provocó un atraso en la fecha de brotación, presentando en todos los tratamientos realizados diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p > 0,05$). Las plantas podadas más tardíamente brotaron casi un mes después, respecto al tratamiento testigo, presentando una mayor tasa de retraso, por cada día de atraso en la poda, en relación a los otros tratamientos. A pesar de este desfase en las fechas de brotación, todas las plantas alcanzaron la floración en fechas similares, y posteriormente a enero.

Palabras clave: *Vitis vinífera* L., helada primaveral, retraso brotación, Valle del Maipo.

ABSTRACT

During winter rest, vine resists low temperatures, however, this ability decreases with the advent of spring, becoming susceptible to cold damage. Chile commonly faces the occurrence of spring frosts, which damage the production of vines for oenological purposes, both in quality and quantity, affecting mainly the development of primary bud at the budburst state. The current study evaluated different pruning dates on the effect in the budburst delay. The research was conducted through the season 2012-2013 in the Maipo Valley, where five pruning dates were assessed in Cabernet Sauvignon. The standard pruning date as a control treatment (1th of August), and four following dates were considered as delayed pruning treatments: 29th of August, 13th and 25th of September and the 10th of October. Also, some cluster characteristics were evaluated, such as the relationship for the number of berries and clusters weight, the number of berries and the average weight of berries for different ranges of diameter, and soluble solid concentration in berries at the harvest time. Delaying pruning date caused a delay in the date of budburst (P-value < 0.05). Plants pruned lately in the season burst almost a month later than the control treatment. Furthermore, the rate of delay for those plants pruned lately was higher than to the other treatments. Despite these differences in budburst dates, all plants reached the flowering stage and veraison at the same time.

Key words: *Vitis vinifera* L., spring frost, budburst delay, Maipo Valley.

INTRODUCCIÓN

El ciclo anual de la vid (*Vitis vinifera* L.) se caracteriza por presentar un periodo llamado receso invernal, el cual se extiende desde la caída de hojas hasta brotación, siendo inducido principalmente por los estímulos medio ambientales, disminución de la temperatura y fotoperiodo, ya que estos provocan que el crecimiento activo al interior de la yema comience gradualmente a reducirse (Lavee y May, 1997). En este periodo hay un crecimiento no visible en la planta, las yemas de la vid entran en dormancia, siendo una etapa fundamental para la supervivencia de especies en condiciones climáticas templadas (Hanniem y Tanino, 2011, citado por Cooke et al., 2012). En dormancia, los procesos metabólicos al interior de la yema reducen su tasa considerablemente hasta un mínimo necesario para que la planta se mantenga viva, de esta forma la planta puede sobrevivir a las condiciones desfavorables a las que se enfrenta durante el periodo invernal, principalmente bajas temperaturas (Howell, 2000, Lavee y May, 1997, Saure, 1985). A su vez, el contenido de humedad al interior de la yema se reduce entre un 50% a 80% (Lavee y May, 1997). Mientras la vid se encuentra dormante y gracias a los cambios al interior de la yema descritos anteriormente, es capaz de soportar hasta -20°C (Trought et al., 2011), capacidad que disminuye con la transición a la primavera y brotación, ya que en ese periodo comienza la deaclimatación, por lo que la capacidad que posee la planta de vid para enfrentar las bajas temperaturas, es decir, la resistencia al frío comienza a disminuir, y de esta manera la planta se vuelve susceptible a heridas o daños por frío (Proebsting et al., 1980, Preston et al., 1984).

En la última etapa del periodo de dormancia, la inhibición del crecimiento al interior de las yemas depende de las condiciones ambientales, principalmente la temperatura (Lang, 1987). En los climas templados, las actividades al interior de la yema se reanudan cuando las condiciones exógenas, temperatura y fotoperiodo, lo permiten, así se da paso a la brotación. La brotación en la vid define el comienzo del ciclo de crecimiento (García de Cortázar – Atauri et al., 2009).

Las yemas de la vid a lo largo de la madera del año anterior no brotan simultáneamente, fenómeno conocido como acrotonía, iniciándose en la sección distal del brote y luego las yemas próximas. A menudo, y acentuado en plantas podadas con cargadores, la brotación de las yemas distales provoca una inhibición de las yemas basales (Galet, 2000, citado por Keller, 2010). Para algunos autores esta inhibición se daría por la producción de auxinas en el ápice, la que se transporta al brote de manera basípeta, inhibiendo el crecimiento de las yemas laterales, principalmente por el efecto inhibitorio sobre la síntesis de citoquininas (Taiz y Zeiger, 2002). Sin embargo, actualmente, estudios en *Pisum sativum* atribuirían la inhibición por parte del ápice, a la competencia por reservas, ya que la fuerte demanda del ápice por azúcares limitaría la cantidad disponible para las yemas laterales. Al remover el ápice existiría una rápida redistribución de azúcares, y en presencia de éstos se inhibiría la expresión de promotores de la mantención de la dormancia en las yemas, siendo la primera señal para la salida de dormancia (Mason et al., 2014). A través de la poda, momento en

que se realiza un despunte del brote, la inhibición que existe por parte del ápice a las yemas contiguas se interrumpiría (Aubert, 1972, citado por Lavee y May, 1997).

La poda invernal, la que normalmente se realiza mientras la planta se encuentra dormante, cada temporada, es un manejo común dentro de la vitivinicultura. El objetivo de esta labor es regular la producción, determinando la carga o número de racimos por planta (Martin y Dunn, 2000), a partir de la cantidad de nudos y posición de estos a lo largo del cargador que se establecen en la poda, lo que a su vez determinará el rendimiento (Keller, 2010). La poda invernal es considerada como una importante operación cultural usada para regular el rendimiento, como se mencionó anteriormente, determinando el número de nudos, y además permite seleccionar el tipo de yemas que estarán disponibles para brotar (Tassie y Freeman, , citado por Martin y Dunn, 2000).

En cuanto a la yema de la vid, se ha establecido que la yema que permanece latente es del tipo compuesta, es decir, posee una yema primaria, una secundaria y una terciaria. De acuerdo a la nomenclatura propuesta por Bugnon y Bessis (1968), la yema primaria corresponde a $N+2$, que dará origen al brote la temporada siguiente, y $N+3_1$ y $N+3_2$ conciernen a las yemas secundaria y terciaria. Estas dos últimas, normalmente no desarrollan brotes, a menos que la yema primaria se dañe antes de brotar o el brote primario se dañe por la ocurrencia de una helada primaveral al momento de brotación o posterior a esto.

Cuando la yema no está dormante, se encuentra susceptible a daños por heladas primaverales, especialmente la yema primaria $N+2$, la más sensible, la primera en brotar y la responsable del rendimiento. Si el brote proveniente de esta yema sufre algún tipo de daño, la yema secundaria $N+3_1$ tiene la posibilidad de brotar, sin embargo, el vigor y la fruta que dará origen es significativamente menor. En tanto $N+3_2$, comúnmente no posee inflorescencias (Pratt, 1974). El rendimiento de brotes provenientes de yema secundaria, respecto de yemas primarias, puede ser hasta casi tres veces menor, mostrando las mayores diferencias en el número de racimos por brote (Friend et al., 2011).

