vinetur

Fisiología de la latencia de las yemas de vid : hipótesis actuales

La latencia de las yemas es un estado característico de los frutales caducifolios que les permite sobrellevar las condiciones desfavorables del invierno

jueves 30 de noviembre de 2017

Introducción

La latencia de las yemas es un estado característico de los frutales caducifolios que les permite sobrellevar las
condiciones desfavorables del invierno (Saure, 1985). En la vid, luego del envero o pinta y durante la fase de
madurez de los de lo racimos, en las yemas ubicadas en las axilas de las hojas ocurren los cambios
anatómicos y metabólicos que caracterizan al período de diferenciación floral. Al término de este período, se
podría decir, se inicia el proceso de latencia en las yemas. Este se va desarrollando secuencialmente desde las
yemas de la base hacia las de la punta del sarmiento. La diferenciación en vid dura aproximadamente hasta la
madurez de las bayas, siendo las yemas de la base del sarmiento las que se diferencian primero. Debido a que
la yema de la vid es una yema de tipo mixto (órganos reproductivos y vegetativos juntos), su diferenciación
consiste básicamente en la organización de los meristemos y de los esbozos de hojas, racimos y zarcillos para

que en la primavera siguiente den origen al nuevo brote cargador. Terminada la diferenciación de cada yema
se inicia en ésta lo que se denomina etapa de paralatencia. Durante esta etapa gran parte de las yemas (en
especial las basales) aún tienen la capacidad potencial de brotar pero permanecen en reposo, debido
principalmente a la dominancia ejercida por la yema apical y las anticipadas de los sarmientos aún en
crecimiento. Esta capacidad potencial de brotar se va perdiendo paulatinamente conforme se avanza en la
estación y el sarmiento va madurando. Este va perdiendo desde la base su color verde por desintegración de
la clorofila en las células epidermales y tornándose paulatinamente desde café claro a oscuro debido a la
acumulación de lignina y otros compuestos fenólicos en las paredes celulares. Este período es conocido como
agostamiento, y coincide con el término del crecimiento del sarmiento y el paso de las yemas a la etapa
conocida como de entrada en endolatencia. Durante este período las yemas pierden en dos o tres semanas su
capacidad de brotar entrando definitivamente a la etapa de endolatencia. Durante la endolatencia, a pesar de
que no se observan cambios visibles, este es un estado fisiológico y bioquímicamente activo, durante el cual
se producen cambios en el contenido de agua de las yemas y en los niveles de reguladores de crecimiento y
otras substancias químicas (Young y col., 1973; Seeley y Powell, 1981; Powell, 1987; Martin, 1991). Des este
estado las yemas salen solo si han cumplido un mínimo de horas de frío que le permitan pasar a las etapas
siguientes que son: la salida de endolatencia en la cual las yemas van paulatinamente recuperando de nuevo

su capacidad potencial de brotar y la ecolatencia, en la que las yemas a pesar de poseer plenamente su
capacidad de brotar, permanecen en reposo hasta que las mayores temperaturas de la primavera les permitan
su salida de este estado y aseguren el normal desarrollo del nuevo brote (Lang, 1987).

Como ya se ha dicho, las yemas endolatentes de vid poseen un requerimiento mínimo de frío para brotar el
cual se satisface mediante exposiciones a bajas temperaturas (Kliewer y Soleimani 1972). Numerosos
estudios se han efectuado para determinar el requerimiento de frío de la vid el cual se asume ser
característico de cada variedad. Sin embargo, aún hoy existen inexactitudes en la determinación de estos
requerimientos debido a factores ambientales de cada localidad y a los diferentes modelos usados en su
cálculo.
La vid es uno de los cultivos con mayor variabilidad genética con una enorme cantidad de variedades
existentes en la actualidad y repartidas en los más diversos climas. Esto explica en parte el amplio rango de
requerimiento de frío que se le asigna a esta especie, el cual va entre las 150 y 1200 horas de frío. (Westwood,
1982; Lyon y col, 1989). Sin embargo, sus requerimientos promedios de todas maneras son inferiores a la
mayoría de los frutales de hoja caduca (Chandler et al 1937 Westwood, 1982; Lyon et al, 1989).
La falta de frío invernal en la vid produce efectos como:
a) retraso en la brotación de las yemas,
b) brotación errática de éstas,
c) disminución del número de brotes por sarmiento,
d) disminución de racimos por sarmiento
e) poca uniformidad en el desarrollo de los racimos y

f) retraso en la maduración de las bayas

todo lo cual se traduce al final en producciones pobres, tardías y de baja calidad (Wicks et al 1984; Or et al,

2000).

