

TRIGO

Fitomejoramiento Fisiológico II: Una Guía de Campo para la Caracterización Fenotípica de Trigo

Alistair Pask, Julián Pietragalla, Debra Mullan,
Perla Chávez y Matthew Reynolds (Eds.)



CIMMYT^{MR}

Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo

TRIGO

Fitomejoramiento Fisiológico II: Una Guía de Campo para la Caracterización Fenotípica de Trigo

Alistair Pask, Julián Pietragalla, Debra Mullan,
Perla Chávez y Matthew Reynolds (Eds.)



Agradecimientos

Los autores agradecen atentamente a los siguientes organismos por su generoso apoyo a las iniciativas del fitomejoramiento fisiológico:

- Corporación para la Investigación y el Desarrollo de Cereales (GRDC), Australia.
- Agencia de los Estados Unidos para el Desarrollo Internacional (USAID), Estados Unidos de América.
- Programa de Modernización Sustentable de la Agricultura Tradicional (MasAgro), México.
- Iniciativa para un Sistema de Cereales para Asia del Sur (CSISA).
- Ministerio Federal de Cooperación Económica y Desarrollo (BMZ), Alemania.
- Programa Desafío de Generaciones (GCP), México.

El Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo, conocido por su acrónimo CIMMYT®, (www.cimmyt.org), es una organización de investigación y capacitación sin fines de lucro, con instituciones colaboradoras en más de 100 países, que trabaja para incrementar la productividad del maíz y el trigo de manera sustentable con el objetivo de garantizar la seguridad alimentaria global y la reducción de la pobreza. Los productos y servicios que este centro brinda incluyen variedades mejoradas de maíz y trigo, y de sistemas de siembra y cultivo, conservación de los recursos genéticos del maíz y el trigo, y la formación de capacidades. El CIMMYT pertenece y ha sido fundado por el Grupo Consultivo en Investigación Agrícola Internacional (CGIAR, acrónimo del inglés *Consultative Group on International Agricultural Research*) (www.cgiar.org). El CIMMYT también recibe apoyo de gobiernos nacionales, fundaciones, bancos de desarrollo, y otras agencias públicas y privadas. El CIMMYT agradece particularmente la generosa aportación de fondos no restringidos que le han permitido mantenerse como una institución sólida y eficaz a través de muchos años.

© Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo, (CIMMYT) 2013. Todos los derechos reservados. Las designaciones empleadas en la presentación de los materiales incluidos en esta publicación no implican la expresión de opinión alguna sobre lo que se escribe, por parte del CIMMYT o de sus organizaciones colaboradoras respecto al estado legal de cualquier país, territorio, ciudad o área, o de las autoridades de éstos, o concerniente a la delimitación de sus fronteras o bordes limítrofes. El CIMMYT promueve el uso justo y apropiado de este material. Sólo se solicita una cita apropiada para este propósito:

Cita correcta (versión en Español): Pask, A.J.D., Pietragalla, J., Mullan, D.M., Chávez-Dulanto P.N. y Reynolds, M.P. (Eds.) (2013) Fitomejoramiento Fisiológico II: Una Guía de Campo para la Caracterización Fenotípica de Trigo. México, D.F.: CIMMYT.

Descriptores AGROVOC: Trigo, Fisiología, Estrés por sequía, Recursos genéticos, Fenotipos, Dosel vegetal, Temperatura, Mejoramiento de cultivos, Marcadores genéticos, Adaptación fisiológica, Cultivo, Agricultura, Conservación.

Códigos de categoría AGRIS:
F01 Cultivos para Ganadería
F30 Fitomejoramiento y Genética Vegetal
F63 Fisiología Vegetal - Reproducción

Clasificación decimal Dewey: 631.531 PAS

ISBN: 978-607-8263-20-2

Diseño y maquetaría: Marcelo Ortiz, Eliot Sánchez P. y Miguel Mellado.

Fotografías de la portada (en orden desde la parte superior hacia la izquierda):

Medición de la temperatura del dosel con un termómetro infrarrojo. Alistair Pask.

Medición de la conductancia estomática con un porómetro de mano. Mary Attaway.

Medición del contenido de clorofila con un clorofilómetro Minolta SPAD-502. Julián Pietragalla.

Toma de mediciones de interceptación de luz con un ceptómetro de mano. Julián Pietragalla.

Muestreo de suelo utilizando un perforador hidráulico montado en un tractor. Alistair Pask.

Un fitomejorador en un campo de trigo en el Noroeste de México. Petr Kosina.

Fotografías de la cubierta trasera:

Medición del contenido de clorofila en el instituto de Investigación Agrícola Ayub, Faisalabad, Pakistán. Muhammad Shahbaz Rafique.

Índice

Introducción

- 2 **Introducción**
Matthew Reynolds, Alistair Pask y Julián Pietragalla

Características de la temperatura del dosel, conductancia estomática y relaciones hídricas

- 10 **Capítulo 1. Temperatura del dosel**
Julián Pietragalla
- 15 **Capítulo 2. Conductancia estomática**
Julián Pietragalla y Alistair Pask
- 18 **Capítulo 3. Potencial hídrico de la hoja**
Carolina Saint Pierre y Jose Luis Barrios González
- 21 **Capítulo 4. Ajuste osmótico**
Carolina Saint Pierre y Vania Téllez Arce
- 25 **Capítulo 5. Contenido relativo de agua en hoja**
Daniel Mullan y Julián Pietragalla
- 28 **Capítulo 6. Discriminación isotópica de carbono**
Marta Lopes y Daniel Mullan

Índices de reflectancia y medición de pigmentos

- 32 **Capítulo 7. Reflectancia espectral**
Julián Pietragalla, Daniel Mullan y Raymundo Sereno Mendoza
- 37 **Capítulo 8. Índice de vegetación de diferencia normalizada**
Julián Pietragalla y Arturo Madrigal Vega
- 41 **Capítulo 9. Contenido de clorofila**
Debra Mullan y Daniel Mullan

Fotosíntesis e interceptación de luz

- 46 **Capítulo 10. Cobertura vegetal del suelo**
Daniel Mullan y Mayra Barceló García
- 54 **Capítulo 11. Interceptación de luz**
Daniel Mullan y Julián Pietragalla
- 58 **Capítulo 12. Área foliar, área verde del cultivo y senescencia**
Alistair Pask y Julián Pietragalla
- 63 **Capítulo 13. Intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila**
Gemma Molero y Marta Lopes

Análisis directo del crecimiento

- 72 **Capítulo 14. Determinación de etapas claves de desarrollo**
Alistair Pask
- 78 **Capítulo 15. Biomasa de temporada**
Julián Pietragalla, Debra Mullan y Eugenio Pérez Dorame
- 83 **Capítulo 16. Contenido de carbohidratos solubles en agua**
Julián Pietragalla y Alistair Pask
- 87 **Capítulo 17. Muestreo de suelo para la determinación de contenido de humedad, nutrientes y raíces**
Marta Lopes, J. Israel Peraza Olivas y Manuel López Arce.
- 95 **Capítulo 18. Rendimiento de grano y componentes de rendimiento**
Julián Pietragalla y Alistair Pask

Observaciones del cultivo

- 106 **Capítulo 19. Características morfológicas del cultivo**
Araceli Torres y Julián Pietragalla
- 113 **Capítulo 20. Observaciones de daño durante la temporada de cultivo**
Alistair Pask y Julián Pietragalla

Recomendaciones generales

- 120 **Capítulo 21. Recomendaciones generales para buenas prácticas de campo**
Alistair Pask y Julián Pietragalla
- 126 **Capítulo 22. Recomendaciones generales para el uso de instrumentos**
Julián Pietragalla y Alistair Pask
- 130 **Apéndice: Glosario y abreviaciones**

Versión autorizada en Español de la obra publicada en Inglés con el título:

Physiological Breeding II: A Field Guide to Wheat Phenotyping.

Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo, CIMMYT®

Colaboración en la traducción de la versión en Español:

- Noel Pimienta Valenzuela
(Introducción y Capítulos 1, 3, 4, 5 y 17)
Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo (CIMMYT), México

Estudiantes de Doctorado del Programa MasAgro, México:

- Oscar González Navarro
(Capítulos 10 y 22)
University of East Anglia, Reino Unido
- Francisco Piñera Chávez
(Capítulos 19 y 20)
University of Nottingham, Reino Unido
- Alejandro Quintero Anaya
(Capítulos 14 y 18)
Universidad Austral de Chile, Chile.
- Carolina Rivera Amado
(Capítulos 2, 15 y 21)
University of Nottingham, Reino Unido
- Viridiana Silva Pérez
(Capítulos 6, 9 y 13)
Australian National University, Australia
- Eliseo Trujillo Negrello
(Capítulos 7, 8, 11, 12 y 16)
University of Nottingham, Reino Unido

Revisión:

Perla Chávez Dulanto

Centro Internacional de Mejoramiento del Maíz y el Trigo (CIMMYT), México

TRIGO

Introducción



Introducción

Matthew Reynolds, Alistair Pask y Julián Pietragalla

Este manual describe el uso de diversas técnicas para la caracterización fenotípica en la investigación agrícola aplicada, con énfasis en métodos comúnmente usados en el Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT). El manual proporciona una guía sobre medidas exactas y confiables de rasgos fisiológicos a través del ciclo del cultivo, siguiendo de este modo la teoría presentada en el Volumen 1 de Fitomejoramiento Fisiológico (Enfoques interdisciplinarios para mejorar la adaptación del cultivo).

Sección 1: Características de la temperatura del dosel, conductancia estomática y relaciones hídricas

Estas características están relacionadas por la necesidad de las plantas de transpirar agua para la fijación de carbono (véase Cossani *et al.*, Volumen 1). La temperatura del dosel (CT, acrónimo del inglés *canopy temperature*) y la discriminación de isótopos de carbono (CID, acrónimo del inglés *carbon isotopic discrimination*), han tenido una amplia aplicación en el fitomejoramiento para sobreponerse al estrés, ya que estos parámetros integran rápidamente los efectos de muchas plantas dentro del dosel de un cultivo y por lo tanto reducen los errores asociados con la variación planta-a-planta y hoja-a-hoja. Una CT más fresca se asocia positivamente al rendimiento bajo condiciones de estrés por calor y sequía, y tanto las evidencias fisiológicas (Lopes y Reynolds, 2010) como genéticas (Pinto *et al.*, 2010), sugieren que esto se asocia con la capacidad vascular/radicular. Sin embargo, la CT es también muy sensible al ambiente y requiere de condiciones de cielo despejado y vientos ligeros para una lectura confiable. La medición de CID en tejidos de hojas sin estrés durante etapas de desarrollo temprano, se ha empleado para seleccionar genotipos mediante la eficiencia de transpiración (TE, acrónimo del inglés *transpiration efficiency*) en ambientes donde es necesario el uso conservativo del agua en una etapa temprana para compensar la disponibilidad extremadamente limitada del recurso durante el llenado de grano (Condon *et al.*, 2004). De hecho, la señal de CID emitida por cualquier tejido determinado, refleja el promedio de la concentración de dióxido de carbono interno durante su crecimiento. Por lo tanto, cuando la CID se mide en granos de diferentes cultivares – especialmente los de cultivos bajo estrés hídrico – es muy probable que indique su acceso relativo al agua en vez de la eficiencia del uso del agua *per se*. Por lo tanto, la interpretación de los datos de CID debe considerar siempre las condiciones del medioambiente de crecimiento y los efectos genéticos

que influyen en la cantidad de agua disponible para el cultivar, y por consiguiente, la respuesta estomática. No obstante, medir la CID es más costoso que medir la CT o la conductancia estomática, y requiere acceso a un espectrómetro de masas.

La conductancia estomática ha sido propuesta como una herramienta de selección, ya que cuando es medida en múltiples plantas de un dosel, es igualmente efectiva que la CID o la CT (Condon *et al.*, 2008). Aunque la instrumentación es menos robusta que la usada para la termometría infrarroja, las mediciones son mucho más lentas que las de CT (ya que se hace repetitivamente en hojas individuales) y se requiere de contacto directo con la hoja para hacer la medición, lo cual podría afectar la extrema sensibilidad de los estomas. Los resultados proporcionan medidas repetibles en tiempo real del desempeño estomático en condiciones de campo sin la necesidad de procesamientos destructivos o de laboratorio. El potencial hídrico de la hoja (LWP, acrónimo del inglés *leaf water potential*) toma aún más tiempo para medirse que la conductancia estomática, por lo cual no es una técnica para la caracterización de un gran número de genotipos; sin embargo, cuando se mide durante el día, proporciona una medida definitiva del estado de la energía del agua en la hoja, y cuando se mide antes del amanecer, proporciona un estimado del potencial del agua del suelo de la zona activa de raíces de un genotipo. Por lo tanto, el LWP es una herramienta poderosa y precisa para estimar el estatus de la energía del agua en el cultivo y en el suelo; aunque laborioso, puede proporcionar datos de referencia útiles en al menos unas cuantas parcelas, tales como en las hileras de plantas del tratamiento control. El contenido relativo de agua es una alternativa para la estimación del estado de hidratación que no requiere de instrumentación especializada, ni involucra costes de muestreo significativos, pero tiende a ser menos preciso, probablemente debido a que incluye varios pasos de pesado de la muestra. El ajuste osmótico (OA, acrónimo del inglés *osmotic adjustment*) no es un parámetro sencillo de medir debido a que el potencial hídrico de la zona radicular debe controlarse para lograr la estandarización (la cual se opone en gran parte a los filtros en campo, donde la profundidad de la raíz confundiría la expresión del OA). Lo valioso de esta característica se debe a que resiste la deshidratación de las células y tejidos, ya que permite la retención de agua a pesar de los gradientes desfavorables de potencial hídrico, el cual ha sido implicado en el mantenimiento del crecimiento radicular bajo sequía (Morgan y Condon, 1986).