Sumado a lo anterior, en el periodo de brotación, coincidente con la primavera, se retoma el proceso de floración de la vid al interior de las yemas, las cuales fueron inducidas durante la primavera y verano de la temporada anterior, y en las que se determinó el número de inflorescencias por yemas, esto dado que el proceso de floración en la vid se extiende sobre dos temporadas. Durante la dormancia, la diferenciación del primordio floral se detiene (Almada et al., 2011). Cuando la yema inicia la hinchazón, antes de brotar, marcado por un incremento en el contenido de humedad, el crecimiento y diferenciación de la inflorescencia se retoma, con la diferenciación de las inflorescencias aún inmaduras para formar órganos florales en las flores iniciales, y finalmente flores (Vasconcellos et al., 2009, Sreekantan y Thomas, 2006).

En Chile, el establecimiento de viñedos se extiende desde la región de Coquimbo a la del Bío Bío, principalmente, de modo que, las condiciones a las cuales se exponen los viñedos son distintas de acuerdo al lugar donde se encuentren. Así, se han caracterizado valles de

producción vitivinícola en el país, siendo los principales: Casablanca, Maipo, Colchagua y Maule.

El Valle del Maipo, ubicado en la Región Metropolitana, se caracteriza por producir vinos de alta calidad. Por sus condiciones climáticas que permiten una menor acidez en los vinos, se producen principalmente vinos de variedades tintas, como Cabernet Sauvignon. A pesar de la alta calidad de sus vinos este valle se enfrenta a la ocurrencia de heladas primaverales, las cuales perjudican la producción, tanto en términos de calidad como cantidad, como se mencionó con anterioridad. Este suceso climático afecta la diferenciación del primordio floral en la planta de vid, y también pueden dañar la brotación de la yema primaria.

En relación a lo anterior, es que se hace necesario investigar los posibles métodos de escape al daño en la planta por la ocurrencia de heladas primaverales, ya que estas ocurren comúnmente en fechas cercanas a la brotación, momento en el cual la planta ya no se encuentra dormante y es susceptible a daños. El retraso en la fecha de poda ha sido considerado como un posible determinante en retrasos en la fecha de brotación (Martin y Dunn, 2000, Trought et al., 2007, Friend et al., 2011) entre otras técnicas, como aplicaciones de aceite, reguladores de crecimiento y alginato de sodio (Zhang y Dami, 2012, Dami y Beam, 2004, Loseka et al., 2015, Friend et al., 2011). El presente estudio busca determinar el efecto del retraso en la época de poda en el momento de brotación y fecha de ocurrencia de envero, evaluando ventajas y desventajas de esto en algunas características del racimo en el Valle del Maipo.

Hipótesis

Una poda tardía retrasa la época de brotación sin alterar la fecha de ocurrencia de envero.

Objetivo

Determinar el efecto de distintas fechas de poda en *Vitis vinifera* L. var. Cabernet Sauvignon, conducidas en espaldera con poda de cargador, sobre la época de brotación y fecha de ocurrencia de envero en el Valle del Maipo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

El experimento se realizó durante la temporada 2012-2013 en la viña Haras de Pirque, ubicada en la comuna de Pirque, perteneciente al Valle del Maipo Alto, zona altamente vitivinícola, de coordenadas 33° 42'41" S 70° 36'27" O, Región Metropolitana.

Los análisis realizados en este estudio se efectuaron en el laboratorio de Fisiología del Estrés en Plantas (LFEP), de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

Materiales y métodos

Tratamientos y diseño experimental

Se realizaron 5 tratamientos, correspondiendo cada uno a 5 fechas de podas separadas por 15 a 30 días. La primera fecha de poda se efectuó el 1 de agosto, tratamiento que se consideró como el tratamiento testigo (T0), ya que es la fecha de poda invernal realizada con normalidad en el lugar de estudio. Las siguientes podas realizadas y sus respectivas denominaciones fueron; T1: 29 de agosto; T2: 13 de septiembre; T3: 25 de septiembre y T4: 10 de octubre. En relación al día más frío de la temporada, 5 de julio, T0 se realizó 27 días después, en tanto T1 55 días más tarde, por su parte T2, T3 y T4 a 70, 82 y 97 días posterior, respectivamente.

Los tratamientos se establecieron en un diseño en bloque completamente aleatorizado (DBCA), considerando como factor de bloqueo la pendiente que presenta la ladera donde se ubica el viñedo. La poda se aplicó a cada uno de los cuatro bloques realizados.

La unidad experimental fue constituida por tres plantas consecutivas de vid podadas a 12 yemas, donde las determinaciones se aplicaron sólo a la planta central. Cada bloque se homologó como una repetición.

Material vegetal

El ensayo se realizó en la Viña Haras de Pirque, con plantas de vid de la variedad Cabernet Sauvignon de 13 años de edad, conducidas en espaldera con orientación Norte-Sur, bajo sistema de riego por goteo.

Al momento de la poda se colectaron yemas de la zona basal, intermedia y apical de un cargador de la madera podada, en total tres yemas por cada tratamiento, las que fueron

almacenadas en etanol al 70% y luego fueron observadas a través de lupa binocular (Boeco, BTB-3A, Alemania) en el laboratorio Fisiología del estrés en Plantas de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile. Para esto, se realizaron cortes de la yema de manera longitudinal, con el fin de apreciar el estado de desarrollo en el que se encontraban estas al momento de la poda.

Realizadas las podas, el experimento continuó sólo con observaciones semanales para determinar el momento de ocurrencia de cada evento fenológico. El seguimiento del desarrollo de las vides duró hasta el momento del envero, el cual se definió como el momento en el que el 50% de las plantas había tornado el color de las bayas. Para la determinación de cada suceso fenológico se utilizó la escala fenológica de Eichhorn y Lorenz, modificada por Coombe (1995) (Anexo I).

El día 12 de abril de 2013 se realizó la cosecha de racimos, en la que de forma aleatoria, de cada unidad experimental por tratamiento, se extrajeron dos de ellos, los que posteriormente se tamizaron y se les midió la concentración de sólidos solubles (°Brix). La mitad de la muestra fue analizada el mismo día y la mitad restante fue refrigerada a 4 °C en el refrigerador (Whirlpool, WVEE29B1, Estados Unidos) hasta el día siguiente, para terminar las mediciones.

Determinaciones

Evolución de las temperaturas durante la temporada: Las temperaturas máximas y mínimas se obtuvieron de una estación climática ubicada en la viña Haras de Pirque de la marca iMETOS, luego los datos se descargaron a través de la página web, para la temporada completa.

Fecha de brotación. A partir de las observaciones semanales se pudo determinar la fecha de brotación de cada tratamiento, momento que se consideró como la aparición de la primera hoja en el 50% de las yemas que brotaron de la planta central.

Fenología. Se determinaron las fechas calendario de yema hinchada, brotación, floración, bayas en tamaño arveja, envero y, finalmente, la cosecha realizada el día 12 de abril, con el fin de seguir el desarrollo fenológico de las plantas.