Metabolismo energético de la yema de Vid

Como en todas las plantas superiores, en la vid es la respiración mitocondrial en última instancia la que

proporciona la energía y las cadenas carbonadas para el metabolismo de las diversas etapas de las yemas de

vid. Durante la diferenciación, esta energía, bajo forma de ATP y poderes treducidos (NADH+), es

directamente obtenida de la oxidación de la glucosa en las mitocondrias. En esta etapa, la glucosa es

mayoritariamente obtenida de la fotosíntesis, la cual está en uno de sus períodos más activos debido a la gran

demanda de fotoasimilados por parte de los racimos.

Durante la diferenciación de las yemas los requerimientos energéticos son principalmente debido a la

división celular, necesaria a la formación de los distintos esbozos de órganos del futuro brote y a la

mantención del funcionamiento celular. En efecto, durante este período las yemas de vid son activos centros

de consumo de glucosa lo cual se evidencia por las significativas tasas de respiración observadas en ellas.

Estas tasas respiratorias van disminuyendo a medida que las yemas van entrando en la etapa de paralatencia

para terminar en un nivel mínimo durante la endolatencia.

Tasas de respiración elevadas durante la etapa de diferenciación y de paraletancia, evidencian que durante

este período las yemas están consumiento energía tanto para los procesos de crecimiento como para aquellos

de mantención. En cambio durante la endolatencia las bajas tasa de respiración observadas indican que el
consumo energético sería mínimo debido a que en su totalidad estaría destinado a los procesos de
mantención. Se entiende por procesos de crecimiento todos aquellos relacionados con la división celular y la
síntesis y acumulación de nuevos compuestos y por procesos de mantención, todos aquellos relacionados
con la reposición de moléculas pre - existentes (proteínas) y mantención de la maquinaria metabólica y
estructuras celulares. Así un órgano en pleno desarrollo consumirá proporcionalmente más energía para
crecimiento que uno en latencia, el cual consumirá practicamente toda la energía para mantener sus células
viables hasta que las condiciones sean favorables para reiniciar su crecimiento.

De acuerdo con esos resultados, a inicios del mes de abril, las yemas apicales (sobre el 24 nudo) presentaron aproximadamente un
40% de capacidad para brotar. Por lo tanto, se podría decir que esta proporción de yemas estaba entrando a la
etapa de paralatencia y que el resto (60 %) estaba ya entrando a la endolatencia. En cambio las yemas basales
e intermedias del sarmiento, a esa fecha estaban en cerca de un 80% en estado de endolatencia ya que en
promedio su capacidad para brotar fue muy reducida, menos de un 20%. Según estos mismos resultados la
endolatencia en este cultivar duraría en promedio unos 40 días tanto para las yemas basales como para las
apicales. Entre éstas solo variaría las fechas en que este estado se produciría: en las basales e intermedias la
endolatencia se produjo entre el 10 de abril y el 30 de mayo y en las más apicales entre el 30 de mayo y el 11
de julio.

Terminada la endolatencia, bajo condiciones controladas (25°C) se reinició activamente la brotación. Esta
recuperación de la capacidad de brotar en las yemas basales e intermedias se produjo cuando las yemas habían
acumulado aproximadamente 230 horas de frío (base 7° C) Figura 3. Sin embargo, las yemas que
permanecieron en la planta en el campo, a pesar de tener la capacidad de brotar, permnecieron en ecolatencia
debido a las bajas temperaturas. Esto último se evidencia por las reducidas tasas de respiración observadas,
las cuales se mantuvieron en un nivel mínimo hasta que las horas de frío acumuladas alcazaron un valor
aproximado de 690 H el 23 de Agosto.
Así, cuando los requerimientos de frío se han cumplido y la etapa de endolatencia ha terminado, si las
condiciones de temperatura no son favorables a la brotación, las yemas permanecerán en ecolatencia con
requerimientos energéticos bajos similares a los del período de endolatencia.