Sección 2: Medición de pigmentos e índices de reflectancia espectral

Las técnicas de medición de reflectancia espectral (SR, acrónimo del inglés *spectral reflectance*) - que emplean las longitudes de onda visible e infrarroja (IR) - son fáciles y rápidas de aplicar en el campo y no requieren de un muestreo destructivo, por lo cual las parcelas experimentales pueden ser más pequeñas (disminuyendo costos) y las mediciones pueden repetirse muchas veces sobre la misma área de cultivo. Muchos índices de SR pueden calcularse para un número de características del cultivo – vegetativas, pigmentos y contenido de agua –, lo cual muestra diversidad genética (véase Mullan, Volumen 1). Aquellos índices que han mostrado la asociación más confiable con el desempeño del cultivo son los índices hídricos, y en menor medida, los índices vegetativos (Babar *et al.*, 2006; Gutierrez-Rodríguez *et al.*, 2010). La ventaja de estos últimos es que existe un sensor dedicado a esto – el ‘GreenSeeker’ (en inglés, ‘buscador de verde’) (unidad portable, 2002 Ntech Industries, Inc., Ukiah, CA, USA), facilitando la evaluación de un alto número de genotipos; este equipo aún se encuentra en desarrollo para los índices hídricos (ML. Stone, Oklahoma State University, comunicación personal). No obstante, una única medición con un radiómetro puede proporcionar información de muchas características potenciales útiles, haciéndolo una inversión muy provechosa. La principal desventaja de las mediciones realizadas con radiómetros es que éstas deben tomarse cuando el ángulo solar es alto para evitar datos confusos.

El contenido de clorofila de la hoja puede medirse directamente a través de varios equipos específicos; el más común y fácil de usar es el SPAD-metro de mano (Spectrum Technologies Inc., Plainfield, IL, USA). El SPAD y el GreenSeeker tienen su propia fuente de luz (sensores activos), lo cual les permite ser utilizados bajo cualquier condición.

Sección 3: Fotosíntesis e interceptación de luz

La tasa fotosintética es el principal conductor del rendimiento en cultivos adaptados agrónomicamente. Una medición directa del intercambio de gases utilizando un analizador de gases por infrarrojos (IRGA) puede llevarse a cabo en campo para cuantificar la tasa fotosintética a nivel de hoja. Sin embargo, las mediciones toman mucho tiempo, requieren de equipos costosos y – debido a que las mediciones se realizan con una hoja/órgano a la vez - no son integrativas (véase Lopes, Nogues y Molero, Volumen 1). Aunque la expresión de la tasa fotosintética con luz saturada en la hoja bandera ha sido asociada con el rendimiento, otras características más fáciles de medir como la CT y la

conductancia estomática, muestran también una buena asociación (Fisher *et al.*, 1998). La florescencia de la clorofila es más rápida de medir que el intercambio de gases, y se ha demostrado que explica la variación genética del desempeño del cultivo (Araus *et al.*, 1998); aunque aún no ha sido adoptada como un procedimiento de rutina en los programas de fitomejoramiento debido a que su protocolo no es sencillo.

En ausencia de otras restricciones (por ejemplo, relativamente en ambientes de alto rendimiento), el crecimiento del cultivo es limitado por la luz. Por lo tanto, la medición de la interceptación de luz puede ser una representación de la capacidad fotosintética de una parcela en etapas de desarrollo tempranas cuando la cobertura del suelo es aún incompleta, y hacia el final del ciclo del cultivo, ya que las hojas del dosel envejecen. No obstante, los índices espectrales más recientes, tales como el índice de la diferencia normalizada de la vegetación (NDVI), posiblemente puede proporcionar estimaciones más confiables del área verde (Lopes y Reynolds, 2012). El índice de área foliar (LAI, acrónimo del inglés *leaf area index*) o el índice de área verde (GAI, acrónimo del inglés *green area index*) son formas precisas de estimar la capacidad de captura de luz de un dosel vegetal y, aunque la interceptación de luz tiende a saturarse a un LAI > 3, la distribución de las hojas puede afectar a la eficiencia de uso de la luz (Parry *et al.*, 2011). La cobertura de suelo temprana es también una característica adaptativa muy valiosa que, por ejemplo, puede reducir la pérdida de agua del suelo por evaporación (Mullan y Reynolds, 2010). Esta puede medirse usando imágenes digitales capturadas por una cámara, permitiendo la evaluación de esta característica de manera rápida y de bajo coste en grandes poblaciones.

Sección 4: Análisis directo del crecimiento

Varias características relacionadas con el crecimiento pueden estimarse – y las diferencias genéticas pueden establecerse de manera efectiva – utilizando algunos de los protocolos descritos anteriormente: por ejemplo, la biomasa de la temporada puede estimarse con los índices espectrales, la capacidad de las raíces puede ser estimada con la CT, y aún el rendimiento puede estimarse bastante bien en una variedad de ambientes con ambos métodos. Sin embargo, sólo la medición directa pueden proporcionar valores absolutos; los protocolos de muestreo para el análisis de crecimiento se describen en esta sección. Esto incluye la determinación exacta del rendimiento y sus componentes, ya que expresan el efecto neto de muchas características descritas y demuestran las interacciones de éstas con las condiciones ambientales. El análisis del crecimiento debería incluir una estimación de los

carbohidratos solubles en agua presentes en el tallo, ya que son la principal fuente de reserva o de carbohidratos almacenados, que son especialmente importantes para el llenado de grano bajo condiciones de estrés. También se presentan los alcances de muestreo de raíces y suelo, importantes para el entendimiento de las relaciones agua-planta (véase Herrera *et al.*, Volumen 1). Esta sección también aborda la determinación de las etapas claves de desarrollo, las cuales son un prerrequisito para la correcta interpretación de los datos fisiológicos (véase Slafer, Volumen 1).

Sección 5: Observación del cultivo

Muchos caracteres anatómicos y morfológicos han sido asociados con una ganancia genética en el rendimiento, incluyendo hojas erectas bajo condiciones de alto rendimiento (Fischer, 2007), cera y pubescencia bajo estrés abiótico (Reynolds *et al.*, 2009), y pedúnculos largos bajo sequía (Acevedo *et al.*, 1991). La ventaja de todas estas características es que pueden medirse rápidamente o visualmente. En efecto, las escalas visuales pueden usarse para evaluar casi cualquier característica anatómica o morfológica, por ejemplo para evaluar el efecto del acame, heladas o daño por granizo.

Sección 6: Recomendaciones generales

Esta sección pretende proporcionar consejos selectos para incrementar la precisión de la medición de las características fisiológicas, tratando de evitar errores comunes que reducen la calidad de los datos o desperdician recursos. También incluye recomendaciones relacionadas al uso correcto de los instrumentos, así como un glosario de términos.

Se incluyen tres **tablas de resumen** en esta introducción, para asistir al lector:

- 1) Información general de técnicas de caracterización fenotípica en trigo - detallando las características fisiológicas medidas, la razón para medirlas, las ventajas y desventajas de cada enfoque.
- 2) Recursos requeridos para cada técnica de caracterización fenotípica - detallando el instrumento y los recursos (en cuanto a costo y tiempo) requeridos, así como los ambientes experimentales recomendados.
- 3) Un calendario para mediciones de caracterización fenotípica - proporcionando una guía de las etapas de desarrollo visuales más típicas, para tomar medidas individuales durante el desarrollo del cultivo, y aquellas etapas no recomendadas.

Referencias

- Acevedo, E., Craufurd, P.Q., Ausn, R.B. y Pérez-Marco, P. (1991) Traits associated with high yield in barley in low-rainfall environments. *Journal of Agricultural Science* 116, 23–36.
- Araus, J.L., Amaroa, T., Voltas, J., Nakkoulc, H. y Nachit, M.M. (1998) Chlorophyll fluorescence as a selection criterion for grain yield in durum wheat under Mediterranean conditions. *Field Crops Research* 55, 209–223.
- Babar, M.A., Reynolds, M.P., van Ginkel, M., Klau, A.R., Raun, W.R. y Stone, M.L. (2006) Spectral reflectance to estimate genetic variation for in-season biomass, leaf chlorophyll and canopy temperature in wheat. *Crop Science* 46, 1046–1057.
- Condon, A.G., Richards, R.A., Rebetzke, G.J. y Farquhar, G.D. (2004) Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany* 55, 2447–2460.
- Condon, A.G., Reynolds, M.P., Rebetzke, G.J., van Ginkel, M., Richards, R. y Farquhar, G. (2008) Stomatal aperture-related traits as early generation selection criteria for high yield potential in bread wheat. In: Reynolds, M.P., Pietraglia, J. and Braun, H. (Eds.). *International Symposium on Wheat Yield Potential: Challenges to International Wheat Breeding*. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Fischer, R.A. (2007) Understanding the physiological basis of yield potential in wheat. *Journal of Agricultural Science* 145, 99–113.
- Fischer, R.A., Rees, D., Sayre, K.D., Lu, Z-M., Condon, A.G. y Saavedra, A.L. (1998) Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate and cooler canopies. *Crop Science* 38, 1467–1475.
- Gutierrez-Rodriguez, M., Reynolds, M.P. y Klau, A.R. (2010) Association of water spectral indices with plant and soil water relations in contrasting wheat genotypes. *Journal of Experimental Botany* 61, 3291–3303.
- Lopes, M.S. y Reynolds, M.P. (2010) Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biology* 37(2), 147–156.
- Lopes, M.S. y Reynolds, M.P. (2012) Stay-green in spring wheat can be determined by spectral reflectance measurements (normalized difference vegetation index) independently from phenology. *Journal of Experimental Botany* (in review).
- Morgan, J.M. y Condon, A.C. (1986) Water use, grain yield, and osmoregulation in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 13, 523–532.
- Mullan, D.J. y Reynolds, M.P. (2010) Quantifying genetic effects of ground cover on soil water evaporation using digital imaging. *Functional Plant Biology* 37, 703–712.
- Parry, M.A.J., Reynolds, M.P., Salvucci, M.E., Raines, C., Andralojc, P.J., Zhu, X.G., Price, G.D., Condon, A.G. y Furbank, R.T. (2011) Raising yield potential of wheat. II. Increasing photosynthetic capacity and efficiency. *Journal of Experimental Botany* 62(2), 453–467.
- Pinto, R.S., Reynolds, M.P., Mathews, K.L., McIntyre, C.L., Olivares-Villegas, J.J. y Chapman, S.C. (2010) Heat and drought Adaptive QTL in a wheat population designed to minimize confounding agronomic effects. *Theoretical and Applied Genetics* 121, 1001–1021.
- Reynolds, M.P., Manes, Y., Izanloo, A. y Langridge, P. (2009) Phenotyping for physiological breeding and gene discovery in wheat. *Annals of Applied Biology* 155, 309–320.

Tabla 1. Perspectiva general de las técnicas de caracterización fenotípica en trigo.

Medición	Característica Fisiológica	Razón para medir la característica	Ventajas de la herramienta	Desventajas de la herramienta
1.- Temperatura del dosel	Enfriamiento por evaporación desde la superficie del dosel.	Relacionada con muchos factores fisiológicos: conductancia estomática, estado hídrico de la planta, desempeño de raíces y del rendimiento bajo una variedad de ambientes.	Integrativa; rápida, fácil y económica de medir, no destructiva; a distancia (remota).	Sensible a cambios ambientales; interacción con la hora del día y fenología.
2.- Conductancia Estomática	Apertura de estomas.	Capacidad de intercambio de gases; tasa de transpiración; potencial fotosintético; adaptación a estrés por calor.	Medición relativamente rápida de la actividad estomática; no destructiva.	Los estomas son sensibles a la manipulación; un solo punto de medición.
3.- Potencial hídrico de la hoja	Estado hídrico de la hoja.	Adaptación al estrés hídrico; estimación del potencial hídrico del suelo en la zona activa de raíces.	Medida definitiva de la energía del agua en la hoja.	Se requiere de alta presión; mediciones consecutivas (día y noche).
4.- Ajuste osmótico	Concentración de solutos en las células para mantener la turgencia/	La función estomática es dependiente de la turgencia, la función y protección del fotosistema, y de la adaptación al estrés hídrico.	Se requiere un pequeño número de muestras; técnica relativamente simple.	Se requiere de un laboratorio; se necesita un osmómetro para realizar la medición; se requiere control del contenido de agua en el suelo.
5.- Contenido relativo de agua en hojas	Estado de hidratación de la hoja.	Adaptación al estrés hídrico.	Medición simple y económica; un enfoque de baja tecnología.	Se requiere de una balanza semi-analítica (hasta 3 dígitos de fracción).
6.- Discriminación de isótopos de Carbono	Medición integrativa de la apertura estomática.	Estimación de la absorción de agua y de la eficiencia de transpiración (ET)	Un muestreo de hojas, da un pronto estimado de ET; el muestreo de grano es rápido y fácil, y da una medición integrativa.	La interpretación de datos es complicada; el análisis de muestras es externalizado.
7.- Reflectancia espectral	Vegetativa, pigmentos e índices hídricos.	Estimación de la biomasa verde, Índice de área foliar (LAI), potencial fotosintético y estado hídrico de la planta.	Todos los índices están disponibles a partir de una sola medición; integrativa; no destructiva.	La interpretación de datos es complicada; los sensores pueden ser relativamente costosos.
8.- Índice de diferencia normalizada de la vegetación	Tamaño del dosel, verdor vegetativo.	Estimación de una cobertura temprana, biomasa pre-floración, contenido de nitrógeno, mantenimiento del verdor post-floración.	Medición rápida, fácil y económica; integrativa y no destructiva.	Los sensores pasivos son limitados a buenas condiciones de luz (resuelto con sensores 'activos').
9.- Contenido de clorofila	Contenido de clorofila de los tejidos verdes.	Indica el potencial fotosintético; efectos del estrés; deficiencia de nutrientes; mantenimiento del verdor.	Medición rápida, fácil y económica; no destructiva.	Un solo punto de medición - los datos necesitan ser integrados a lo largo de todo el dosel verde.
10.- Cobertura del suelo del cultivo	Vigor temprano (área verde y biomasa).	Interceptación temprana de la radiación; estimación temprana de la evaporación de la humedad del suelo.	Medición rápida, fácil y económica; integrativa; no destructiva.	Se requiere de software y habilidades para procesar las imágenes de cobertura de suelo.
11.- Interceptación de luz	Interceptación de la luz por el dosel.	Permite el cálculo del índice de área verde (GAI), y de K (coeficiente de extinción del dosel); relacionado con la arquitectura del dosel.	Rápida de medir; no destructiva.	Sensible a cambios ambientales; interacción con la hora del día y la fenología.
12.- Índice de área foliar, índice de área verde y senescencia.	Área fotosintética de la hoja/dosel.	Relacionado con la interceptación de luz y el rendimiento fotosintético, superficie para transpiración, biomasa del cultivo.	Fácil de medir; medición absoluta.	Típicamente medida por muestreo destructivo; los medidores de área foliar pueden ser lentos.
13.- Intercambio de gases (para fotosíntesis)	Fotosíntesis de hoja planta y espiga, y respiración.	Medida relacionada a la tasa de respiración, potencial fotosintético, adaptación al estrés por calor y respuestas a las variables ambientales.	La cámara permite un control preciso de las variables ambientales (tales como concentración de CO ₂ y H ₂ O, temperatura y luz).	Sólo para caracterización fenotípica de precisión - no adecuada para grandes evaluaciones; se requiere de un alto entrenamiento para su operación.