Tiempo térmico. A partir de las fechas calendario de cada estado fenológico y con los datos de temperatura mínima y máxima del lugar, se calculó el tiempo térmico transcurrido por cada tratamiento, desde yema hinchada hasta la cosecha. Para calcular los días grado (DG) se utilizó la siguiente fórmula de calor acumulado propuesta por Amerine y Winkler (1944), considerando como temperatura base de crecimiento para la vid 10°C, temperatura generalmente utilizada y extensamente aceptada para vides (Olivera, 1998):

$$DG = \sum ((T^{\circ} \text{máxima} - T^{\circ} \text{mínima})/2) - 10^{\circ}\text{C}$$

Características del racimo. Para cada racimo recolectado por tratamiento se midieron tres variables: peso de racimo, tamaño de baya y sólidos solubles. De cada racimo se extrajeron todas las bayas, las cuales fueron contadas y luego pesadas en una balanza electrónica (Ferton, Bag 001, China). Posteriormente, se realizó el tamizaje de las bayas en tamices de acero con los siguientes diámetros: 15, 12, 10, 8 y 5 milímetros. Este proceso consistió en pasar las bayas extraídas de cada racimo por los tamices para luego contar y pesar las bayas por cada rango. En cada racimo tomado al azar por tratamiento se midieron los sólidos solubles acumulados en la baya con un refractómetro termocompensado manual (Toko, 24352, Japón). Los sólidos solubles se midieron en el jugo de 10 bayas tomadas al azar por cada racimo extraído por cada tratamiento. Posterior a cada medición el refractómetro fue limpiado con agua destilada.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis de varianza (ANDEVA), con un nivel de confianza de 95% o 90%, según la variable, para determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Previamente, se verificaron los supuestos a través de las pruebas estadísticas Shapiro Wilks, para la normalidad de los datos, y Levene para la homocedasticidad de varianzas. Dado que los supuestos mencionados anteriormente no se cumplieron para los datos de días de retraso en la brotación, se realizó transformación de raíz cuadrada para éstos. En tanto, para los datos porcentuales, se aplicó la transformación de Bliss antes de realizar el ANDEVA.

Al existir diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey.

Debido a la estrecha relación observada entre el peso y número de bayas, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre todos los datos de peso y el número de bayas del racimo. Además, con el estadístico t de student se corroboró la significancia de los coeficientes.

Para todo el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico INFOSTAT y para la elaboración de los gráficos el programa Sigma Plot versión 12.

RESULTADOS

Temperaturas temporada 2012-2013

La temporada 2012-13 se caracterizó por la ausencia de heladas primaverales en el periodo de brotación de la planta (Figura 1), mientras que las temperaturas promedio en la viña Haras de Pirque, durante septiembre y octubre, no bajaron de 6,7°C. Los episodios en que la temperatura mínima alcanzó valores bajos los 0°C, no duraron más de dos horas. Tampoco se registraron temperaturas inferiores a -1°C.

Durante noviembre, las temperaturas promediaron cerca de 15 °C, en tanto en diciembre se elevaron levemente, alcanzando cerca de 17°C. Por otra parte, los valores máximos de temperatura durante enero no superaron los 30°C y promediaron valores similares a los de diciembre, correspondientes a 18°C. Eso sí, las temperaturas máximas sobrepasaron los 30°C, especialmente en el mes de febrero. Desde marzo en adelante, ocurrió una progresiva disminución en las temperaturas, alcanzando los 10°C a fines de junio.

En general, la temporada 2012-2013 contó con temperaturas inferiores a las registradas la temporada anterior 2011-2012.

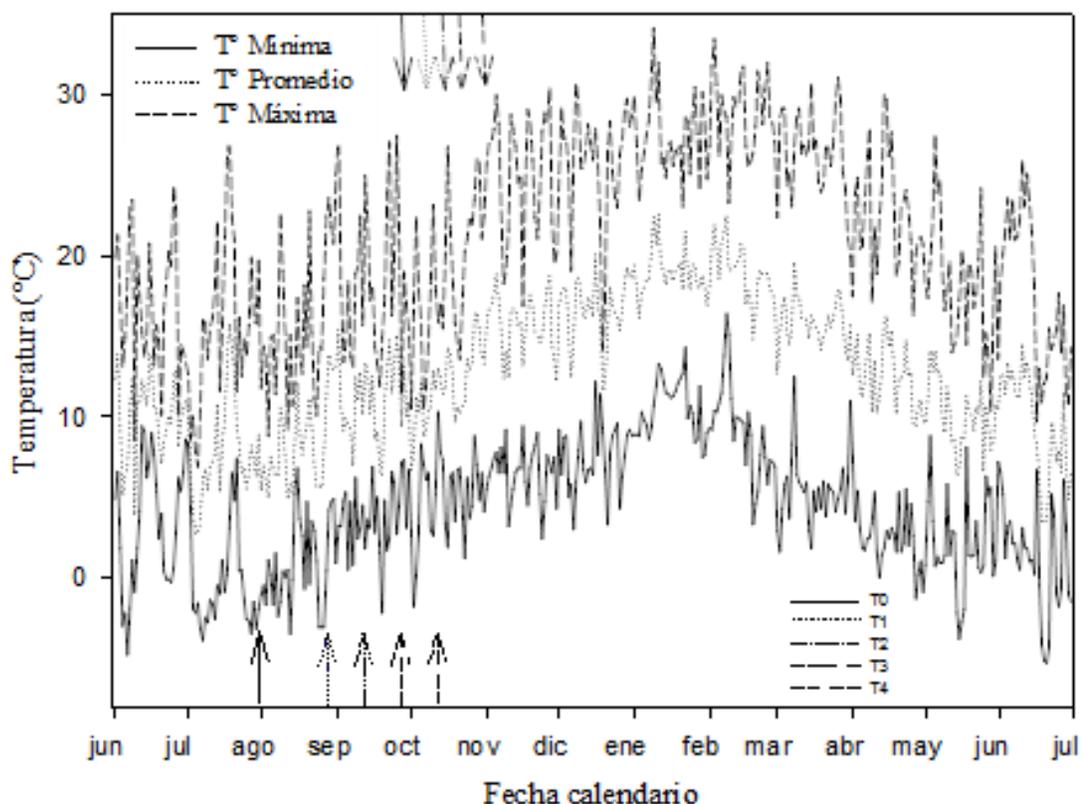


Figura 1. Temperaturas durante la temporada 2012-2013 en Viña Haras de Pirque. Fechas en la parte inferior del gráfico representan la fecha de poda de cada tratamiento, fechas en la parte superior, representan las fechas de brotación.

Fecha de brotación

En el Cuadro 1 se muestran las fechas de poda, para cada tratamiento, los días de retraso en la poda respecto al tratamiento testigo, la fecha de brotación, la diferencia en días de brotación respecto del tratamiento control y la relación entre los días de retraso en la brotación respecto a los días de retraso en la poda. La fecha de brotación se vio afectada por la fecha de poda, de modo que al retrasar esta última, se retrasó igualmente la fecha de brotación en las plantas (Cuadro 1). Las plantas podadas mostraron diferencias significativas en los días de retraso en la brotación, respecto al testigo ($p > 0,05$).

Se puede apreciar que al posponer la fecha de poda en 70 días, se atrasa la fecha de brotación, aproximadamente en un mes en relación al testigo. Resulta evidente que el impacto que tiene el retraso de la poda sobre la época de brotación es cada vez mayor, en la medida que ésta se aleja del receso invernal. Así, al podar las plantas a fines del mes de agosto la brotación se atrasa en 0,25 días por cada día de retraso en la poda con respecto al

testigo. En otro extremo, sin embargo, al podar durante la primera quincena del mes de octubre, se registra un retraso de 0,38 días por cada día de retraso (Cuadro 1).

Por otra parte, la acumulación de días-grado para los eventos fenológicos es mayor cuando se atrasa la brotación. Así mismo, por cada día que se atrasa la brotación, la cantidad de días-grado acumulado en un día se hace mayor hacia el último tratamiento.