durante la 1ª semana de abril,
cuando aún no se iniciava la senescencia de las hojas y el brote staba a la mitad maduro. A esta fecha tanto las
yemas basales como las intermedias ya están con una actividad metabólica mínima a diferencia de las más
apicales que aún presentan altas tasas respiratorias
A diferencia de lo que sucede durante la diferenciación y la paralatencia, en donde el sustrato respiratorio
(glucosa) lo suministra esencialmente la fotosíntesis, durante las etapas de endolatencia; ecolatencia y
desarrollo inicial del brote, éste sustrato lo suministran las reservas de la parra, principalmente constituidas
por almidón (Figura 5). El suministro de glucosa a partir de las reservas de almidón continuará durante toda

la etapa heterotrofa del brote la cual dura hasta que sus primeras hojas hayan alcanzado ¾ partes de su
desarrollo final. En general se estima que a partir de este momento las hojas de vid comienzan a
fotosintetizar suficientes asimilados como para suplir sus propias necesidades y las de las hojas en desarrollo
de la punta del brote. Bajo tales condiciones se estima que el brote ha alcanzado su autónomía en cuanto a
suministro de fotoasimilados y por lo tanto, es autótrofo.

Metabolismo del Frío Invernal en Yemas de Vid

La latencia de las yemas está controlada genéticamente y es naturalmente inducida por el fotoperíodo y las
bajas temperaturas. Su término ocurre en la primavera después que las yemas han acumulado una cierta
cantidad de horas frío. (Scalaberilli y Couvillon, 1986; Rodríguez et al., 1994).

Originalmente se pensó que el estado de latencia de las yemas estaba regulado hormonalmente, en particular
por el ácido abscísico (ABA). En efecto correlaciones positivas entre el contenido de ABA, el número de
horas de frío y el estado de latencia de yemas de diferentes especies hacieron pensar en la directa
participación de este compuesto en la regulación de la latencia de yemas. En vid por ejemplo, en la variedad
Cabernet Sauvignon, Ricouard et al (1994) relacionan la entrada en latencia con altos niveles de ABA y bajos
de putrecina, una poliamina asociada a procesos de floración y senescencia. Por el contrario, la salida de
latencia en esta variedad fue acompañada con bajos niveles de ABA y altos de putrecina. Similares resultados
han sido reportados por Or et al (2000) respecto de la entrada en endolatencia en la variedad Perlette. La
concentración de ABA aumenta significativamente hasta llegar a un máximo cuando se

alcanzó el estado de
endolatencia. Sin embargo, posteriormente estos autores observaron una baja correlación entre el contenido de
ABA y el rompimiento de la latencia. Observaciones similares efectuadas por otros autores hacen por lo tanto, pensar que al menos en el rompimiento de la latencia otros compuestos diferentes al ABA estarían
involucrados. Así, algunos autores han obtenido positivas correlaciones entre el rompimiento de la latencia y
el contenido de etileno (C_2H_4) en yemas de vid (Blendpied 1977; Thobe et al 1992; Gemma 1995).
Resultados obtenidos en vid Delaware por Gemma (1995) indican que el ácido 1-aminocycloprpano -1-
carbónico (ACC), precursor en la síntesis del etileno se acumula en yemas y sarmientos hasta el momento de
la endolatencia para luego ir gradualmente diminuyendo a medida que se acumulan horas de frío.
Aplicaciones de este ácido provocaron rompimiento de latencia en esta variedad, sin embargo, aplicaciones
de etileno (Ethephon) fuero ineficaces en este sentido (Mochioka et al 1998). Por lo tanto, estos resultados
inducen a pensar que tampoco el etileno es el responsable final del rompimiento de las yemas sino que
probablemente compuestos precursores o derivados de su síntesis.
Al observar la reacción que conduce a la transformación del ACC en etileno se tiene que su síntesis es dependiente del oxígeno; que necesita ascorbato; que la reacción es catalizada por
la ACC oxidasa (altamente dependiente de O_2 y el CO_2) y que entre sus productos está el hidrogeno de
cianuro (HCN) compuesto altamente oxidante y que ha sido señalado como estimulante de la síntesis de
glutathione reducido (GSH). El glutathion es un tripéptido que en los vegetales cumple funciones de