Medición	Característica Fisiológica	Razón para medir la característica	Ventajas de la herramienta	Desventajas de la herramienta
13.- Fluorescencia de la clorofila	F_v/F_m , rendimiento cuántico del PSII (ϕ_{PSII}), extinción no fotoquímica, respuesta de curva de luz, tasa de transporte de electrones.	Determinación del estado del aparato fotosintético.	Más fácil y rápido que los sistemas de intercambio gaseoso. Excelente para grandes poblaciones y respuesta de las plantas ante el estrés.	Capacitación/ entrenamiento es esencial.
14.- Determinación de las etapas claves del desarrollo	Etapas de desarrollo del cultivo.	Esencial para optimizar el tiempo de muestreo; proporciona una tasa de desarrollo.	Relativamente rápido y fácil de observar.	Las observaciones son subjetivas, capacitación/ entrenamiento es esencial.
15.- Biomasa de la temporada	Crecimiento del cultivo y tasa de crecimiento del cultivo.	Para calcular el uso eficiente de la radiación (RUE); indica la eficiencia fotosintética; partición de asimilados de la planta hacia los órganos; morfología; análisis de nutrientes/metabolitos.	Integrativa; medición absoluta.	Requiere de tiempo y es laborioso; requiere de hornos con gran capacidad para el secado de muestras.
16.- Carbohidratos solubles en agua.	Acumulación de carbohidratos (azúcar) en los tallos.	Permite la estimación de la capacidad de almacenamiento de los tallos (lo cual contribuye al llenado de grano).	El muestreo puede ser combinado con el muestreo de biomasa; enfoque simple.	Los carbohidratos de los tallos se consumen rápidamente por respiración - las muestras necesitan procesarse rápidamente; el análisis de muestras es típicamente externo.
17.- Extracción de muestras de suelo para contenido de humedad	Contenido de humedad en el suelo, absorción de agua.	Absorción de agua por el cultivo; permite calcular la eficiencia del uso del agua (WUE), para biomasa y rendimiento.	Medición directa del contenido de agua del suelo y absorción de agua del cultivo.	El muestreo de suelos manual es laborioso; el suelo es heterogéneo y requiere múltiples muestreos.
17.- Extracción de muestras de suelo para contenido de raíces.	Características de las raíces.	Asociación de las raíces con el consumo de agua y nutrientes del cultivo.	Permite la evaluación de cultivos en campo.	Similar al anterior; el lavado y preparación de las raíces, para el escaneo es laborioso.
18.- Rendimiento	Producción de grano.	El rendimiento es la última expresión de todos los procesos fisiológicos.	Integrativa; medida absoluta.	Laborioso, se requiere de maquinaria para la cosecha y trilla.
18.- Componentes de rendimiento	Fertilidad del cultivo; determinación del rendimiento.	Determinación del rendimiento mediante componentes numéricos; relaciones fuente/demanda de asimilados.	Relaciona el rendimiento con los procesos fisiológicos mediante el crecimiento del cultivo.	Laborioso.
19.- Características morfológicas del cultivo.	Observables; cera, enrollamiento, pubescencia, grosor, ángulo, orientación, postura. Medibles: longitudes (pedúnculo, hojas y aristas) y altura de planta.	Características adaptativas de foto-protección a estrés por calor/sequía; proporciona información de la arquitectura del cultivo/dosel; riesgo de acame.	Rápida, fácil y económica de medir; no se requieren instrumentos; no destructiva.	Las observaciones son subjetivas, por lo que capacitación/ entrenamiento es esencial.
20.- Daño durante la temporada	Daño a espiga por inflexión (torcimiento), acame, daño por clima/enfermedades.	Información útil para explicar el desempeño del cultivo y asistir a la interpretación de datos.	Sólo observaciones, no se requiere de instrumentos.	Las observaciones son subjetivas, por lo que capacitación/ entrenamiento es esencial.

Tabla 2: Recursos requeridos para cada técnica de caracterización fenotípica.

Medición	Instrumento	Costo unitario de instrumento (US\$)	Tiempo en campo por parcela	Tiempo de procesamiento en laboratorio por parcela	Tiempo de procesamiento de datos por parcela	Ambientes mas representativos
Temperatura del dosel	Termómetro infrarrojo	150-500	+	Ninguno	+	Todos
Conductancia estomática	Porómetro	2500-4000	++++	Ninguno	+	Riego/Calor
Potencial hídrico de hoja	Cámara de presión Scholander	2500-5000	+++	Ninguno	+	Sequía/Calor
Ajuste Osmótico	Osmómetro Presión de vapor	5000-10000	++	+++	+	Sequía
Contenido relativo de agua en hoja	Balanza semi-analítica (hasta 3 decimales)	2000-5000	++	+++	+	Sequía
Discriminación de isótopos de carbono de tejido de hoja/grano	Espectrómetro de masas	Servicio externo, > 10 por muestra	++	++++	+	Todos
Reflectancia espectral	Radiómetro espectral/ espectrómetro	5000-60000	+	Ninguno	+++	Todos
Índice de diferencia normalizada de la vegetación	“Greenseeker” medidor de NDVI	2500-5000	+	Ninguno	++	Todos
Contenido de clorofila	Medidor de clorofila (clorofilómetro)	200-3000	+++	Ninguno	+	Todos
Cobertura de suelo por el cultivo	Cámara digital	150-500	+	Ninguno	++	Todos
Interceptación de luz	Ceptómetro	1500	++	Ninguno	++	Todos
Índice de área foliar e índice de área verde	Medidor de área foliar	4000-9000	++	+++	+	Todos
Intercambio de gases	Analizador de gases por infrarrojos	20000-50000	+++++	Ninguno	+++	Todos
Fluorescencia de la clorofila	Fluorímetro	2000-25000	++	Ninguno	++	Todos
Determinación de las etapas clave de desarrollo	Ninguno	Ninguno	+	Ninguno; ++ para ID con microscopio	+	Todos
Biomásas durante el ciclo	Ninguno	Ninguno	+++	++++	+	Todos
Carbohidratos solubles en agua	Molino para trituración de muestras; espectroscopio de reflectancia en el infrarrojo cercano.	Servicio externo a 0.50 (NIRS) ó 5 por muestra (Antrona)	++	++++	+	Todos
Extracción de muestras de suelo para contenido de humedad	Barrenador manual; martillo percutor; Barrenador hidráulico de tractor.	500-2000; 15000; 15000 respectivamente	+++++ (a mano); +++ (tractor)	++++	+	Todos
Extracción de muestras de suelo para contenido de raíces	Igual que el anterior	Igual que el anterior	Igual que el anterior	+++++	+	Todos
Rendimiento	Cosechadora combinada de parcela	80000-180000	++++	+++	+	Todos
Componentes de rendimiento	Trilladora estacionaria de parcela; trilladora de bultos pequeños; contador de granos automático/manual.	20000-30000; 7000-10000; 5000-7000/200	++++	++++	+	Todos
Características morfológicas del cultivo	Ninguno	Ninguno	++	Ninguno	+	Todos
Daño durante la temporada	Ninguno	Ninguno	++	Ninguno	+	Todos

Clave: El tiempo es dividido en: + (<30 segundos); ++ (<2 minutos); +++ (<5 minutos); ++++ (< 10 minutos); +++++ (>10minutos); y, ninguno (no es aplicable). ID = Identificación; NIRS= Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano.

Tabla 3: Cronograma para mediciones de caracterización fenotípica basadas en las etapas visibles del desarrollo del cultivo.

Medición	Desarrollo del semillero	Macollamiento	Elongación de tallo	Embuche	Espigamiento	Floración	Inicio de llenado de grano	Fin de llenado de grano	Madurez
Temperatura del dosel									
Conductancia estomática									
Potencial hídrico de hoja									
Ajuste osmótico									
Contenido relativo de agua en hoja									
CID para el potencial de ET (tejido de hoja)									
CID para consumo de agua (grano)									
Reflectancia espectral									
NDVI para análisis de crecimiento									
NDVI para pigmentos									
NDVI para senescencia									
Contenido de clorofila									
Cobertura de suelo del cultivo									
Interceptación de luz									
Índice de verdor/ Índice de área foliar									
Intercambio de gases y fluorescencia del dosel									
Biomasa durante el ciclo									
Carbohidratos solubles en agua									
Muestreo de suelo para contenido de raíces									
Muestreo de suelo para contenido de humedad									
Rendimiento y componentes de rendimiento									
Características morfológicas del cultivo									

CID= Discriminación de Isotopos de Carbono; NDVI= Índice de vegetación de diferencia normalizada

Clave: Momento más típico para tomar la medición. Mediciones tomadas relacionadas a los objetivos del experimento No recomendado para mediciones tomadas en el mismo día donde la fenología varía >5 días, o durante la senescencia.

TRIGO

Características de la temperatura del dosel, conductancia estomática y relaciones hídricas



Capítulo 1. Temperatura del dosel

Julián Pietragalla

La temperatura de la superficie del dosel está relacionada con la cantidad de transpiración que provoca el enfriamiento por efecto de la evaporación. Un termómetro infrarrojo manual (IRT, acrónimo del inglés *infrared thermometer*) permite medir directa y fácilmente la temperatura del dosel (CT) de una manera remota (a distancia) sin interferir con el cultivo. Varios estudios han demostrado que la CT está correlacionada con muchos factores fisiológicos: conductancia estomática, tasa de transpiración, estado hídrico de la planta, uso del agua, índice de área foliar y rendimiento del cultivo. Los genotipos con temperaturas de dosel más “frescas”, pueden usarse para indicar un mejor estado de hidratación. La CT se emplea rutinariamente, de modo particular para el diagnóstico de estrés y para la selección de genotipos adaptados a estrés para mejoramiento: (i) bajo condiciones de sequía se relaciona con la capacidad de extraer agua de los perfiles de suelo más profundos y/o con la eficiencia del uso agronómico del agua (WUE); (ii) bajo condiciones de riego, podría indicar capacidad fotosintética, la fuerza del sumidero de asimilados y/o capacidad vascular - dependiendo del origen genético, medio ambiente y etapa de desarrollo; y (iii) bajo condiciones de estrés por calor se relaciona con la capacidad vascular, mecanismo de enfriamiento y adaptación al calor.

La CT es una medida integrativa (es decir, evalúa el dosel entero de muchas plantas dentro de una misma parcela), por lo que tiene ventajas sobre otros métodos utilizados para detección de estrés, tales como la conductancia estomática y el potencial hídrico, debido a que integra un área mayor de medición de plantas/cultivo, no es destructiva, no interfiere con los estomas (los cuales son sensibles), es rápida y no laboriosa. Sin embargo, la expresión de esta característica muestra interacción con la etapa de desarrollo y hora del día (por ejemplo, en pre-espigamiento y/o lecturas matinales usualmente da valores bajos debido a la baja incidencia de la radiación solar y a la baja temperatura del aire), por lo cual puede usarse para relacionar diferentes características del dosel y tolerancias a estreses.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones deben realizarse cuando el cielo está despejado y hay poco o nada de viento. Es importante que la superficie de las plantas esté seca y no húmeda debido al rocío, riego o lluvia.

Estudios en CIMMYT han demostrado que la CT se expresa mejor en días cálidos, soleados, despejados (sin nubes), con baja humedad relativa (HR < 60%) y una cálida temperatura del aire (por encima de 15°C) – es decir, en condiciones

asociadas con un alto déficit de presión de vapor. La CT es sensible a los cambios de flujo en el ambiente, lugares/días con una baja temperatura del aire y/o alta HR no son apropiados para esta medición, ya que el bajo déficit de presión de vapor reduce la transpiración, disminuyendo la expresión de la CT.

Hora del día

Para tratamientos de riego/estrés hídrico ligero, realizar las mediciones una hora antes o dos horas después del medio día; típicamente desde las 11:00 a las 14:00 horas (cuando las plantas sufren un mayor estrés hídrico).

Para tratamientos con estrés severo, realizar las mediciones al final de la mañana, desde dos horas antes del medio día hasta el medio día para detectar genotipos adaptados a la sequía (bajo condiciones de escases de agua, los genotipos adaptados a la sequía tienen la habilidad de recuperar el estado hídrico de las plantas durante la noche permitiendo un mayor nivel de transpiración y de actividad fotosintética durante la mañana que los genotipos no adaptados).

Etapa de desarrollo de la planta

Tomar mediciones por lo menos dos veces a partir de la completa cobertura de suelo hasta el final de embuche (‘pre-espigamiento’), y por lo menos dos veces a partir del final de floración hasta llenado de grano tardío – con un diferencia de 5 a 7 días entre cada medida – para dar un estimado heredable razonable de la expresión del rasgo.

Pre-espigamiento: las mediciones de CT pueden empezar cuando la cobertura del suelo sea suficiente para maximizar la interceptación de luz por el dosel, y deberían terminar cuando la espiga empieza a ser visible en un 10% de la población (GS51). En etapas tempranas de desarrollo, se debe tener particular cuidado para evitar apuntar al suelo cuando se mide con el termómetro infrarrojo (ya que la temperatura del suelo es mucho mayor que la del cultivo). Información y/u observación adicional asistirá al análisis de datos, y podría ayudar a explicar cualquier anomalía observada. Por ejemplo, anotar aquellas parcelas que tengan espigas visibles (por ejemplo, colocando una “E” de espigado para esta parcela).

Llenado de grano: las mediciones de CT deberían tomarse cuando las parcelas hayan pasado la floración y deberían terminar cuando las plantas han alcanzado el llenado de grano tardío (ya que el tejido senescente no proporcionará información relevante, en su lugar, anotar una “M” para estas parcelas). Las mediciones de temperatura deberían incluir la espiga, el pedúnculo y la hoja (recomendado), en vez que

la temperatura de las espigas y de las hojas por separado (Figura 1.1). Información y/u observación adicional asistirá al análisis de datos, y podría ayudar a explicar cualquier anomalía observada. Por ejemplo, anotar aquellas parcelas que no presentan las espigas expuestas (por ejemplo colocando una "X" para esta parcela).