Cuadro 1. Efecto de la fecha de poda sobre la brotación.

Tratamiento	Fecha de poda	Retraso fecha de poda respecto a T₀	Fecha de brotación	Retraso fecha de brotación respecto a T₀*	Días retraso brotación/ Días de retraso poda	Días-grado de retraso a brotación respecto a T₀	Días-grado de retraso a brotación/ Días retraso brotación
		---- días ----		---- días ----		---- DG ----	
T0	01/08/2012	0	29/09/2012	0	-	0	-
T1	29/08/2012	28	06/10/2012	7 a	0,25	3,52	0,50
T2	13/09/2012	43	11/10/2012	12 b	0,27	10,09	0,84
T3	25/09/2012	55	15/10/2012	16 c	0,29	16,46	1,02
T4	10/10/2012	70	27/10/2012	27 d	0,38	33,72	1,25

*Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para prueba de Tukey ($p < 0,05$).

Desarrollo de yemas

En la Figura 2 se observa el estado de las yemas recolectadas al momento de realizar la poda para cada tratamiento, donde es evidente el mayor avance en el desarrollo con el transcurso del tiempo. , advirtiéndose además una mayor apertura de las escamas. Asimismo, a lo largo del tiempo, en las yemas sin brotar, el cono vegetativo aumenta su longitud, desde 3,1 cm en T1 a y 6,6 cm en T4. Además se puede apreciar que el racimillo se separa progresivamente del ápice vegetativo. Por último, en la fecha de poda más tardía, las yemas se encuentran hinchadas al momento de ser podadas.

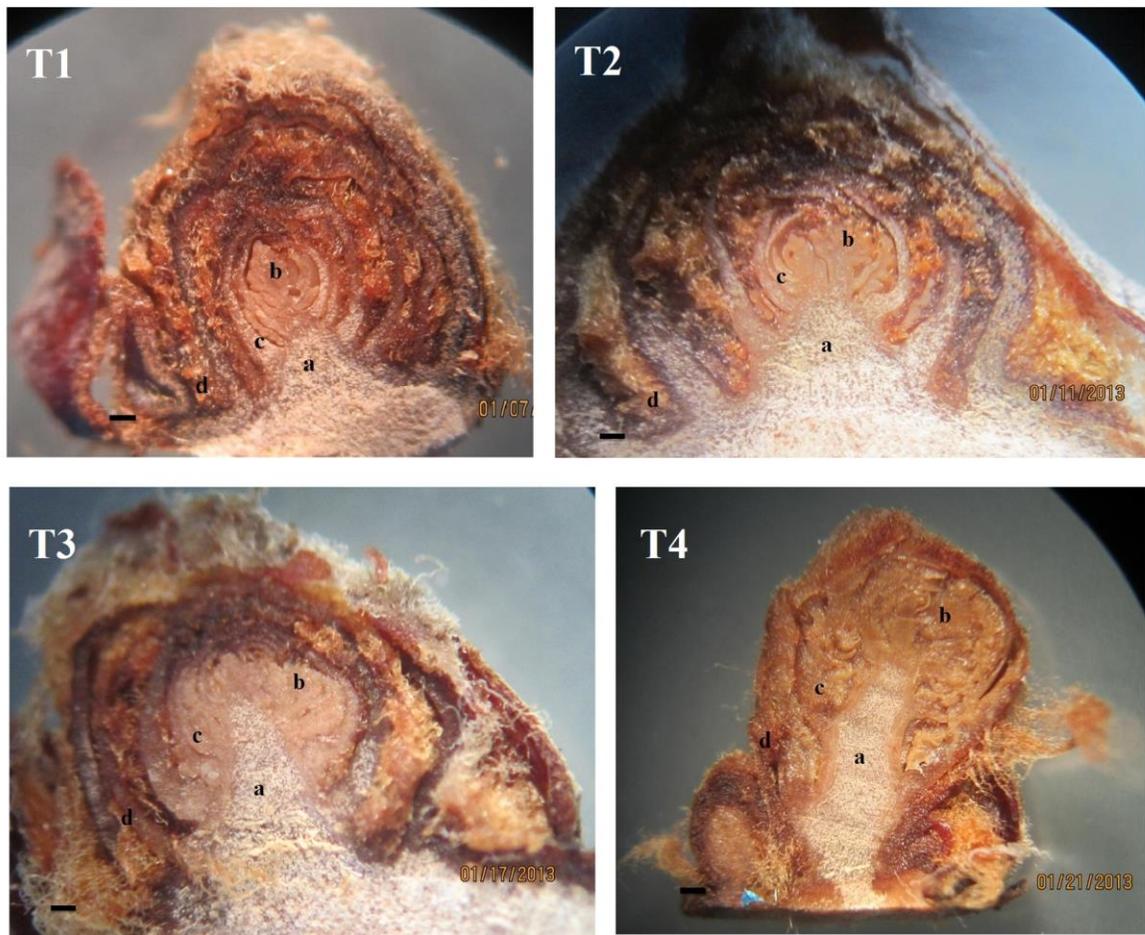


Figura 2. Estado de la yema del punto medio del cargador, desde base a ápice, al momento de la poda, por tratamiento. a: Cono vegetativo, b: Primordio inflorescencia, c: Futuras hojas, d: Escamas. Escala = 1 cm.

Fenología de las plantas de vid

En la Figura 3 se observa el estado fenológico de cada tratamiento en las fechas calendario, correspondientes al 10 de octubre, 27 de octubre, 10 de noviembre y 30 de noviembre.

El 10 de octubre correspondió a la fecha de poda de T4, esto es 70 días más tarde que aquella correspondiente al control. Claramente, en ese momento mientras las plantas podadas más temprano se encontraban en el estado 9, con 2 a 3 hojas pequeñas separadas del brote; aquella con poda en ese momento estaba, apenas, en yema hinchada (Figura 3). Luego, 17 días más tarde, se puede observar que todavía existe menor desarrollo en aquellas vides podadas más tarde, alcanzando éstas el estado fenológico 7. Por su parte, en la misma fecha, las plantas correspondientes a los tratamientos T2 y T3 alcanzaron ambos el estado 12, con 5 hojas separadas, con un largo de brote aproximado de 10 cm y la distinción de la inflorescencia. Además, la brecha con las plantas podadas más temprano, es decir, T1 y T0, disminuyó.

Al 10 de noviembre, momento en que las plantas correspondientes a T4 se encontraban en el estado 12, las plantas del tratamiento T0, T1 y T2 alcanzaron simultáneamente el estado 17, presentando cerca de 12 hojas separadas y la inflorescencia más desarrollada, observándose flores separadas.

No obstante el gran desfase fenológico observado entre el tratamiento T4 y los restantes tratamientos, en las fechas previas, el 30 de noviembre, todas las plantas se encontraban en el estado 23, con 17 a 20 hojas separadas y 50% de las caliptras caídas, correspondiente a plena floración.