detoxificación, e n particular de compuestos altamente oxidantes que como el HCN y el peroxido de
hidrógeno (H_2O_2) se producen bajo condiciones de estress. En efecto, el HCN es altamente tóxico e inhibe la
cadena transportadora de electrones en la mitocondría haciendo bajar la producción de ATP y el H_2O_2 es una
de las especies derivadas del O_2 más reactivas que de no eliminars puede dañar seriamente a proteínas y
lípidos de membranas y otras reacciones metabólicas. Por otra parte estudios efectuados por Tohbe et al
(1998) señalan que aplicaciones de glutathion reducido a yemas de vid producen un significativo
rompimiento de la latencia en el cv Delaware lo que viene a aportar más antecedentes a lo postulado por
Prasad (1996) en el sentido que los efectos del frío en las yemas estarían mediado por la generación de
especies reactivas de O_2 entre los cuales el H_2O_2 sería el más activo.

Orígenes del H_2O_2 en los vegetales.

Diversas reacciones que ocurren en el metabolismo de las células vegetales pueden conducir a la producción
de especies reactivas de oxígeno como el radical hidroxilo (OH•), el radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), el peróxido de hidrógeno y el oxígeno singlete. En general, estas especies se forman por transferencia de un electrón desde
una molécula donora al oxígeno, generando el radical superóxido, que posteriormente es dismutado a H_2O_2.
Uno de los casos mas conocido de generación de radicales $O_2^{\cdot-}$, es el de la ferredoxina en el fotosistema I, que en ausencia de NADP disponible transfiere el electrón al O_2 (Asada y col., 1974). Sin embargo, existen
muchas otras posibles fuentes de especies reactivas de oxígeno.

En vegetales el radical $O_2^{\cdot-}$ puede provenir de diversas fuentes. Una de ellas y que ya se mencionó, es el proceso de la fotosíntesis, en especial cuando ocurre bajo altas intensidades de luz (Asada et al., 1974). Otro origen del $O_2^{\cdot-}$ es el daño de tejidos por patógenos u elicitores que activan una NADPH oxidasa unida a membrana que es muy similar a la que opera en los neutrófilos activos en los seres humanos y que da origen al estrés oxidativo característico de las respuestas hipersensibles (HR) y de resistencia sistémica adquirida (SAR) (Lamb y Dixon, 1997). Una tercera posible fuente de $O_2^{\cdot-}$ puede provenir de la oxidación del ácido salícilico por acción de peroxidasas generando el radical que traspasa su electrón al O_2 (Kawano y Muto, 2000). Las peroxidasas también pueden catalizar la formación de $O_2^{\cdot-}$ y H_2O_2 a través de una reacción compleja en la cual el NADH es oxidado a NAD· que a su vez reduce al O_2, esta reacción es estimulada por monofenoles y Mn^{+2} (Halliwell, 1978). En yemas de uva en estado de endodormancia la actividad de la fotosíntesis debe es nula, por lo cual, es probable que el origen del H_2O_2 en estos tejidos provenga de reacciones catalizadas por peroxidasas cuya actividad podría ser inducida por la exposición al frío o la aplicación de cianamida a las yemas. A este respecto, es interesante señalar que en otros tejidos de uva como hojas y pedicelos la actividad de peroxidasas básicas es inducida por estímulos exógenos como luz y ácido gibérelico (Pérez y Morales, 1999; Pérez y col, 2001). Más aún, trabajos realizados por Razeto y Espinoza (1990) demuestran claramente que las

aplicaciones de ácido
gibérelico por aspersión a toda la planta aumentan significativamente la infertilidad de las yemas, de allí que
se recomienda la aplicación localizada de esta hormona. Este efecto del ácido gibérelico sobre la infertilidad
de yemas, podría deberse a una estimulación excesiva a destiempo de la actividad peroxidasa en las yemas, lo
que podría provocar un estrés oxidativo prolongado que conduciría a la muerte del tejido. Por otra parte, la
plantas disponen de una batería de enzimas destinadas a reducir los niveles de H_2O_2 en los tejidos, como la
catalasa que no utiliza un reductor adicional (Willekens y col., 1995), la ascorbato peroxidasa (APx) que utiliza ácido ascórbico (AsA) como reductor (Durner y Klessig, 1995) y las guaiacol peroxidasas que en
presencia de AsA y fenoles o flavonoides reducen el H_2O_2 (Pérez y col., 2001). En consecuencia, los niveles
de H_2O_2 en los tejidos vegetales pueden ser aumentados ya sea por la acción de algún tipo de estrés o por una
disminución de la actividad de las enzimas detoxificadoras. El doble rol del H_2O_2 como molécula tóxica y
como molécula señal, sugiere que pequeñas variaciones en su concentración en los tejidos debiera ser
suficiente para activar el o los sistemas de transducción de señales conducentes a respuestas fisiológicas, ya
que aumentos mayores podrían tener efectos tóxicos. Es así como, evidencias recientes indican que la
tolerancia a estréses abióticos en plantas, pueden ser inducidos por aumentos pequeños en los niveles de H_2O_2
(Foyer y col., 1994, 1997; Willekens et al., 1995).