Número de muestras por parcela

Tomar dos medidas por parcela.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la toma de medidas utilizando un termómetro infrarrojo Sixth Sense LT300 IRT (Figura 1.2).

Lleve con usted el siguiente material a campo:

- Termómetro infrarrojo (IRT).
- Medidor de temperatura y humedad ambiental.
- Tabla portapapeles con formato de campo.

Consejos para la toma de mediciones

Siempre tome las mediciones en la parte de la parcela que este más expuesta al sol, y asegúrese de evitar el sombreado con el cuerpo del operador o el sombreado desde las parcelas vecinas. Tome la medida al mismo lado de cada parcela con el sol detrás de usted (por ejemplo colóquese en la parte sur de la parcela que está orientada hacia el norte/sur del hemisferio norte, y viceversa).

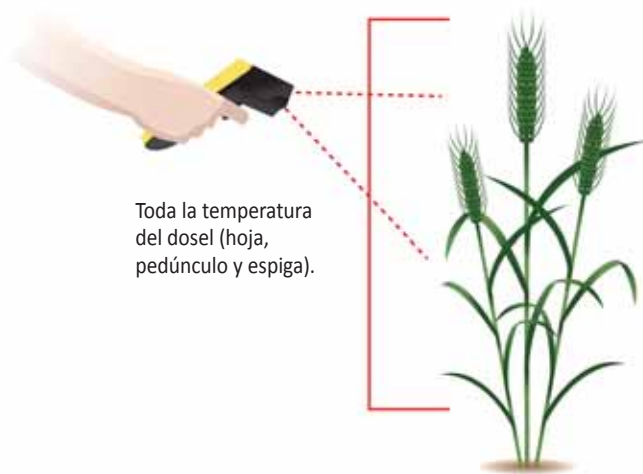


Figura 1.1. Las lecturas durante la fase del llenado de grano deberían incluir la temperatura del dosel completo (espiga, pedúnculo y hoja) al mismo tiempo, en vez de las temperaturas de la espiga y de la hoja por separado. Durante la fase del llenado de grano, regularmente hay una menor área verde (especialmente bajo condiciones de estrés), por lo que puede ser necesario mover el termómetro infrarrojo más cerca de las plantas y vigilar su ángulo de medida para interceptar el área verde disponible.

Asegúrese de comparar las dos mediciones de cada parcela – estas deberían ser similares (es decir, con diferencia de 1°C). Si las dos lecturas de la parcela difieren en más de 1°C, entonces ambas medidas deberán repetirse. Sin embargo, si las lecturas aún difieren en >1°C y usted no puede identificar ningún error en la metodología de medición o en el IRT, entonces continúe realizando medidas.

Es muy importante sostener el IRT a la misma distancia y ángulo desde el cultivo para todas las mediciones. La distancia hacia el cultivo a la que usted sostenga el IRT determinará el área de la superficie medida (es decir, mientras más cerca esté el IRT del objeto, más pequeña será la superficie de medición; véase la Figura 1.3); y el ángulo al que se sostenga el IRT dictará la parte del cultivo desde la cual se mide la temperatura. En particular, asegúrese de que el IRT sea sostenido a un ángulo apropiado para que las medidas no sean tomadas desde el suelo (Figura 1.4). Si la cobertura del suelo es baja (es decir, el índice de área foliar es menor de 3), es mejor apuntar el IRT en un ángulo

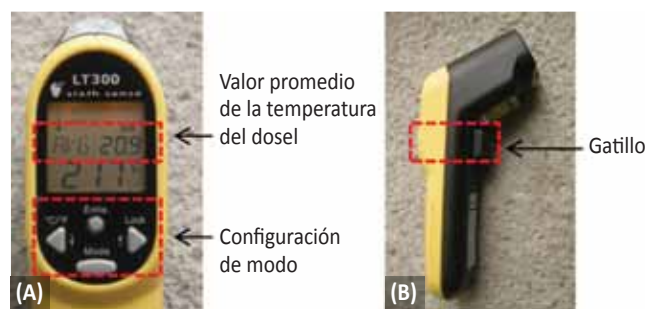


Figura 1.2. Termómetro infrarrojo Sixth Sense LT300 IRT, y sus principales funciones: (A) vista de frente, y (B) vista lateral.

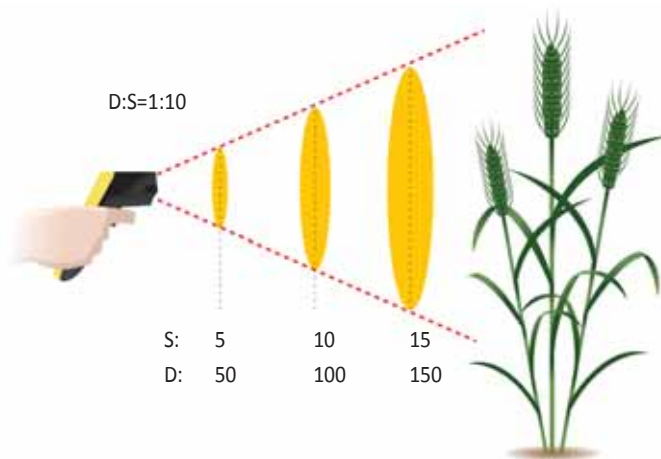


Figura 1.3. El área del lugar de medición (S) está relacionada con la distancia (D) del IRT hacia el cultivo por un radio de 1:10 – entonces la distancia hacia el cultivo y el ángulo a las que el termómetro infrarrojo es sostenido, dictará el área de la superficie desde la cual se toma la temperatura.

bajo con respecto a la horizontal para minimizar la probabilidad de medir el suelo. Cuando se esté realizando la medición durante el llenado de grano, puede ser necesario mover el IRT más cerca de las plantas para interceptar el área verde disponible.

Para tomar las mediciones, mantener presionado el gatillo por 3-5 segundos – ya que el IRT promedia las lecturas de temperatura durante este tiempo (Figura 1.2) – y apunte con el IRT hacia adelante y atrás de la parcela a una velocidad moderada, recordando evitar los bordes de la parcela (Figura 1.5 y 1.6). Asegúrese de anotar el valor promedio de CT para cada muestra (vea Figura 1.2). Sea cuidadoso al momento de apuntar con el IRT hacia el cultivo - ya que las medidas registradas mientras se presiona el gatillo y no se apunta consistentemente a la parcela, serán muy inexactas.

Es necesario llevar un control de la fenología en poblaciones con diferentes fechas de floración, ya que las plantas en diferentes estadios de desarrollo tienen una arquitectura diferente y presentan diferencias en las relaciones de fuente-sumidero de asimilados, por lo que esto puede crear una confusión en el análisis. Esto puede corregirse separando la población en líneas precoces y tardías, y por lo tanto formar diferentes poblaciones para analizarlas. Una variación de 10 días en la fecha de floración es bastante razonable.

Los ensayos de evaluación de generaciones avanzadas o de líneas avanzadas de 300 a 1000 líneas o familias pueden establecerse en campo sin repeticiones. En este caso, es útil incluir un

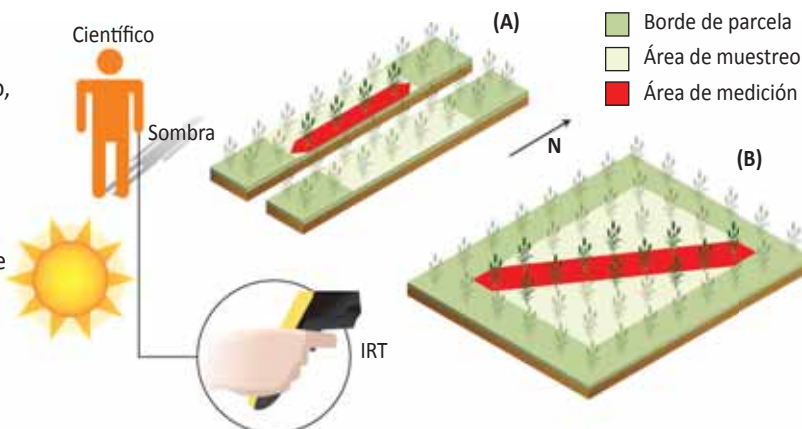


Figura 1.5. Recomendaciones para mediciones de CT en campo: siembra en (A) camas (las mediciones se deberán tomar a lo largo de las hileras); o (B) siembra en plano (las mediciones se deberán tomar en diagonal a lo largo de la parcela).



Figura 1.6. Muestra el uso del IRT durante las mediciones en campo en la etapa de pre-espigamiento en parcelas de cama con dos hileras. Las líneas rojas punteadas ilustran el campo de visión del IRT, y la flecha roja ilustra el movimiento del IRT, hacia adelante y atrás sobre el cultivo (recuerde evitar los finales de las hileras que actúan como bordes).

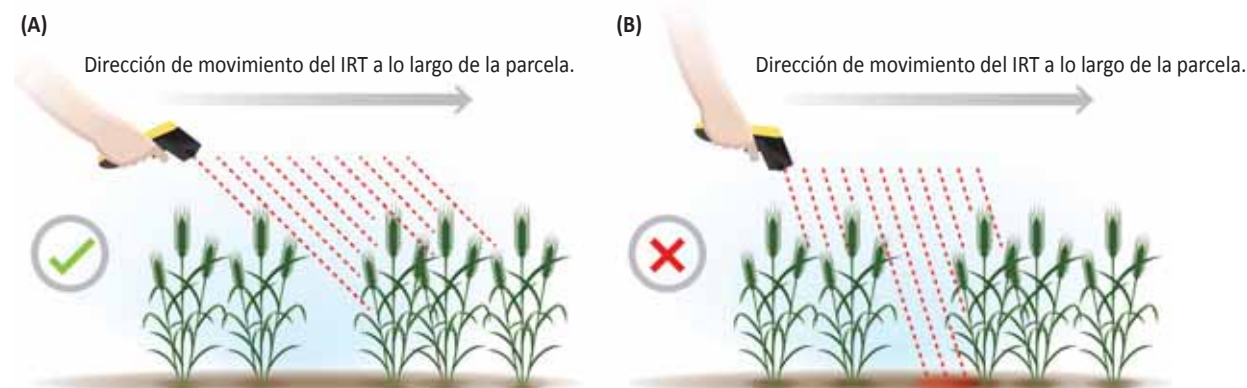


Figura 1.4. Asegúrese de que el IRT sea sostenido en un ángulo correcto ya que las medidas son tomadas desde: (A) el dosel del cultivo; y, (B) no desde el suelo (por ejemplo, cuando hay problemas de establecimiento o poca biomasa). Antes de iniciar las mediciones se recomienda, primero, examinar todo el ensayo - decidir el ángulo y la distancia desde el cultivo a la cual se maximiza la interceptación de área verde – y sostener el IRT en este mismo ángulo y distancia para todas las parcelas dentro del ensayo.

genotipo - cuya CT alta o baja sea altamente conocida - como control (testigo) cada 10 o 20 parcelas dentro del diseño experimental. Los valores de CT pueden ser comparados con los valores del testigo en el análisis para mejorar la clasificación de las líneas.

Consejos específicos para el uso del Sixth Sense LT300.

Mode (modo): Presiónelo para cambiar la función entre MAX, DIF, AVG, PRB – seleccione el modo AVG para obtener un promedio de todas las lecturas de temperatura mientras se presiona el gatillo; °C/°F: permite cambiar entre °C y °F – seleccione para °C o °F dependiendo de las unidades deseadas; EMIS: no cambiarlo – este debería tener un valor de 0.95; Lock: esta es la función para realizar mediciones permanentes, y debería desactivarse; Gatillo +↓: activa o desactiva el láser; Gatillo +↑, activa o desactiva la luz de la pantalla del IRT.

Preparaciones

Después de encender el IRT, permita al instrumento equilibrarse con la temperatura ambiental por alrededor de 10 minutos. Revise que el modo AVG esté seleccionado (“AVG” se muestra en la pantalla) y asegúrese que la función lock esté desactivada (“LOCK” no se muestra en pantalla) (véase Figura 1.2).

Después de encender el medidor de temperatura y humedad relativa, permita al instrumento equilibrarse con la temperatura ambiental por lo menos tres minutos - o el tiempo requerido para que las lecturas se estabilicen – y anote la temperatura y humedad relativa. Durante este tiempo, asegúrese de que el instrumento se mantiene en la sombra y no expuesto directamente al sol.

Mediciones en el ensayo

Tome dos medidas de temperatura del dosel de cada parcela.

Mediciones finales y finalización

Después de medir en todas las parcelas, anote la hora final, así como la temperatura y humedad ambiental en ese momento.

Calibraciones

No hay necesidad de calibrar el IRT. Sin embargo, como las mediciones están sujetas al juicio del operador en campo (es decir, aceptar o rechazar una lectura), a veces es útil tener una idea de los umbrales de temperatura alta y baja de CT - entre las cuales las lecturas de CT del cultivo podrían situarse. Esto puede hacerse mediante la aspersión de (i) un inhibidor de la transpiración, y (ii) agua sobre dos áreas diferentes de un BORDE de una parcela del ensayo que se está evaluando, esperar por tres minutos y luego tomar su medida de CT. Las dos lecturas sirven como ‘lecturas de referencia’ para la no-transpiración (inhibidor de transpiración, valor máximo de CT) y la transpiración máxima (agua, valor mínimo de CT).

Datos y cálculos

Las lecturas de CT dependen del ambiente en el cual se toman las medidas– hay tantas respuestas de CT, como hay ambientes!, por lo que la hace una medida relativa. Generalmente, los “buenos” genotipos son aquellos que tienen un dosel relativamente fresco, que aquellos con un dosel más cálido (usualmente por 1-2 °C).

Los cálculos de la depresión de la temperatura del dosel (CTD= temperatura del aire – CT) no es recomendable, debido a los errores asociados con la medición de la temperatura del aire y del dosel con diferentes tipos de instrumentos: termopar (aire) e infrarrojo (dosel), y el error experimental adicional de la medición de dos valores. En lugar de esto, se recomienda que los valores de CT sean comparados por genotipos, y las variables ambientales tomadas en cuenta en el análisis estadístico (por ejemplo, mediante análisis espacial).

Cuadro 1.1

Especificaciones que se deben tener en mente cuando se compre un IRT para CT

- Sensor con rango espectral de 8 a 14 μm.
- Emisividad ajustable/ajustada entre 0.95 y 0.98.
- Rango de medidas entre 0 °C y 60 °C con al menos 0.1 °C de resolución.
- Radio de distancia:área de medición (D:S) de 10:1 a 50:1.
- Modo promedio – usado para promediar múltiples lecturas de temperatura en el momento de muestreo.