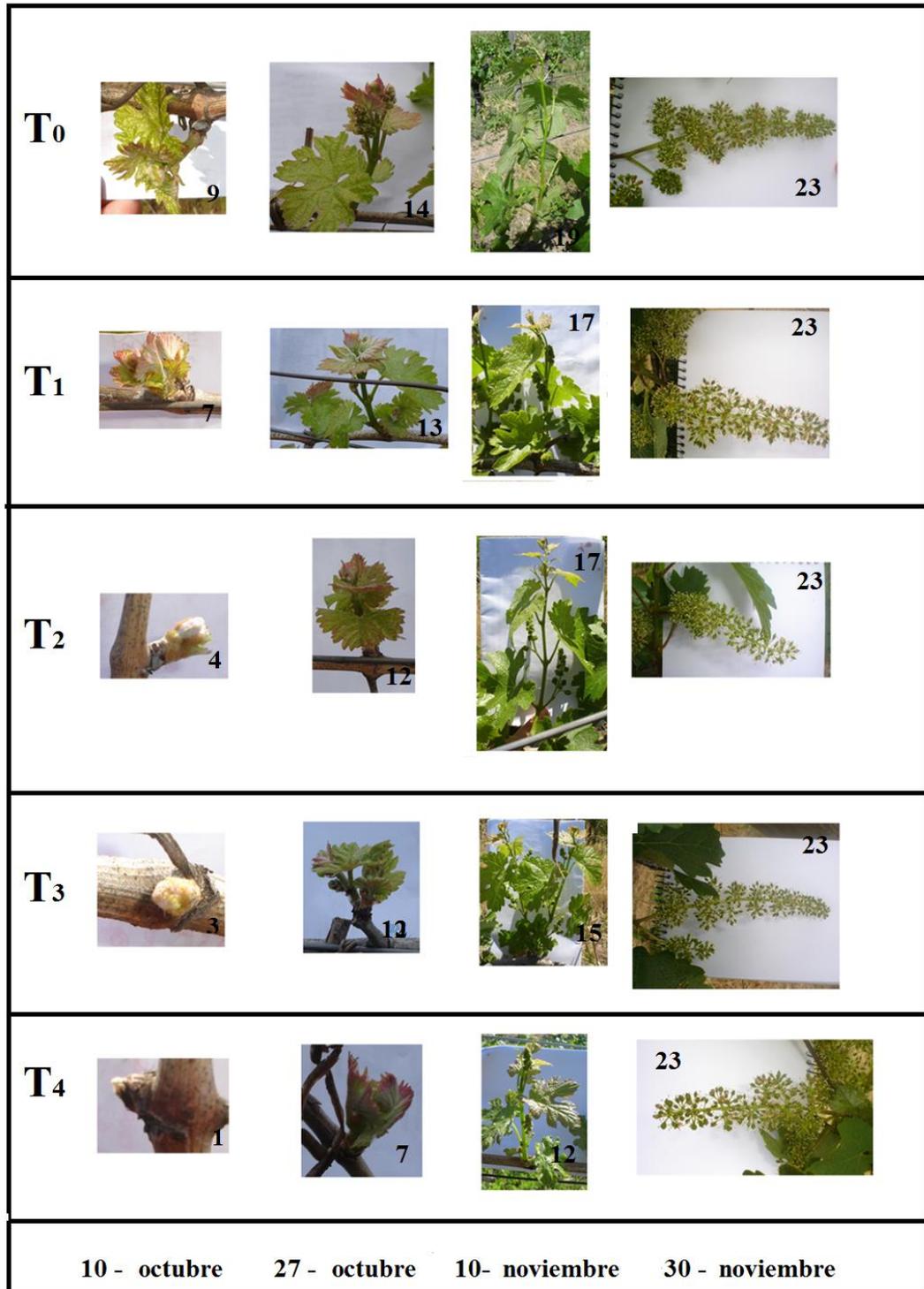


Figura 3. Imagen de los estados fenológicos por tratamiento desde el 10 de octubre hasta la floración, el 30 de noviembre. El número en cada imagen indica la fase fenológica de la vid de acuerdo a la escala descrita por Eichhons y Lorenz, modificada por Coombe (1995).

Características del racimo

En la Figura 5 se presentan las relaciones lineales entre el número de bayas por racimo y el peso de este, además del coeficiente de correlación de Pearson entre ambas variables y la pendiente de la recta, en cada tratamiento realizado. En general, en todos los tratamientos realizados se puede ver que existe una correlación directa y positiva entre el número de bayas que componen el racimo y el peso de este. El coeficiente de correlación de Pearson varió entre 0,70 y 0,98, el menor valor de este coeficiente se encontró en el tratamiento testigo, presentando una menor asociación entre el número de bayas y peso del racimo, respecto a los demás tratamientos, en tanto en los tratamientos T1, T2, T3 y T4, alcanzó valores iguales o superiores a 0,90.

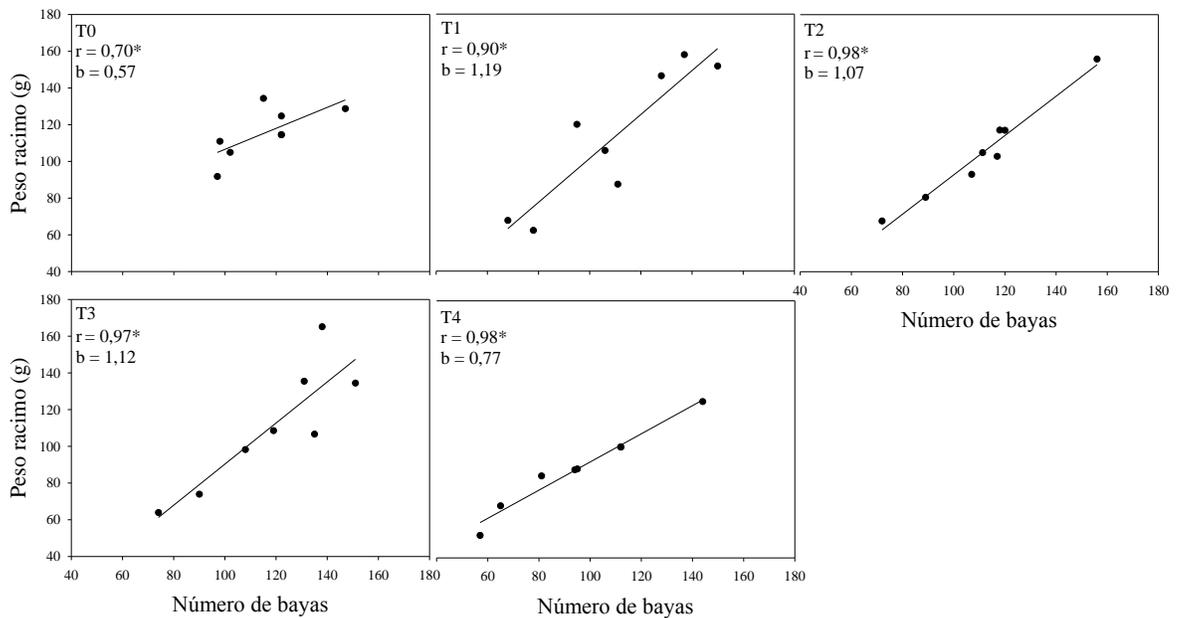


Figura 5. Relación entre el número de bayas y peso del racimo, por tratamiento.

* Todos estos coeficientes de correlación de Pearson fueron estadísticamente significativos con $\alpha = 5\%$ evaluados con el estadístico t de student.

En relación a la pendiente de la recta descrita en la regresión lineal entre ambas variables, por cada tratamiento (Figura 5), esta es menor en el tratamiento control, es decir, que por cada unidad de aumento en el número de bayas, la variación en el peso es menor, respecto a los demás tratamientos. En tanto, los tratamientos T1, T2 y T3, presentaron la mayor pendiente.