Control del nivel endógeno de H_2O_2 por la enzima catalasa

Antecedentes de la literatura indican que la exposición de las yemas al frío inhiben la actividad de la catalasa
(EC 1.11.16) (Nir y col, 1986). La catalasa es una enzima que se encuentra presente en las células aeróbicas y
que descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno molecular y H_2O.

Su rol fisiológico es eliminar el exceso de H_2O_2 producido durante el metabolismo celular evitando de este
modo su acumulación y consiguiente daño celular. Sin embargo, durante el último tiempo han surgido
múltiples evidencias que indican que el H_2O_2 es una molécula que actúa como señal química y que es
generada por las plantas en respuestas a estreses tanto bióticos como abióticos (Prasad y col., 1994; Bartosz,
1997; Foyer y col., 1997).
Por otra parte, inhibición de la actividad de la catalasa también se ha observado luego de aplicaciones de
cianamida hidrogenada (H_2CN_2) a las yemas de vid, Figura 7. En este sentido, la inhibición de la actividad
catalasa ya sea por efecto de la exposición al frío o por aplicación de cianamida debiera producir un
subsecuente aumento en los niveles de H_2O_2 en los tejidos de las yemas de uva, Figura 8.
Este aumento en los niveles de H_2O_2 podría iniciar un proceso de transducción de señales que como resultado
de el fin del estado de endodormancia de las yemas, y así, bajo condiciones favorables iniciar la brotación. Al
respecto cabe preguntarse. ¿Si el mínimo de horas frío necesario para que las yemas inicien su proceso de
ruptura esta relacionado con un cierto nivel o umbral de H_2O_2 en los tejidos ? ¿ La disminución de la
actividad catalasa se debe a una disminución de la cantidad de enzima o a la acción de algún inhibidor

especifico ?. ¿Otros inhibidores de la actividad catalasa como el ácido salísilico y el ácido 2,6-
dicloroisonicotínico reproducen los efectos del frío y de la cianamida en las yemas de vid?

La cianamida hidrogenada es un compuesto altamente tóxico para el ser humano que puede causar daño a los
tejidos verdes de los vegetales, pero que al ser aplicado a las yemas en estado de endolatencia induce la
ruptura de ésta, favoreciendo la brotación de las yemas en zonas con déficit en horas de frío (Shulman y col,
1986; Erez 1987). Así, mediante su correcto uso en estas zonas, este producto produce adelanto en la
brotación de las yemas y finalmente en la madurez de las bayas lo cual resulta económicamente beneficioso
(Erez, 1987; Ortiz 1987; Montes 1990; Pinilla 1993; Sanchez 1998; Or et al, 2000). La falta de suficiente
frío invernal se produce en regiones templadas y desérticas con otoños e inviernos cortos y cálidos en donde
las horas de frío no superan las 200 a 300 H. En Chile esto sucede en la zona de los valles transversales (III y
IV regiones) donde las prácticas para la obtención de cosechas tempranas son altamente deseables. Este
problema plantea, por lo tanto, la necesidad de obtener variedades de vid con bajos requerimientos de frío,
sin embargo, a falta de ellas, actualmente el uso de productos que como la cianamida hidrogenada (H_2CN_2)
induzcan en forma artificial la ruptura de la latencia de las yemas resultan ser determinantes.