Las mediciones de CT son comparables dentro de una etapa de desarrollo (por ejemplo, pre-espigamiento o llenado de grano) – ya que, en particular, las espigas tienen un efecto muy fuerte sobre las lecturas de CT. Deben tomarse tres

mediciones en cada etapa de desarrollo, aproximadamente con una semana de separación entre ellas. Esto permite calcular la media de la CT para cada parcela en cada etapa.

Solución de problemas

Problema	Solución
El IRT no está dando una lectura promedio; por ejemplo, está midiendo constantemente o midiendo la temperatura MAX/MIN	Asegúrese de seleccionar la opción “AVG”; revise que las opciones de “LOCK” y “MAX/MIN” no estén seleccionadas.
Las lecturas iniciales de CT parecen ser mayores/ inferiores que las lecturas del resto del ensayo (es decir, un “cambio de paso” debido a una re-calibración automática).	El IRT no ha tenido suficiente tiempo para ajustarse a la temperatura ambiental antes de iniciar las mediciones. Asegúrese de permitir por lo menos 10 minutos para que el IRT se equilibre con la temperatura ambiente.
Las dos medidas difieren por >1°C	Revise que IRT está siendo sostenido de forma correcta y consistente, y que la parte correcta del cultivo este siendo medida (es decir, evite los bordes, daños o hojas senescentes, suelo desnudo, etc.).
Las parcelas son irregulares, o el cultivo es pequeño/ o se está aproximando al llenado de grano medio y esta empezando a senescer.	Revise a través de las parcelas/experimentos antes de iniciar las medidas. Decida la distancia y ángulo más apropiados a la cual sostener el IRT y mantenga esta orientación a lo largo de todas las mediciones en todas las parcelas.
Las mediciones llevan más de una hora para un ensayo.	El tiempo empleado para realizar una medición de un ensayo no es importante, al menos que las condiciones se vuelvan inadecuadas para la toma de medidas. Los gradientes en las condiciones ambientales (por ejemplo, un incremento en la temperatura ambiental en el transcurso de la mañana) serán tomados en cuenta al utilizar el análisis estadístico (tales como medias ajustadas corregidas por <i>lattice</i>)

Literatura recomendada

- Amani, I., Fischer, RA. y Reynolds, MP. (1996) Evaluation of canopy temperature as a screening tool for heat tolerance in spring wheat. *Journal of Agronomy and Crop Science* 176, 119–129.
- Ayeneh, A., van Ginkel, M., Reynolds, MP. y Ammar, K. (2002) Comparison of leaf, spike, peduncle and canopy temperature depression in wheat under heat stress. *Field Crops Research* 79(2-3), 173–184.
- Balota, M., Payne, WA., Eve, SR. y Peters, TR. (2008) Morphological and physiological traits associated with canopy temperature depression in three closely related wheat lines. *Crop Science* 48(5), 1897–1910.
- Eyal, Z. y Blum, A. (1989) Canopy temperature as a correlative measure for assessing host response to *Septoria tritici* blotch of wheat. *Plant Disease* 73(6), 468–471.
- Fuchs, M. (1990). Infrared measurement of canopy temperature and detection of plant water stress. *Theoretical and Applied Climatology* 42(4), 253–261.
- Olivares-Villegas, JJ., Reynolds, MP. y McDonald, GK. (2007) Drought-adaptive attributes in the Seri/Babax hexaploid population. *Functional Plant Biology* 34, 189–203.
- Rosyara, UR., Vromman, D. y Duveiller, E. (2008) Canopy temperature depression as an indication of correlative measure of spot blotch resistance and heat stress tolerance in spring wheat. *Journal of Plant Pathology* 90(1), 103–107.
- Saint Pierre, C., Crossa, J., Manes, Y. y Reynolds, MP. (2010) Genetic action of canopy temperature in bread wheat under diverse environments. *Theoretical and Applied Genetics* 120(6), 1107–1117.

Capítulo 2: Conductancia estomática

Julián Pietragalla y Alistair Pask

La conductancia estomática estima la tasa de intercambio gaseoso (es decir, consumo de dióxido de carbono) y la transpiración (es decir, pérdida de agua) a través de los estomas de la hoja, determinadas por el grado de apertura estomática (y por lo tanto de la resistencia física al movimiento de gases entre el aire y el interior de la hoja). Por consiguiente, la conductancia estomática es una función de la densidad, tamaño y grado de apertura de los estomas; al tener mayor cantidad de estomas abiertos se obtiene una mayor conductancia, lo cual indica, subsecuentemente, que las tasas de fotosíntesis y transpiración son potencialmente más altas. Los porómetros portátiles proporcionan mediciones rápidas de la conductancia estomática de la hoja en ensayos de experimentos bajo riego, aunque no es una medida recomendada para ensayos bajo estrés hídrico (a menos que éste sea muy leve), ya que los estomas se encuentran generalmente cerrados.

Una disminución relativamente rápida de la presión, una tasa de flujo de gases rápido, o un gradiente de humedad relativa (RH) rápidamente cambiante a través del instrumento, indican que la resistencia a la conductancia de gases es relativamente pequeña y por lo tanto, que la conductancia estomática es alta. Los resultados pueden ser usados como un indicador de la tasa de fotosíntesis. La heredabilidad de la conductancia estomática es razonablemente alta, y se correlaciona altamente con el rendimiento; una mayor conductancia en hojas bajo temperaturas altas ha sido asociada con temperaturas más frías en el dosel. Las investigaciones en el CIMMYT han demostrado que los incrementos en el rendimiento de las líneas de trigo del CIMMYT en ambientes favorables durante un periodo de 30 años, reflejan incrementos proporcionales en la conductancia de la hoja.

Tipos de porómetros foliares (para hojas) disponibles:

- **Estado estacionario (steady state)** (ej. Decagon: SC-1, Figure 2.1; PP-Systems: PMR-5) – una cámara abierta se sujeta efectivamente en la superficie de la hoja y el vapor de agua liberado a través de los estomas establece un gradiente de HR a lo largo de la cámara. El instrumento monitorea la HR en dos puntos a lo largo de la trayectoria de flujo y, una vez que el gradiente de flujo alcanza un estado estacionario, calcula y muestra la difusión de la conductancia en la hoja (el recíproco de la resistencia). Una hoja con un gradiente cambiante muy rápidamente indica que los estomas se encuentran relativamente abiertos.
- **Difusión dinámica** (ej. Delta-T Devices: AP4) – Mide la tasa de incremento de HR en una cámara sujeta a la superficie de la hoja; como el vapor de agua se libera a través de los estomas, esto causa que la HR de la cámara

se eleve. Un incremento relativamente rápido en la HR indica que los estomas se encuentran relativamente abiertos.

- **Viscoso o de flujo de masas** (ej. Thermoline) – Mide el tiempo (en 1/100 de segundo) que transcurre para forzar un volumen fijo de aire presurizado a través de la hoja. Esto proporciona una medida de la resistencia al flujo de masas, el cual es inversamente proporcional y linealmente correlacionado con la conductancia. Una disminución de la presión relativamente rápida o una tasa de flujo rápida significa que las resistencias son relativamente bajas.
- **Balance nulo** (ej. LICOR: LI-600) – Mide el flujo y el gradiente de vapor cerca de la superficie de la hoja mediante el cálculo de la tasa de flujo que se necesita para mantener estable la humedad relativa dentro de la cámara (incluyendo la temperatura del aire y de la hoja). Una hoja con una tasa baja de intercambio de gases/transpiración necesitará una tasa de flujo de secado relativamente bajo para mantener un balance nulo.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones deberán tomarse cuando el cielo se encuentre despejado y con sólo un viento muy ligero. Las condiciones de operación del porómetro son de 5 a 40°C y entre 10 y 70% de HR. Es importante que la superficie de la hoja se encuentre seca y no húmeda, ya sea por rocío, riego o lluvia.

Tomar medidas de conductancia estomática sólo en experimentos razonablemente bien regados, ya que la porosidad puede ser muy baja en ensayos de sequía como para obtener datos confiables.

Hora del día

El momento ideal es cercano al mediodía solar, típicamente desde las 11:00 hasta las 14:00 horas.

Etapas de desarrollo de la planta

Las medidas pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo de la planta y/o en intervalos regulares desde mediados de macollamiento hasta llenado de grano tardío, dependiendo de los objetivos del experimento/momento de mayor estrés. Para realizar una comparación de genotipos, no es recomendable tomar mediciones durante espigamiento y floración, donde las diferencias en fenología entre los genotipos pueden confundir los resultados.

Típicamente, se toman una o dos mediciones entre mediados de macollamiento y finales de embuche, y posteriormente una o dos medidas durante llenado de grano.

Número de muestras por parcela

Tomar tres lecturas por parcela en hojas diferentes, elegidas al azar.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la manera correcta de utilizar el porómetro portátil Decagon: SC-1 (Figura 2.1).

Llevar el siguiente equipo al campo:

- Porómetro portátil
- Tabla portapapeles con el formato de campo correspondiente.

Consejos para la toma de mediciones

Recuerde que las estomas son muy sensibles a la manipulación física, por lo que se debe evitar cualquier estrés/contacto físico con la hoja tanto como sea posible. Realice la medición tan rápida y precisa como sea posible, ya que el uso del porómetro alterará la superficie de la hoja y el ambiente de la capa limitante, causando una desviación

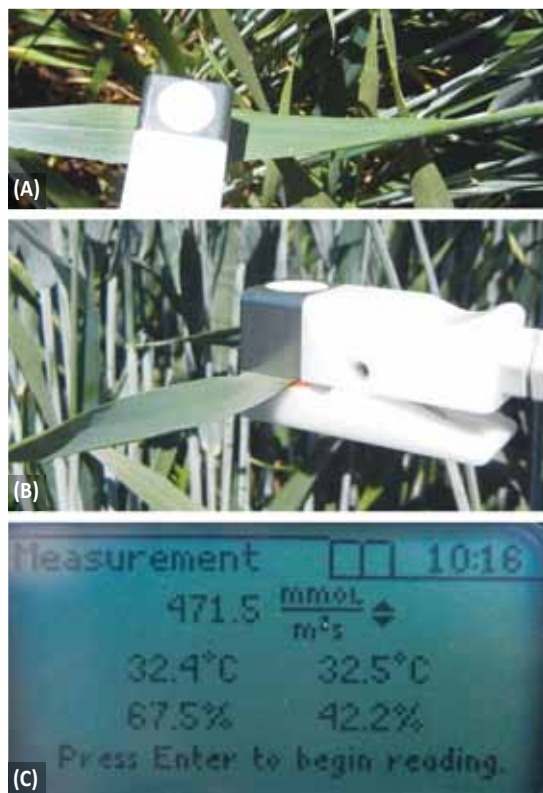


Figura 2.1 Usando el porómetro Decagon SC-1: (A) vista superior mostrando la cámara sujeta en un punto medio de la hoja de muestra; (B) vista lateral con el disco blanco de teflón claramente visible; y, (C) vista de la salida de datos mostrando una lectura de conductancia estomática de $471.5 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

en el valor de la conductancia/resistencia. Tenga en cuenta que las estomas son también sensibles a la luz, HR, dióxido de carbono, estrés hídrico, patógenos y contaminantes, y que los productos agroquímicos afectan las respuestas estomáticas.

Las mediciones deberán realizarse en la hoja más joven que haya emergido completamente y que esté recibiendo luz solar directamente; típicamente se realizan en la hoja bandera completamente expandida. Asegúrese de seleccionar hojas que estén expuestas al sol y no aquellas sombreadas o en oscuridad, ya que estas últimas arrojarán lecturas muy distintas a las hojas expuestas a la luz. Las hojas deben estar limpias, secas, intactas, verdes, sin signos de daños o enfermedades. Las medidas deben de variar dentro de un 10% o aproximadamente $50 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ entre cada una, de no ser así, se deberá medir una vez más.

Las medidas se realizan típicamente en la superficie superior (adaxial) de las hojas. En trigo, la proporción de estomas en la parte superior con respecto a la inferior se acerca a 1.0, pero las estomas de la parte superior muestran un mayor grado de diferencia entre genotipos durante el cierre que se produce al medio día (cuando la temperatura y radiación solar aumenta). Asegúrese de que la hoja se encuentra colocada consistentemente en la cámara de la misma manera, con la parte superior siempre colocada hacia arriba.

Cuando se usa el porómetro SC-1, es de suma importancia no tocar el disco blanco filtrador de teflón en ningún momento; ya que esto ocasionará lecturas inexactas y el disco necesitará ser remplazado. No respire cerca del disco, hoja o cámara por que esto afecta la humedad y el gradiente de concentración de dióxido de carbono dentro del cabezal del sensor, no realice mediciones cuando hay humo en el aire (ej. incendios, cigarrillos o contaminación), y no ponga el sensor en contacto con ningún tipo de vapor químico (ej. pegamentos, alcohol o gasolina).

Preparaciones

Verifique que las baterías estén completamente cargadas, y que el sello de la cámara, el sensor y los paquetes se encuentren libres de polvo, polen, etc.

1. Después de encender el porómetro, permita que el instrumento se equilibre con la temperatura ambiental por alrededor de 10 minutos. Presione el botón 'MENU', elija la pantalla 'CONFIG MENU', y use las flechas y el botón 'ENTER' para hacer los cambios necesarios.
2. Confirmar que 'MODE' (modo) está ajustado en 'manual' (no en 'automatic'), y que 'UNITS' (unidades) se encuentra en ' $\text{mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ' – esto asegura que las lecturas se tomarán en unidades de conductancia; ya que las otras dos unidades restantes ($\text{m}^2 \text{ s mol}^{-1}$ y s m^{-1}) son de resistencia. Regrese a 'MAIN MENU' (menú principal).

Mediciones en el ensayo

- Elegir una hoja bandera limpia, seca, libre de enfermedades y que reciba luz solar en la superficie adaxial.
- Colocar la hoja en la cámara en el punto medio de la hoja y asegurarse de que el área seleccionada cubra totalmente la apertura del sensor. Durante la medición tenga cuidado de que el filtro blanco se encuentre hacia arriba recibiendo los rayos de sol por completo (no permita que otras plantas sombreen el filtro).
- Para iniciar la toma de medidas, presione 'ENTER'. Una vez que las lecturas se hayan equilibrado, presione 'ENTER' de nuevo para mantener la lectura. La lectura puede ser registrada manualmente en el formato y/o guardada en el instrumento. La medida debe tomar aproximadamente entre 30 y 120 segundos para realizarse. Si la medida tarda más de 3 minutos para equilibrarse, descártela.
- En la pantalla aparecerán tres opciones: 'SAVE' para guardar el dato; 'DISCARD' para descartarlo; o, 'ANNOTATE', que al presionar 'ENTER' funciona para darle nombre al archivo. Después de anotar y darle a los datos un nombre de archivo, las mediciones subsecuentes pueden guardarse sólo con 'SAVE'.
- Entre mediciones, el porómetro requerirá que la cámara sea abierta para ventilar cualquier residuo de humedad.