En relación al diámetro de bayas, la cantidad de bayas por rango de diámetro no registró diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 6). A pesar de esto, se puede observar una clara disminución en las bayas con diámetro entre 14,9 a 12 milímetros en las plantas podadas más tarde (T4). Además, es posible distinguir que en la variedad Cabernet

Sauvignon los diámetros de bayas más abundantes, en cuanto a cantidad, son entre 10 mm y 14,9 mm. En tanto, los menos abundantes en la variedad, en este ensayo, fueron las bayas con diámetros menores a 10 mm y mayores a 15 mm.

En relación al peso promedio de baya por rango de diámetro, entre 10 a 11,9 mm, segundo rango de importancia en el número de bayas, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre sí ($p > 0,10$). Las plantas pertenecientes a T0 presentaron el peso promedio de baya mayor, en tanto T4, el menor.

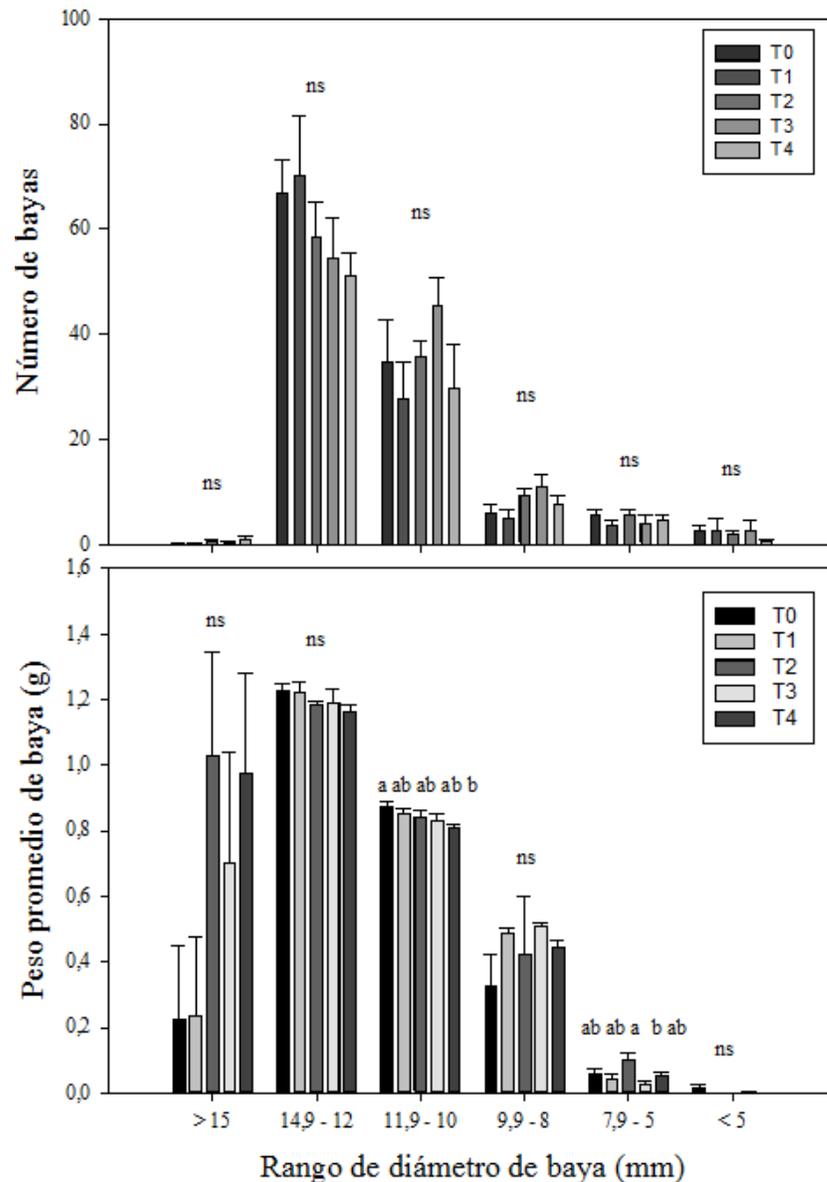


Figura 6. Número de bayas totales y peso promedio de baya por rango de diámetro, por tratamiento. Letras minúsculas distintas indican diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos, para prueba de Tukey ($p < 0,10$). ns = no significativo.

En el Cuadro 2 se puede ver la acumulación de sólidos solubles a cosecha ($^{\circ}$ Brix), por cada tratamiento. Los tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí y los racimos cosechados presentaron una acumulación de sólidos solubles promedio con valores entre 24,75 a 25,05 $^{\circ}$ Brix.

Cuadro 2. Concentración de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) por tratamiento a cosecha.

Fecha de poda	Tratamiento	$^{\circ}$ Brix
01 – agosto - 2012	T0	25,05 a
29 – agosto - 2012	T1	24,85 a
13 – septiembre - 2012	T2	24,75 a
25 – septiembre - 2012	T3	24,75 a
10 – octubre - 2012	T4	24,90 a

*Letras minúsculas iguales indican ausencia de diferencias significativas entre tratamientos, prueba de Tukey ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

La vid es una especie que no tolera el frío y se caracteriza por entrar en estado de dormancia en época de frío invernal cuando se cultiva en clima de estaciones marcadas. Una vez que acumula el suficiente número de horas frío, y se comienzan a registrar aumentos de temperatura, la vid abandona el receso y comienza a reactivar sus yemas para dar curso al proceso de brotación. En Chile, es muy común que en momentos en que las vides inician su proceso de brotación, ocurran heladas primaverales ocasionando la muerte de brote y hasta de yemas. Una de las alternativas para evitar este daño ha sido el retrasar la poda con el fin de postergar el momento de brotación, tal como ocurrió en el presente estudio en vides de Cabernet Sauvignon en el Valle del Maipo (Cuadro 1). Esto coincide con lo reportado por Martin y Dunn (2000) quienes estudiaron el efecto de la fecha de poda sobre la brotación de vid (*Vitis vinifera* L.) variedad Cabernet Sauvignon en Melbourne, Australia, podando en dos fechas distanciadas por seis semanas, resultando en cinco días de diferencia en la brotación. Asimismo, Trought et al. (2011) probaron cuatro fechas de poda en vides Sauvignon Blanc, la primera después de cosecha, dos durante el invierno, entre junio y agosto, y la última antes de la brotación, en primavera. La poda más tardía, retrasó la brotación, sin embargo todos los tratamientos florecieron simultáneamente, al igual que en el presente estudio (Figura 4).

Friend et al. (2011), quisieron demostrar el efecto de retrasar la brotación en el desarrollo de brotes y rendimiento frente a la ocurrencia de una helada primaveral, utilizando el tiempo de poda para manipular la fecha de brotación. Probando tres fechas de poda, la primera a fines de julio, considerada con la fecha normal de esta práctica, la siguiente el 18 de agosto y la poda más tardía efectuada el 8 de septiembre, esta última en fecha similar al tratamiento T2 de este estudio; estos autores comprobaron que el desarrollo fenológico era menor a medida que se había retrasado la poda, al momento de la ocurrencia de una helada primaveral el día 25 de septiembre. Al evaluar el porcentaje de yemas primarias muertas por efecto de la helada, este fue significativamente menor en la poda más tardía, y mayor en las plantas podadas en las primeras dos fechas. En consecuencia, en estas últimas plantas hubo un mayor desarrollo de brotes provenientes de yemas secundarias. Los autores concluyeron que los daños causados por heladas primaverales podían reducirse a través de tratamientos que retrasen el momento de brotación, como la fecha de poda.