H_2O_2 como molécula señal.
El H_2O_2 ha sido involucrado como mediador en una serie de respuestas de las plantas frente a diversos

estréses ya sean de carácter biótico como abiótico. Se ha demostrado por ejemplo que aplicaciones exógenas
de H_2O_2 confieren tolerancia al estrés por frío en coleóptilos de maíz, y que en coleóptilos aclimatados los
niveles endógenos de H_2O_2 aumentan significativamente (Prasad et al, 1994). También se ha demostrado que
el H_2O_2 al igual que el ácido salisílico (SA) inducen termotolerancia en microplantas de papa, y que tallos de
microplantas crecidos en medios que contienen SA poseen niveles significativamente mayores de H_2O_2 y
menores niveles de actividad catalasa (Lopez-Delgado et al., 1998). Por otra parte, existe una amplia literatura
sobre los mecanismos de defensa de las plantas frente al ataque por patógenos, que incluye la respuesta
hipersensibles (HR) y la resistencia sistémica adquirida (SAR) donde generalmente se involucra la
participación de H_2O_2 y del radical superóxido O_2
.- (Lamb y Dixon, 1997). Si bien existen sólidas evidencias
que indican que el H_2O_2 actúa como una señal química que responde frente a diversos estímulos, la pregunta
que corresponde formular a continuación es ¿Como se transduce esa señal (aumento de la concentración de
H_2O_2) en una respuesta celular dada?. Al respecto caven al menos dos alternativas, una es que el H_2O_2 active
directamente la expresión o represión de genes, y la otra, es que actúe en forma indirecta, como por ejemplo
provocando cambios metabólicos que sean detectados por algún tipo de molécula (receptor y o factor de
transcripción) que active o reprima la expresión de genes. En cultivos en suspensión de Arabidopsis thaliana
se ha demostrado la activación directa de una MAP-kinasa por H_2O_2 (Desikan et al, 1999). Las enzimas

kinasas en general están involucradas en la mayoría de los procesos de transducción de señales en células
eucarioticas (Hirt, 1997; Sanssich, 1997; Mizogushi y col, 1997). En yemas de uva recientemente se ha
identificado un transcrito que es inducido por aplicaciones de cianamida que correspondería a una proteína
kinasa del tipo SNF (Or y col., 2000). La actividad de las proteína-kinasas del tipo SNF es regulada por la
relación AMP/ATP intracelular, esto llevo a Trewavas y Mahlo (1997) a postular que este tipo de kinasas
podrían actuar como potenciales pseudo-receptores de alteraciones respiratorias. Por otra parte, se ha
demostrado que el H2O2 en levaduras provoca una represión metabólica rápida de las enzimas involucradas en la glícolisis y en el ciclo de Krebs y una redirección del flujo de carbono hacia el ciclo de las pentosas para la
regeneración de NADPH y sobrellevar de esta forma el estrés oxidativo (Godon et al 1998).
En base a los antecedentes expuestos, se puede postular que la ruptura de la endolatencia en las yemas de uva
se produciría por una acumulación de H 2O2 en sus tejidos. Este aumento en los niveles de H2O2 sería
provocado por la inhibición de la actividad catalasa o por la acción de peroxidasas que oxidan NADH. Ambos
fenómenos serían estimulados por la exposición al frío de los tejidos o por la acción de agentes químicos
como la cianamida hidrogenada.
El aumento en los niveles de H2O2 provocaría alteraciones respiratorias transitorias inhibiendo enzimas de la
glicolisis y del ciclo de los ácidos tricarboxílicos (TCA), favoreciéndose de este modo la vía fermentativa y
provocando además una reorientación del flujo de carbono hacia el ciclo de las pentosas.

Todas estas alteraciones metabólicas tendrían como consecuencia un aumento en los niveles de la relación
AMP/ATP intracelular que induciría la expresión de proteína-kinasas del tipo SNF, las cuales formarían parte
del sistema de transducción de la señal que pondría término a la endolatencia de las yemas.
Es por lo tanto, probable que la activación de genes relacionados con la biosíntesis de hormonas como las
giberelinas y citoquininas sean activados durante este proceso, ya que durante la brotación de las yemas se
inician procesos de división celular, desdoblamiento de almidón y de crecimiento en general que están
regulados por estas hormonas

Manuel Pinto, Waldo Lira, Hector Ugalde y Francisco Pérez.
Grupo de Investigación Enológica (GIE). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Casilla
1004, Santiago, Chile, manpinto@uchile.cl, www.gie.uchile.cl.