Datos y cálculos

Dependiendo de la configuración del instrumento, tome nota de los valores obtenidos durante las mediciones, o guarde los datos para ser descargados con el programa suministrado con el instrumento. Los datos son generalmente descargados como un archivo de texto 'delimitado por comas' e importados a MS Excel.

Los valores típicos para ambientes bajo riego son: 300-700 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; y para ensayos con estrés hídrico leve son: 80-300 $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Solución de problemas

Problema	Solución
Valores bajos ($<200 \text{ mmol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).	El suelo está muy seco y los estomas se encuentran cerrados. Tome mediciones sólo en ensayos razonablemente bajo riego – regar y repetir las mediciones. Asegúrese de minimizar la manipulación física de las hojas ya que los estomas son muy sensibles.
Error alto de varianzas en los datos	Uniformice los criterios de selección de hojas (ej. misma posición, edad, orientación, etc.).
Valores erráticos del porómetro	Humedad de suelo irregular a lo largo del campo – posiblemente debido a un secado irregular del suelo – regar y repetir las mediciones. Nubes pasando justo frente al sol – las mejores mediciones se realizan cuando el cielo se encuentra libre de nubes.
Valores anormales (porómetros de estado estacionario, difusión dinámica o de balance nulo).	Evite exponer la cabeza del sensor a vapores de solventes (ej. alcohol, acetona, gasolina). Si esto ocurriese, calibre el sensor nuevamente. No use solventes para limpiar la cabeza del sensor.

Literatura recomendada

- Decagon Devices. (2011) Disponible en: <http://www.decagon.com/> (acceso: 11 Agosto 2011).
- Fischer, RA., Rees, D., Sayre, KD., Lu, Z-M., Condon, AG. y Saavedra, AL. (1998) Wheat yield progress associated with higher stomatal conductance and photosynthetic rate and cooler canopies. *Crop Science* 38, 1467–1475.
- Rebetzke, GJ., Read, JJ., Barbour, MM., Condon, AG. y Rawson, HM. (2000) A hand-held porometer for rapid assessment of leaf conductance in wheat. *Crop Science* 40, 277–280.
- Rebetzke, GJ., Condon, AG., Richards, RA. y Read, JJ. (2001) Phenotypic variation and sampling for leaf conductance in wheat (*Triticum aestivum* L.) breeding populations. *Euphytica* 121, 335–341.
- Rebetzke, GJ., Condon, AG., Richards, RA. y Farquhar, GD. (2003) Gene action for leaf conductance in three wheat crosses. *Australian Journal of Agricultural Research* 54, 381–387.
- Reynolds, MP., Balota, M., Delgado, MIB., Amani, I. y Fischer, RA. (1994) Physiological and morphological traits associated with spring wheat yield under hot, irrigated conditions. *Australian Journal of Plant Physiology* 21, 717– 30.
- Reynolds, MP., Calderini, DF., Condon, AG. y Rajaram, S. (2001) Physiological basis of yield gains in wheat associated with the LR19 translocation from *A. elongatum*. *Euphytica* 119, 137–141.

Capítulo 3. Potencial hídrico de la hoja

Carolina Saint Pierre y José Luis Barrios González

El potencial hídrico de la hoja (PHH o LWP, acrónimo del inglés *leaf water potential*) es un estimado de la energía del estado hídrico de las plantas. El agua en las plantas es transportada dentro del sistema del xilema bajo tensión (presión negativa), para permitir el movimiento hacia arriba desde las raíces hacia las hojas. Esta tensión se relaciona positivamente con la cantidad de estrés hídrico, ya que una menor disponibilidad de agua requiere de una mayor presión para poder extraerla. Por lo tanto, cuando una muestra es cortada para análisis, el agua dentro del xilema es rápidamente succionada hacia dentro de los tejidos circundantes y la cantidad de presión positiva requerida para regresar el agua nuevamente hacia el xilema es una medición inversa de la habilidad de la planta para mantener el estado hídrico cuando se encuentra bajo estrés hídrico (mediciones de día) y para recuperarlo cuando el estrés hídrico disminuye (mediciones de noche).

El potencial hídrico de la hoja puede medirse con una “cámara de presión Scholander” (o “bomba de presión”) la cual ejerce una presión positiva sobre el material de muestra (es decir, hoja o tallo) sostenida dentro de una cámara sellada. La cámara es presurizada gradualmente con aire comprimido hasta que la distribución del agua dentro de los tejidos circundantes y de los vasos del xilema regrese a su estado inicial previo a la escisión (corte). Puede observarse al agua regresando a los extremos del corte del sistema del xilema, y en este punto la “presión de equilibrio” puede ser registrada. La identificación de genotipos que son capaces de mantener una presión de equilibrio baja durante condiciones de estrés, es una manera importante de identificar líneas mejor adaptadas al estrés hídrico. Aunque este método no toma en cuenta el potencial osmótico del tejido o los efectos de la respiración del tejido; para un trabajo de caracterización fenotípica comparativa, estos errores son de menor importancia, comparados con las grandes diferencias vistas.

Ubicación y condiciones ambientales

Los muestreos pueden realizarse bajo la mayoría de condiciones ambientales. Sin embargo, es muy importante que la superficie de la planta no se encuentre mojada o húmeda debido al rocío, riego o lluvia.

Tomar mediciones en ensayos de sequía, o cuando el acceso de las raíces al agua y/o la capacidad vascular sea limitada bajo un alto déficit de presión de vapor (DPV, o VPD, acrónimo del inglés *vapor pressure deficit*). En general, las diferencias entre las medidas de LWP en ensayos de riego podrían ser muy pequeñas para una discriminación genotípica.

Hora del día

Debe tomarse dos muestras durante un periodo de 24 horas:

- El primer muestreo realizarlo una hora antes o dos horas después de mediodía (cuando las plantas se encuentran bajo un mayor estrés hídrico; los resultados serán acordes con el nivel de estrés).
- El segundo muestreo realizarlo antes del alba o amanecer (noche tardía/madrugada), cuando la planta esté menos estresada y que haya tenido la oportunidad de recuperarse hídricamente; los resultados indicarán la habilidad de la planta para rehidratarse y alcanzar un equilibrio con el potencial de agua del suelo).

Etapas de desarrollo de la planta

Las muestras pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo de la planta desde mediados de la elongación de tallo o hasta llenado de grano tardío, dependiendo de los objetivos/lapso de tiempo experimental del momento máximo de estrés. Por ejemplo, en ensayos de sequía los muestreos se realizan a principios del llenado de grano como una valoración de la severidad del estrés.

Número de muestras por parcela

Tome de 2 a 4 hojas por parcela.

Procedimiento

Las muestras deben ser tomadas de plantas provenientes ya sea de campo o de invernadero.

Tome consigo el siguiente equipo a campo:

- Cámara de presión Scholander
- Cilindro de aire comprimido
- Herramientas para conectar la cámara de presión al cilindro
- 2 tijeras
- Lupas (lentes de aumento)
- Botella de agua con boquilla atomizadora
- 5 gazas de algodón, lo suficientemente grandes para envolver la hoja bandera completa
- Mesas de trabajo plegables y sillas
- Formato de campo y tabla portapapeles

Para invernadero, también lleve:

- Bolsas grandes de plástico (lo suficientemente grandes para cubrir la planta y su maceta)

Consejos para la toma de mediciones

Es muy importante asegurarse de que la parte superior de la cámara de presión esté correctamente y seguramente ajustada/cerrada para soportar las altas presiones dentro de la cámara (>40 bar/4.0 MPa). De lo contrario, puede resultar en graves lesiones al operador.

Es muy importante liberar la presión lenta y completamente después de realizar las mediciones. Remover la tapa de la cámara de presión antes de que toda la presión se haya liberado, puede resultar en graves lesiones para el operador.

Se requiere de cuidado para minimizar el tiempo entre el corte de la muestra y su medición. Típicamente, dos personas trabajan juntas: una encuentra y corta las muestras, mientras que la otra persona opera la cámara de presión. Para reducir el tiempo por parcela, es posible tomar y probar de medir dos hojas de la misma parcela a la vez (véase Figura 3.2E), aunque esto requiere de cuidado adicional.

Aplique presión lentamente (de 1 a 2 bar por segundo). Los valores regularmente son más bajos en ensayos de riego que en sequía. En un estrés hídrico extremo, se requerirá de mayor presión para alcanzar la presión de equilibrio (>40 bar). Las dos hojas regularmente dan valores ligeramente diferentes. Si los valores varían en más de 10%, entonces se requerirá muestrear otras dos hojas.

Cada vez que el LWP es medido en un ensayo bajo sequía, es útil incluir algunas parcelas de ensayos irrigados, para usarlos como referencia/comparación de ausencia de estrés.

Preparaciones

Conecte la cámara de presión y cilindro (Figura 3.1). Humedezca las gazaras utilizando la botella de agua con atomizador (manténgalas al interior de la cámara para asegurar una atmósfera húmeda y evitar la deshidratación de la muestra durante la presurización).

Medición en el ensayo

1. Seleccione hojas limpias, secas, saludables y que estén expuestas a la luz solar; típicamente la hoja bandera después de embuche.
2. Envuelva cada hoja a la vez en una gaza húmeda y corte cerca de la vaina de la hoja (para evitar deshidratación de la muestra; Figura 3.2 A y B). Lleve rápidamente la muestra hacia el operador de la cámara de presión.

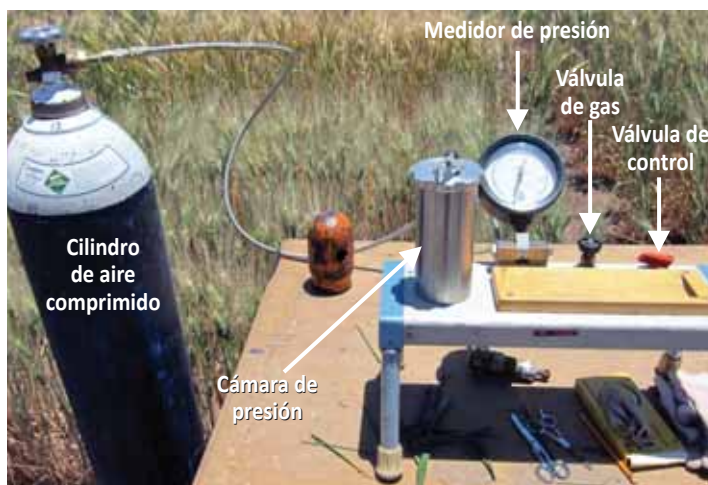


Figura 3.1. Equipo utilizado para realizar mediciones de potencial hídrico de la hoja, incluyendo la cámara de presión y el cilindro de aire comprimido.



Figura 3.2. Muestreo de hojas y medición de potencial hídrico de la hoja: (A) primero envuelva la hoja bandera seleccionada en una gaza húmeda; (B) corte la hoja en la base; (C) coloque la muestra de hoja dentro de la junta de goma en la parte superior de la cámara de presión; (D) utilice una lupa o lente de aumento para observar el punto en el cual el agua aparece sobre el extremo del corte; (E) agua exudada por el tejido vascular; y (F) lectura en el medidor de presión (32 bar).

3. Coloque la/s muestra/s dentro de la junta (sello) de goma de la parte superior de la cámara de presión, con el extremo del corte expuesto ligeramente hacia afuera (Figura 3.2C). Si la hoja es muy ancha para la apertura de la junta de goma, entonces los márgenes de las hojas pueden ser desprendidos cuidadosamente. Si se realiza la medición en dos hojas al mismo tiempo, acomode las hojas en sentido contrario, con los lados adaxiales uno frente al otro (para facilitar la observación).
4. Asegure la parte superior de la cámara de presión. Revise cuidadosamente que esté colocada correctamente.
5. Mueva la válvula de CONTROL desde “off (apagado)” a la posición de “pressurize (presurizar)”.
6. Abra suavemente la válvula de GAS para permitir que el aire comprimido entre gradualmente a la cámara (a 1-2 bar por segundo) e incremente la presión (siempre mantenga una mano sobre esta válvula).
7. Observe cuidadosamente el extremo del corte en la/s hoja/hojas utilizando una lupa mientras que la presión de la cámara incrementa lentamente (Figura 3.2D).
8. En el punto cuando se observa que el agua empieza a emerger en el extremo del corte de la hoja (3.2E), cierre la válvula de GAS y anote la presión marcada en el medidor de presión (Figura 3.2F).
9. Si una segunda hoja está siendo medida al mismo tiempo, continúe aplicando presión hasta que lo mismo ocurra en la segunda hoja, cierre la válvula de GAS y anote la presión marcada en el medidor de presión.
10. Mueva la válvula de CONTROL hasta la posición de “release/exhaust (liberar/escape)” y deje que la presión sea liberada lentamente.

11. Remueva la tapa de la parte superior de la cámara de presión y remueva la/s hoja/hojas.
12. Una vez que todas las mediciones hayan sido hechas, desconecte la cámara de presión del cilindro.

Mediciones en invernadero

Realice las mediciones en plantas cultivadas en invernadero cuando empiecen a mostrar signos de estrés hídrico.

En la tarde del día anterior a la toma de mediciones, cubra todas las plantas de muestra (incluyendo la maceta) con bolsas negras individuales de plástico, rotule cada bolsa (nombre del genotipo, etc.) para permitir que las medidas sean tomadas fácilmente al siguiente día.

Temprano por la mañana al siguiente día (5:00 – 10:00 horas), muestree dos hojas de cada maceta y proceda con la medición como se describió anteriormente.

Datos y cálculos

Para ensayos bajo condiciones de riego, los valores de LWP antes del amanecer varían entre 5 bar (agua en el suelo a capacidad de campo) y 10 bar (plantas sin limitación de agua). Durante el día los valores <-10 bar indica que la planta se encuentra bajo estrés hídrico (limitando los procesos fisiológicos).