El retraso en la brotación a partir del retraso en la fecha de poda estaría explicado por la inhibición que existe por parte de las yemas apicales hacia las yemas basales. Dicha inhibición se habría extinguido al remover la yema más avanzada. Rotaru (2010) comprobó este fenómeno, llamado acrotonía en la vid. Así, es posible observar que, aunque la planta haya acumulado las horas-frío suficientes y posteriormente el tiempo térmico necesario para brotar, esto no ocurre antes de la poda (Figura 4). Algunos autores atribuyen esta inhibición a la limitación de azúcares por parte de la yema apical a las próximas, siendo esta limitación la que mantendría la dominancia apical. Mason et al. (2014) estudiaron el movimiento tanto de azúcares como de auxinas, posterior a la eliminación de la yema distal

en *Pisum sativum* L., llegando a la conclusión que en etapas tempranas de la salida de dormancia el agotamiento de auxinas no sería suficiente para inducir la brotación, luego de la eliminación de la yema distal. Más bien, la disponibilidad de azúcares influiría en la salida de dormancia, al inhibir la expresión del gen *BRANCHEDI*, que se ha asociado a la mantención del estado dormante. La teoría clásica de dominancia apical postula que las auxinas producidas en la yema apical son transportadas de manera basípeta por el brote, ocupando los sitios de acción de síntesis de citoquininas, hormonas que intervienen en la brotación. Barbier et al. (2015) proponen que la disponibilidad de azúcares no es el único requerimiento para desencadenar la brotación, pero sería la primera señal para la liberación de dormancia, lo que implica que las auxinas pueden ser efectivamente importantes, pero en estados más avanzados del crecimiento del brote.

En este estudio resultó evidente que por cada día de atraso en la poda, la tasa de atraso en la brotación respecto a T0 es similar en T1, T2 y T3, sin embargo, esta es mayor en T4, tratamiento que además de ser la poda más tardía, alcanzaba el estado de brotación en la yema distal al momento de la poda. Lo anterior podría deberse a que en T4, las yemas que permanecen en el brote luego de la poda se encontraron por más tiempo bajo la dominancia apical y, por lo tanto, se encontraban más fuertemente inhibidas. Más aún, si se considera que existe un elevado consumo de carbono en la brotación de la yema distal, posiblemente la merma de disponibilidad de azúcares en las yemas basales del brote, necesarias para inducir la brotación, fue menor de lo que experimentaron las yemas en los tratamientos de poda más cercanos al testigo en el presente estudio.

La temperatura es uno de los factores medio ambientales determinantes en el crecimiento y desarrollo de las plantas. En el caso de la vid, una vez que se acumulan las horas frío necesarias, todo el proceso de reactivación de las yemas dormantes, la brotación, así como el crecimiento y desarrollo fenológico durante la temporada, está determinado por el tiempo térmico (Chuine et al., 2004, Jones y Davis, 2000, Webb et al., 2007, Wolfe et al., 2005). En el presente estudio, no obstante ocurrió una diferencia en la fecha brotación de hasta casi un mes, las bajas temperaturas predominantes a inicio de la temporada, lo que se puede ver en el Cuadro 1, donde en los primeros tratamientos realizados, la relación entre los días grado de retraso a brotación y días de retraso, presenta los valores más bajos, el aumento de las temperaturas con el transcurso del tiempo determinaron que, luego de la brotación del tratamiento más retrasado, las diferencias en el desarrollo fueran más bien menor (figuras 3 y 4). Por lo mismo, todos los tratamientos alcanzaron el momento de floración y posteriormente de envero, al mismo tiempo. En otras condiciones, retrasos en la brotación pueden implicar diferencias en el tiempo fenológico a envero. Martin y Dunn (2000), por ejemplo, advirtieron que las diferencias en días se mantuvieron a hasta envero, siendo esta diferencia del orden de 4,1 días. Trought et al. (2011), por el contrario, y similar a lo encontrado en el presente estudio, pero trabajando con una variedad más precoz, como lo es Sauvignon Blanc, observaron que fechas de brotación diferidas producto de retrasos en la poda, no implicaron la ocurrencia de envero en fechas distintas entre tratamientos.

Debido a que el proceso de floración iniciado en la temporada previa, se retoma con el comienzo del proceso de brotación, en este estudio se evaluaron algunas características del

racimo, con el fin de observar algún efecto del retraso en la poda sobre este. En el periodo de brotación, al interior de la yema, se determina y diferencia el número de flores que componen la inflorescencia (Dunn y Martin, 2007). Es sabido que a una mayor temperatura en esta etapa, el número de flores y posteriormente el número de bayas por racimo, es menor. Así lo pudieron comprobar Butrosse y Hale (1973), quienes determinaron que con un aumento en la temperatura a la cual se expone la vid después de brotación, por una parte se acorta el periodo comprendido entre brotación y floración, y por otra, el número de bayas que componen el racimo disminuye.

En el presente ensayo, se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre el número de bayas y el peso del racimo por cada tratamiento (Figura 5). En todos los tratamientos dio como resultado una correlación directa y positiva. Clingeffer (2001) en un estudio estadístico con varios cultivares de vid y en ambientes distintos demostró que el número de bayas por racimo, es el mayor determinante en el peso del racimo, confirmando que ambos parámetros mantienen una correlación positiva, como se describe anteriormente.

En la Figura 6 se puede observar que el diámetro de bayas más abundantes en la variedad ocupada en este estudio fueron las concentradas entre 14,9 y 10 mm, representando entre un 92% a 96% del peso del racimo. May (2000) sostiene que la clase de bayas entre 1 y 4 contribuyen al peso del racimo, siendo la clase 1 las bayas con mayor tamaño y la clase 6, las bayas más pequeñas. Además, en su revisión comprobó que las clases 1-3 son las que representan cerca del 92% del peso del racimo, porcentaje similar al que representan las bayas entre 14,9 a 10 milímetros en este estudio.

Finalmente, y dado que, la acumulación de sólidos solubles al interior de la baya comenzaría antes del envero (Blouin y Guimberteau, 2004), momento en que las plantas podadas en este estudio presentaban una fenología similar, los racimos cosechados no presentaron diferencias estadísticamente significativas en la acumulación de sólidos solubles (Cuadro 2), al igual que lo obtenido por Rätsep et al. (2014) en vides con sistema de conducción cargador, al igual que este estudio, del cultivar híbrido Hasanski Sladki. A diferencia de lo reportado por Martin y Dunn (2000), quienes advirtieron una diferencia de 0,91° Brix entre las plantas podadas temprano y tarde, con sistema de conducción de cordón apitonado.

CONCLUSIONES

De acuerdo a las condiciones en que se realizó el estudio, se puede concluir que el retraso en la poda invernal en vides de Cabernet Sauvignon, en el valle del Maipo, atrasa la brotación, siendo mayor este efecto mientras más se pospone la poda. No obstante el desplazamiento en la brotación, la época de ocurrencia del envero no se ve afectada. Esto debido principalmente a que se acorta el tiempo entre brotación y floración.

En relación a las características del racimo, el peso promedio de bayas con diámetro entre 10 a 11,9 mm, segundo rango más abundante en Cabernet Sauvignon, disminuye al retrasar la poda. En tanto, la acumulación de sólidos solubles no se ve afectada por el retraso en la brotación.

BIBLIOGRAFÍA

- Almada, R.; N. Cabrera; J. Casaretto; H. Peña – Cortés; S. Ruiz – Lara and E. González. 2011, oct. Epigenetic repressor – like genes are differentially regulated during grapevine (*Vitis vinífera* L.) development. *Plant cell reports*, 30 (10): 1959 – 1968.
- Amerine and Winkler. 1944, feb. Composition and quality of musts and wines of California grapes. *Hilgardia*, 15(6): 493 – 675.
- Barbier, F.; J. Lunn and C. Beveridge. 2015, jun. Ready, steady, go! A sugar hit starts the race to shoot branching. *Current Opinion in Plant Biology*, 25 (si): 39 – 45.
- Blouin, J. and G. Guimberteau. 2004. Maduración y Madurez de la Uva. Primera edición. España: Mundi-Prensa. 170 p.
- Bugnon, F. and R. Bessis. 1968. Biologie de la Vigne. Acquisitions Recentes et Problemes Actuels . Mason et Cie., Paris .
- Buttrose, M. and C. Hale. 1973, ene. Effect of temperature on development of the grapevine inflorescence after bud burst. *American Journal of Enology and Viticulture*, 24 (1): 14 – 16.
- Chuine, I.; P. Yiou, N. Viovy, B. Seguin, V. Daux and E. Ladurie. 2004, nov. Historical phenology: Grape ripening as a past climate indicator. *Nature* 432: 298 – 290.
- Clingeffer, 2001.
- Clingeffer, P. 2001, sep. Crop Development, Crop Estimation and Crop Control to secure Quality and Production of Major Wine Grape Varieties: A National Approach. CSH 96/1, CSIRO and NRE. Australia. CSIRO and NRE. 159 p.
- Cooke, J.; M. Eriksson and O. Junttila. 2012, oct. The dynamic nature of bud dormancy in trees: environmental control and molecular mechanisms. *Plant, cell and environment*, 35 (10): 1707 – 1728.
- Combee, B. 1995, sep. Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1 (2): 100 – 110.
- Dami I. and Beam B. 2004, ene. Response of Grapevine to Soybean Oil Application. *American Journal of Enology and Viticulture*, 55 (3): 296 – 275.
- Dunn, G. and Martin S. 2007, jul. A functional association in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon between the extent of primary branching and the number of flowers

formed per inflorescence. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13 (2): 95 – 100.

Friend, A.; M. Trought, C. Stushnoff and G. Wells. 2011, ago. Effect of delaying budburst on shoot development and yield of *Vitis vinifera* L. Chardonnay “Mendoza” after a spring freeze event. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17 (3): 378 – 382.

García de Cortázar – Aturi, I.; Brisson N. and J. Gaudillere. 2009, jul. Performance of several models for predicting budburst date of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *International Journal of Biometeorology*, 53 (4): 317 – 326.

Howell, G. 2000, jun. Grapevine Cold Hardiness: Mechanisms of Cold Acclimation, Mid-winter Hardiness Maintenance, and Spring Deacclimation. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51 (2): 35 – 48.

Jones G. and R. Davis. 2000, si. Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51 (3): 249 – 261.

Keller, M. 2010. The Science of Grapevines: Anatomy and Physiology. Primera edición. San Diego: Academic Press. 377 p.

Lang, G. 1987. Dormancy: a new universal terminology. *HortScience* 29: 1255 – 1253.

Lavee, S. and May, P. 1997, abr. Dormancy of grapevine buds – facts and speculation. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3 (1): 31 – 46.

Loseke, B., P. Read and E. Blankenship. 2015, sep. Preventing spring freeze injury on grapevines using multiple applications of Amigo Oil and naphthaleneacetic acid. *Scientia Horticulturae*, 193 (): 294 – 300.

Martin, S. and G. Dunn. 2000, abr. Effect of pruning time and hydrogen cyanamide on budburst and subsequent phenology of *Vitis vinifera* L. variety Cabernet Sauvignon in central Victoria. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6 (1): 31 – 39.

Mason, M.; J. Ross; B. Babst; B. Wienclaw and C. Beveridge. 2014, abr. Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 111 (16): 6092 – 6097.

May, P. 2000, jul. From bud to berry, with special reference to inflorescence and bunch morphology in *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6 (2): 82 – 98.

- Olivera, M. 1998, si. Calculation of budbreak and flowering base temperatures for *Vitis vinifera* cv. Touriga Francesa in the Douro region of Portugal. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49 (1): 74 – 78.
- Petrie, P. and P. Clingeleffer. 2005, abr. Effects of temperature and light (before and after budburst) on inflorescence morphology and flower number of Chardonnay grapevines (*Vitis vinifera* L.). *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11 (1): 59 – 65.
- Pratt, C. 1974, mar. Vegetative anatomy of cultivated grapes: A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25 (3): 131 – 150.
- Preston, A.; C. Andrews, R. Sandidge and T. Toyama. 1984, ene. Deep supercooling of dormant and deacclimating *Vitis* buds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 35 (3): 175 – 177.
- Proebsting, E.; M. Ahmedullah and P. Brummund. 1980. Seasonal changes in low temperature resistance of grape buds. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31 (4): 329 – 336.
- Rätsep R.; K. Karp, E. Vool and T. Tonutare. 2014, sep. Effect of Pruning Time and Method on Hybrid Grapevine (*Vitis* sp.) “Hasanski Sladki” Berry Maturity in a Cool Climate Conditions. *Acta Scientiarum Polonorum - Hortorum Cultus*, 13 (6): 99 – 112.
- Rotaru, L. 2010, jun. Development correlations of the buds of grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Notulae Scientia Biologicae*, 2 (2): 87 – 91.
- Saure, M. 1985, ene. Dormancy release in deciduous fruit trees. *Horticultural Reviews*, 7: 239 – 300.
- Sreekantan, L. and Thomas, M. 2006, sep. VvFT and VvMADS8, the grapevine homologues of the floral integrators FT and SOC1, have unique expression patterns in grapevine and hasten flowering in Arabidopsis. *Functional Plant Biology* 33 (12): 1129 – 1139.
- Taiz, L. and Zeiger E. 2002. Plant Physiology. 3 edition. Sinauer Associates. 690 p.
- Trought, M.; J. Bennett and H. Boldingh. 2011, may. Influence of retained cane number and pruning time on grapevine yield components, fruit composition and vine phenology of Sauvignon Blanc vines. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17 (2): 258-262.
- Vasconcelos, M.; M. Greven; C. Winefield; M. Trought and V. Raw. 2009, dic. The Flowering Process of *Vitis vinifera*: A Review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 60 (4): 411 – 434.

Webb, L.; P. Whetton and E. Barlow. 2007, oct. Modelled impact of future climate change on the phenology of winegrapes in Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 13 (3): 165 – 175.

Wolfe, D.; M. Schwartz, A. Lakso, Y. Otsuki, R. Pool and N. Shaulis. 2005, may. Climate change and shifts in spring phenology of three horticultural woody perennials in northeastern USA. *International Journal of Biometeorology*, 49 (5): 303 – 309.

Zhang Y. and Dami I. 2012, dic. Improving Freezing Tolerance of “Chambourcin” Grapevines with exogenous Abscisic Acid. *HortScience*, 47 (12): 1750 -1757.

ANEXO

Anexo I. Escala fenológica de Eichhorn y Lorenz, modificada por Coombe (1995).