Para ensayos bajo condiciones de sequía, los valores de LWP son de -20 a más de -40 bar. Para muestras en las que la presión de equilibrio es mayor que la máxima que el equipo puede medir, regístrese la medición como “<” (es decir <-40).

Solución de problemas

Problema	Solución
La tapa de la cámara de presión/válvula de presión es difícil de abrir después de la presurización.	Coloque aceite o grasa en la rosca de la cámara/válvula conectora para facilitar su apertura.
Pérdida de presión a través de la junta de goma	Asegúrese de que la hoja muestreada esté insertada correctamente dentro de la junta de goma. Revise la integridad de la junta de goma (que esté en buen estado); límpiela o cámbiela de ser necesario.
Grandes diferencias entre los valores de las mediciones de las hojas	Asegúrese de escoger hojas banderas sanas de los principales manojos de plantas. Asegúrese de que el aire al interior de la cámara se mantenga húmedo (utilizando gazas húmedas).
El corte en la superficie de la hoja no está lo suficientemente limpio o nivelado	Asegúrese de cortar las muestras de la planta cuidadosamente - no vuelva a cortar la hoja muestreada, ya que esto afectará el resultado de la medición.

Literatura recomendada

- PMS Instrument Company. (2011) Disponible en: <http://www.pmsinstrument.com/> (acceso: 12 Agosto 2011).
- Soilmoisture Equipment Corp. (2011) Disponible en: <http://www.soilmoisture.com/> (acceso: 12 Agosto 2011).

- Turner, NC. (1988) Measurement of plant water status by the pressure chamber technique. *Irrigation Science* 9, 289–308.
- Turner, NC. y Long, MJ. (1980) Errors arising from rapid water loss in the measurement of leaf water potential by the pressure chamber technique. *Functional Plant Biology* 7, 527–537.

Capítulo 4. Ajuste osmótico

Carolina Saint Pierre y Vania Téllez Arce

El ajuste osmótico (AO) se refiere al incremento neto de la concentración de solutos en la célula para poder mantener la turgencia celular (y por lo tanto la hidratación) conforme el déficit hídrico incrementa (es decir, disminución del potencial hídrico, PH o WP, acrónimo del inglés *water potential*). La concentración de solutos en la célula se incrementa por la acumulación de solutos compatibles (es decir, aminoácidos, azúcares, polioles, iones de aminos cuaternarias y ácidos orgánicos) en vez que por una disminución del volumen celular o una reducción del contenido de agua en la célula bajo un déficit hídrico (obsérvese que los protocolos se estandarizan para estado hídrico instantáneo). Estos solutos pueden estabilizar y proteger macromoléculas, enzimas y membranas (por ejemplo, azúcares y alcoholes que pueden actuar como buscadores de oxígeno activado, reduciendo el daño a la célula), permitir procesos dependientes de la turgencia (por ejemplo, crecimiento y actividad estomática) y sobre todo, pueden proteger al sistema fotosintético complejo durante el estrés por déficit hídrico. El AO ha sido, por lo tanto, identificado como un mecanismo que mantiene las funciones fisiológicas bajo condiciones de estrés por sequía.

El ajuste osmótico se calcula como la diferencia de potencial osmótico (PO) en completa turgencia entre plantas estresadas y no estresadas. Se ha propuesto como una herramienta de cribado para la selección de líneas con adaptación a estrés por sequía severo. La medición del AO solamente requiere de un pequeño número de muestras de hojas, y además, es una técnica relativamente simple. El uso de este método es respaldado por la variabilidad genética observada del AO para varios cultivos; tales como maíz, arroz, sorgo, cebada, mijo, girasol, guisantes, garbanzo y céspedes (Zhang *et al.*, 1999). Los valores de AO varían entre especies, cultivares y hasta entre diferentes órganos de la misma planta. También puede ser influenciado por el nivel del déficit hídrico, por la tasa de desarrollo del déficit hídrico y las condiciones ambientales. Se necesitan futuras investigaciones para entender de forma más precisa la naturaleza y control de los procesos fisiológicos asociados con el AO.

El método ideal debería cuantificar la acumulación de solutos en respuesta al déficit hídrico, independientemente de la concentración de solutos debida a la pérdida de agua. Este capítulo detalla el “método de rehidratación” (es decir, el PO de plantas que han sido rehidratadas) como el método más rápido y económico, con uso potencial para hacer un cribado en base al desempeño bajo condiciones de campo (Babu *et al.*, 1999; Moinudding *et al.*, 2005).

Otros métodos para la estimación del AO han sido propuestos (véase Babu *et al.*, 1999):

- Regresiones del contenido relativo de agua (RWC) con PO;

- PO de plantas estresadas, extrapoladas a un estado rehidratado; y,
- Un RWC sostenido a un PO determinado cercano a la marchitez.

Ubicación y condiciones ambientales

Las plantas se cultivan en contenedores bajo ambiente controlado en invernadero. La evaluación de plantas cultivadas en campo puede realizarse, mas no es recomendable, ya que el resultado puede ser afectado por las diferencias genótípicas de la profundidad de las raíces, lo cual confunde el nivel de estrés expresado por las plantas (véase adaptaciones recomendadas en el procedimiento relatado más abajo).

Hora del día

Se toman dos muestras en dos días: la primera en el día 1 – se toma el potencial hídrico de la hoja (LWP) antes del amanecer (véase en este volumen, Capítulo 3); y, el segundo muestreo en el día 2 se vuelve a medir el LWP por la mañana.

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden realizarse en cualquier etapa de desarrollo desde el inicio de macollamiento hasta mediados de llenado de grano, dependiendo de los objetivos experimentales/momento de máximo estrés. Por ejemplo, en los ensayos de sequía, el muestreo se realiza a inicios de llenado de grano como una valoración de la adaptación a estrés por sequía terminal.

Número de muestras por parcela

Corte una muestra de hoja de cada planta en cada maceta. O, en el campo, corte 4 hojas de diferentes plantas dentro de una misma parcela.

Procedimiento

Este procedimiento describe el “método de rehidratación” en plantas cultivadas en invernadero con notas para mediciones en campo.

Se requiere de los siguientes materiales/equipos:

- Bolsas grandes de plástico transparente (que cubran toda la planta y la maceta)
- Tubos Eppendorf de 2ml.
- Guantes de látex
- Tijeras
- Toallas de papel

- Frascos de vacío térmico
- Hielo (para conservar las muestras)
- Congelador (-15°C)
- Osmómetro de presión de vapor
- Soluciones para calibración estándar
- Discos de papel para muestra
- Varilla de vidrio
- Pipeta

Consejos para la toma de mediciones

El método de rehidratación requiere de un tratamiento control (bajo riego) y un tratamiento bajo estrés (agua retenida o sequía) (Figura 4.1 A). Use macetas grandes (5-10 litros), cada una con una planta, desde 4 a 6 genotipos diferentes. Acomode las macetas, ya sea en diseño lattice (de 4 a 6 genotipos por sub-bloque) o en un diseño sin repeticiones con un genotipo control (check) común en cada maceta.

Cultive cada grupo de genotipos en una misma maceta para asegurar un potencial hídrico del suelo común. Es importante que las mediciones sean tomadas en hojas bien desarrolladas. Asegúrese de que la hoja esté limpia. Remueva el polvo de la superficie de la hoja a muestrear, utilizando un papel toalla húmedo, y entonces seque bien antes de colocar la muestra en el contenedor. Siempre use guantes de látex para evitar la contaminación de la muestra (con sales de la mano de la persona que muestrea).

Realice las mediciones cuando las plantas estresadas muestren hojas marchitas al atardecer (un potencial hídrico <-1.2 MPa (-12 bar) o un RWC de alrededor del 60%).

Preparaciones

Rotule los tubos Eppendorf con el nombre del ensayo, número de identificación del genotipo y número de maceta.



Figura 4.1. Toma de lecturas de ajuste osmótico: mostrando (A) plantas con sequía (izquierda) versus plantas totalmente irrigadas (derecha); (B) tratamiento de rehidratación durante la noche; (C) corte de una hoja de muestra; (D) colocando la hoja muestreada en nitrógeno líquido (congelador); (E) triture el tejido de la hoja en un tubo Eppendorf para extraer una gota de savia celular; y (F) realizando una lectura utilizando un osmómetro de presión de vapor.

Mediciones en invernadero

Día 1: Preparativos

Antes del amanecer, mida el LWP de dos o tres hojas completamente expandidas de cada maceta utilizando “la cámara de presión Scholander” (véase en este volumen, Capítulo 3) para definir el nivel de estrés.

Por la tarde, riegue todas las macetas a saturación y cúbralas con una bolsa de plástico transparente (Figura 4.1B). Esto permite a las plantas rehidratarse completamente durante la noche antes de realizar el muestreo de hojas. Se espera que esta rehidratación no genere variaciones de reajuste osmótico significativo entre cultivares (Babu *et al.*, 1999).

Día 2: muestreo de hojas

En la mañana, colecte hojas completamente expandidas de plantas rehidratadas:

Corte la hoja a muestrear (Figura 4.1C).

1. Rápidamente seque la superficie de la hoja usando una toalla de papel.
2. Coloque la hoja muestreada (enrollada utilizando pinzas) dentro de un tubo Eppendorf y selle la tapa.
3. Coloque los tubos con la muestra dentro del congelador (<-15°C, para el rompimiento celular) (Figura 4.1D).
4. Repita el procedimiento para cada genotipo en la maceta.
5. Si no le es posible colocar las muestras en el congelador inmediatamente, entonces coloque los tubos Eppendorf dentro de una bolsa plástica en un frasco de vacío térmico con hielo.

Mediciones en campo

Aunque no es recomendable, el protocolo puede ser adaptado para mediciones en campo con las siguientes consideraciones:

1. Tome las muestras antes del amanecer.
2. Corte 4 hojas de muestra, cada hoja de una planta diferente dentro de una parcela.
3. Coloque todas las muestras en un tubo de muestreo rotulado.
4. Adicione 1 cm de agua destilada a cada tubo (para rehidratación).
5. Refrigere las muestras a 3 - 4 °C por 4 horas en oscuridad.
6. Seque la superficie de la hoja con mucho cuidado utilizando una toalla de papel.
7. Coloque cada muestra en un tubo de muestreo individual.
8. Coloque los tubos con las muestras en nitrógeno líquido o en el congelador.

Mediciones en laboratorio

Para medir PO con el osmómetro de presión de vapor:

6. Revise que el termopar del osmómetro esté limpio antes de colocar las muestras del ensayo (de acuerdo con el manual de usuario).
7. Calibre el osmómetro con concentraciones conocidas: 100, 290 y 1000 mmol kg⁻¹, dependiendo del modelo o marca del instrumento).
8. Triture la muestra en el tubo utilizando una varilla de vidrio.
9. Extraiga una gota del extracto celular utilizando una pipeta (Figura 4.1E). Siempre cambie la punta de la pipeta entre muestras.
10. Coloque la gota del extracto celular en un disco de papel para muestra y colóquelo en la cubeta de muestreo del osmómetro. El volumen óptimo de muestra (10µl) debería saturar por completo el disco de muestreo.
11. Lea el valor (Figura 4.1F).
12. Limpie la cubeta del osmómetro utilizando agua des-ionizada.

Datos y cálculos

Los valores de PO obtenidos del osmómetro están en mmol kg⁻¹, los cuales necesitan ser convertidos a MPa (unidad de presión) de acuerdo con la ecuación:

$$PO \text{ (MPa)} = (-R \times T \times \text{lectura del osmómetro}) / 1000$$

Ecuación 4.1

Donde: R es la constante del gas (0.008314) y T es la temperatura del laboratorio medida en la escala Kelvin (en este ejemplo T = 298°K; es decir, 25°C).

El AO se calcula como la diferencia de PO entre el control no estresado (bien regado) y el tratamiento estresado (agua retenida o sequía), ambos en un estado de riego completo (turgencia):

$$AO = PO_{\text{no estresado}} - PO_{\text{estresado}}$$

Ecuación 4.2

Por ejemplo (usando datos de la Tabla 4.1):

$$AO = (-0.409) - (-0.817) \\ = 0.408 \text{ MPa}$$

Los valores de AO para trigo regularmente varían entre 0.1 a 1.2 MPa, utilizando el método de rehidratación.

Es posible también estimar el potencial de turgencia (Ψ_t) por las diferencias entre el potencial hídrico (Ψ_w) y el potencial osmótico (Ψ_s), cuando el potencial hídrico es medido en cada genotipo antes de rehidratar:

$$\Psi_t = \Psi_w - \Psi_s$$

Ecuación 4.3

Tabla 4. Un ejemplo de conversión de la lectura del osmómetro de mmol kg⁻¹ a MPa.

	Lectura del osmómetro (mmolkg ⁻¹)	Lectura del osmómetro/1000 (mmol kg ⁻¹)	Potencial osmótico (MPa)	Potencial osmótico + 10% (MPa)*
No estresado	150	0.15	-0.372	-0.409
Estresado	300	0.30	-0.743	-0.817

*El potencial osmótico (PO) es corregido (PO+10%) por la dilución de la savia simplástica con agua apoplástica, asumiendo un 10% de agua apoplástica.

Solución de problemas

Problema	Solución
Error grande de la varianza en los datos debido a diferencias en el potencial hídrico del suelo.	Haga crecer los genotipos en un sub bloque estadístico (diseño lattice) o en un diseño sin repeticiones con un genotipo de control “check” común en cada maceta. Asegúrese de que las hojas muestreadas estén limpias y secas - utilice una toalla de papel para limpiarlas y secarlas.
Dificultades al calibrar el osmómetro.	La temperatura del laboratorio debe ser estable. Revise la fecha de expiración de los estándares de calibración. Si este problema se debe a la contaminación de la cámara o del termopar, entonces realice una prueba de limpieza. Limpie el termopar cuando el nivel de contaminación sea >10.
Valores erráticos del osmómetro.	Asegúrese de que las muestras estén colocadas correctamente en el osmómetro - muestras mayores a 11µl pueden contaminar el termopar. Remueva las burbujas de aire en el disco de muestreo antes de proceder - una burbuja al interior de la cámara de la muestra contaminará el termopar. Asegúrese de que el porta-muestras esté limpio y sin daños (es decir, no use pinzas de metal para remover el disco de muestreo húmedo). Utilice agua des-ionizada para limpiar el equipo.

Referencias

- Babu, RC., Pathan, MS., Blum, A. y Nguyen, HT. (1999) Comparison of measurement methods of osmotic adjustment in rice cultivars. *Crop Science* 39, 150–158.
- Moinuddin., Fischer, RA., Sayre, KD. y Reynolds, MP. (2005) Osmotic adjustment in wheat in relation to grain yield under water deficit environments. *Agronomy Journal* 97, 1062–1071.
- Zhang, J., Nguyen, HT. y Blum, A. (1999) Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *Journal of Experimental Botany* 50, 291–302.

Literatura recomendada

- Morgan, J. (1983) Osmoregulation as a selection criterion for drought tolerance in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 34, 607–614.
- Munns, R. (1988) Why measure osmotic adjustment? *Australian Journal of Plant Physiology* 15, 717–726.

Capítulo 5. Contenido relativo de agua en hoja

Daniel Mullan y Julián Pietragalla

El contenido relativo de agua (RWC - acrónimo del inglés *relative water content*, o “turgencia relativa”) de una hoja, es la medida de su estado hídrico actual (contenido de agua actual) relacionado con su máxima capacidad de retención de agua en completa turgencia. El RWC proporciona una medición del “déficit hídrico” de la hoja y puede indicar el grado de estrés expresado bajo sequía y calor. El RWC integra el potencial hídrico de la hoja (ψ ; otra estimación útil del estado hídrico de las plantas) con el efecto del ajuste osmótico (un mecanismo poderoso de conservación de la hidratación celular) como una medición del estado hídrico de la planta. Un genotipo con la habilidad de minimizar el estrés mediante la conservación de la turgencia en hojas en ambientes bajo estrés tendrá ventajas fisiológicas (es decir, permite que los procesos dependientes de la turgencia tales como el crecimiento y la actividad estomática, se realicen, además de proteger y mantener al complejo del fotosistema).

La medición del RWC en hojas es fácil y sencilla, sin la necesidad de instrumentos costosos y especializados. Las muestras de hojas frescas de los cultivos producidos en campo, se pesan primero y luego se colocan en agua, refrigerándolas durante la noche, y se pesan de nuevo antes de meterlas al horno para secarlas y pesarlas finalmente. La diferencia relativa del contenido de agua en las muestras de hojas proporciona una medida cuantitativa de su estado hídrico en campo. Los ensayos pueden permitir la discriminación rápida de genotipos que mantienen valores altos de RWC en hoja durante el estrés por déficit hídrico, y viceversa. Las fuentes de error en la estimación del RWC pueden resumirse en: (i) cambio en el peso seco (principalmente debido a pérdidas por respiración), (ii) incrementos en el contenido de agua en exceso en turgencia total, y (iii) acumulación de agua en los espacios intercelulares (Barrs y Weatherley, 1962).

Ubicación y condiciones ambientales

Las muestras pueden tomarse bajo la mayoría de condiciones ambientales. Sin embargo, es importante que la superficie de la planta no esté húmeda por rocío, riego o lluvia.

Hora del día

El momento óptimo para muestrear es a medio día \pm 2 horas; ya que es el momento más estable del día con respecto a la irradiación y temperatura y sus efectos sobre las relaciones hídricas de la hoja. Una curva diaria de RWC en hoja puede obtenerse realizando mediciones durante todo el día.

Etapa de desarrollo de la planta

Las muestras pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo y/o en intervalos regulares desde el inicio de macollamiento hasta finales de llenado de grano, dependiendo de los objetivos del experimento/momento de máximo estrés. Por ejemplo, el muestreo en ensayos de calor y/o sequía terminal se realiza a inicios de llenado de grano, como una evaluación de la adaptación al estrés.

Obsérvese que en condiciones de estrés severo las plantas fenecen rápidamente y las mediciones deberán tomarse con anterioridad. Las mediciones secuenciales durante todo este período permitirán la valoración del cambio del RWC en la hoja.

Número de muestras por parcela

Tome seis muestras de hojas de diferentes plantas en cada parcela.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la técnica para una hoja (modificado de Stocker, 1929). Alternativamente, puede emplearse la técnica del disco de hoja.

Lleve consigo el siguiente material/equipo a campo:

- Tijeras
- Tubos rotulados (uno por parcela)
- Hielera
- En laboratorio se requiere de:
 - Balanza semi analítica (con 3 decimales)
 - Agua destilada
 - Papel secante
 - Horno

Consejos para la toma de mediciones

Seleccione la última hoja completamente expandida, que esté expuesta a la luz del sol, típicamente la hoja bandera, o seleccione las hojas por debajo del perfil del dosel. El muestreo de hojas debería realizarse de la manera más rápida y eficiente posible. Debe aprovecharse la sombra de quien muestrea para cubrir la hoja al momento de cortar y sostener la muestra. Un asistente de campo es a menudo muy útil para realizar esta labor.

Todos los pesos deberían ser registrados al miligramo más cercano (3 decimales).

Preparaciones

1. Enumere y pese los tubos vacíos para muestras (tubo W; Figura 5.1A).

Mediciones en campo

2. Seleccione y corte 6 hojas bandera completamente expandidas provenientes de plantas escogidas al azar, en cada parcela (Figura 5.1B).
3. Corte la parte superior e inferior de todas las hojas juntas y cualquier tejido muerto o senescente (Figura 5.1C) para dejar una sección media de 5 cm; colóquela inmediatamente dentro de los tubos previamente pesados y selle la tapa (para que no haya pérdida/ganancia de humedad del sistema).
4. Inmediatamente coloque los tubos dentro de un contenedor frío con aislamiento (alrededor de 10 – 15 °C; pero sin congelar).
5. Lleve los tubos al laboratorio lo más pronto posible.

Mediciones en laboratorio

6. Pese todos los tubos que contienen muestra (tubo W + PF).
7. Añada 1 cm de agua destilada a cada tubo (Figura 5.1D).
8. Coloque los tubos de muestra en un refrigerador (a 4 °C en la oscuridad) por 24 horas (para que las hojas alcancen una turgencia completa) (Figura 5.1E).
9. Extraiga las hojas muestreadas fuera del tubo, séquelas rápida y cuidadosamente con una toalla de papel.
10. Pese la hoja muestreada (PT, peso en turgencia).
11. Coloque las hojas muestreadas en un sobre etiquetado y séquelas a 70°C por 24 horas o hasta alcanzar un peso constante (Figura 5.1G).
12. Vuelva a pesar las muestras de hojas (PS, peso seco).



Datos y cálculos

Primero, obtenga el peso fresco (PF) de las muestras:

$$PF = \text{tuboW} + PF - \text{tuboW} \quad \text{Ecuación 5.1}$$

Luego calcule el RWC de la hoja:

$$\text{RWC hoja (\%)} = ((PF - PS) / (PT - PS)) \times 100 \quad \text{Ecuación 5.2}$$

Donde: PF=peso fresco; PT = peso en turgencia; PS= peso seco.

Ejemplo práctico

Tabla 5.1. Cálculo del contenido relativo de agua de las hojas bandera bajo sequía severa durante inicio de llenado de grano.

Parcela	Peso del tubo (g)	Peso del tubo + peso fresco (g)	Peso fresco (g)	Peso en turgencia (g)	Peso seco (g)	RWC de hoja (%)
1	12.065	12.730	0.665	0.985	0.292	53.8
2	12.111	12.920	0.809	1.322	0.350	47.2
3	12.022	12.833	0.811	1.086	0.345	62.9

Los valores típicos de RWC varían entre 98% en hojas turgentes y transpirantes hasta alrededor de 40% en hojas severamente deshidratadas y senescentes; el RWC de una hoja en marchitez es de alrededor 60 – 70 %.

Solución de problemas

Problema	Solución
Valores de peso fresco más bajos que los esperados	La colocación de las hojas cortadas dentro del tubo de muestreo es muy lenta, provocando que las hojas se deshidraten en el aire. El muestreo de hojas se debería llevar a cabo de la manera más rápida y eficiente posible, y tratar de sombrear la hoja al momento de cortar y sostener las muestras.
Valores de turgencia mucho más altos de los esperados	El secado de hojas después de la inmersión en agua destilada no es suficiente, asegúrese de secar muy bien toda la superficie de las hojas muestreadas utilizando un papel absorbente. No llene por completo los tubos con agua ya que esto puede sobrestimar el peso de turgencia debido al llenado de los espacios intracelulares con agua.

Referencias

- Barrs, HD. y Weatherley, PE. (1962) A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Australian Journal of Biological Sciences* 15, 413–428.
- Stocker, O. (1929) Das Wasserdefizit von Gefäßpflanzen in verschiedenen Klimazonen. *Planta* 7, 382–387.

Literatura recomendada

- Hewle, JD. y Kramer, PJ. (1963) The measurement of water deficits in broadleaf plants. *Protoplasma* 57, 381–391.
- Smart, RE. y Bingham, GE. (1974) Rapid estimates of relative water content. *Plant Physiology* 53, 258–260.
- Turner, NC. y Jones, MM. (1980) Turgor maintenance by osmotic adjustment: a review and evaluation In: Turner, NC. y Kramer, PJ. (Eds.) *Adaptation of plants to water and high temperature stress*, pp: 87–103.
- Weatherley, PE. (1950) Studies in the water relations of the cotton plant. I. The field measurement of water deficits in leaves. *New Phytologist* 49, 81–97.

Capítulo 6. Discriminación isotópica de carbono

Marta Lopes y Daniel Mullan

La discriminación isotópica de carbono (DIC, o CID, acrónimo del inglés *carbon isotope discrimination*; $\Delta^{13}\text{C}$) proporciona una medida integrativa de la conductancia estomática (Farquhar *et al.*, 1989). El trigo es una planta C3, y discrimina (Δ) en contra del isótopo de carbono estable más pesado (^{13}C) y a favor de la forma más ligera (^{12}C) y más abundante (99%) durante la fijación del dióxido de carbono para la fotosíntesis, debido a la combinación de los efectos de difusión a través de los estomas y a la preferencia enzimática (Rubisco). Esta discriminación se relaciona positivamente con los niveles de dióxido de carbono en los espacios aéreos intercelulares de la hoja, y, debido a una diferencia constante de presión de vapor entre hoja y aire, también se relaciona de manera positiva con el consumo de agua (CA o WU, acrónimo del inglés *water uptake*; es decir, disponibilidad y conductividad del xilema), y se relaciona negativamente con la eficiencia de transpiración (TE, acrónimo del inglés *transpiration efficiency*). Una mayor apertura estomática global permite el incremento de la tasa de intercambio gaseoso de la hoja, permitiendo a su vez a la planta favorecer al ^{12}C , pero con grandes pérdidas de agua (Condon *et al.*, 1990). Cuando se mide la CID en material vegetal seco, se obtiene una indicación integrada de la TE para el periodo de crecimiento del órgano bajo estudio. La CID se ha empleado como una herramienta de selección para identificar las variaciones en la eficiencia del uso del agua (WUE, acrónimo del inglés *water use efficiency*) en trigo y en el desarrollo de variedades de trigo con mejor WUE y tolerancia a sequía.

La interpretación de los datos depende de los órganos muestreados y sus respectivas condiciones de crecimiento. Por ejemplo, la CID puede medirse ya sea en hojas durante el desarrollo temprano del dosel en ensayos bajo riego – en cuyo caso es altamente probable que los efectos del cultivar estén relacionados principalmente a la TE; o, en granos en etapa de madurez en los ensayos de sequía – en cuyo caso es altamente probable que los efectos del cultivar estén relacionados a la tasa de transpiración. Los valores también podrían estar influenciados por muchos factores ambientales distintos al estrés hídrico, incluyendo respuestas a plagas y enfermedades, disponibilidad de nutrientes y limitaciones de suelo. En etapas tempranas de desarrollo, antes de que la planta haya experimentado ningún estrés hídrico o ambiental, los valores indican una medida del potencial de TE de la planta, antes de que otros efectos tales como la profundidad de enraizamiento o fenología afecten a estos valores. Esta técnica ha sido exitosa en el mejoramiento del rendimiento de grano en sistemas de trigo bajo secano en Australia, donde la selección favoreció una baja CID (Rebetzke *et al.*, 2002).

Los valores de grano en madurez proporcionan una medida integrada, casi histórica, de la WUE durante todo el periodo de crecimiento, y en este caso, los incrementos en el rendimiento del grano estarían asociados con el incremento de la CID (es decir, baja TE) en México (Sayre *et al.*, 1995).

Ubicación y condiciones ambientales

Las muestras pueden tomarse bajo cualquier condición ambiental. Para el muestreo de hojas, es importante que todas las parcelas hayan sido bien regadas desde su establecimiento hasta el muestreo (esto asegura que las medidas de la TE no se confundan por las diferencias en la respuesta genotípica a un perfil de suelo deshidratado).

Hora del día

Las muestras pueden tomarse a cualquier hora del día.

Etapas de desarrollo de la planta

Tomar muestras de hojas durante el desarrollo de la plántula, posterior al estadio de tres hojas (GS13).

Tomar muestras de grano después de la madurez fisiológica (GS87).

Número de muestras por parcela

Para el muestreo de hojas, seleccionar de manera aleatoria 10 a 20 plantas diferentes por parcela, sin incluir las que se encuentran en los bordes.

Para el muestreo de grano, tomar una única muestra de un volumen de grano seco bien mezclado de la cosecha de cada parcela.

Procedimiento

Para el muestreo foliar, se recomienda llevar al campo lo siguiente:

- Bolsas previamente etiquetadas
- Tijeras

Consejos para la toma de mediciones

Recuerde que la aplicación de herbicidas o pesticidas afectan potencialmente al intercambio de gases, y por lo tanto pueden afectar los resultados. Debido a ello, es importante realizar un registro cuidadoso para la interpretación de los datos de la CID.

Se recomienda incluir varias muestras de “más del doble” dentro del análisis de isótopos para verificar su consistencia, repitiendo normalmente el 10% de las muestras.

Preparaciones

1. Prepare bolsas de papel etiquetadas/rotuladas para secar en el horno. Para muestras de hojas: use bolsas de tamaño mediano con orificios para incrementar la eficiencia del secado (utilizar una perforadora y asegurarse de tener el mismo patrón de agujeros en todas y cada una de las bolsas). Para el muestreo de grano: utilice bolsas pequeñas o sobres.

Mediciones en el ensayo

Muestreo de hojas:

2. Utilice un par de tijeras para cortar la hoja más reciente y expandida de 10 a 20 plantas.
3. Coloque las hojas cortadas en las bolsas de papel etiquetadas previamente.

Muestreo de grano:

Tome muestras de 2 a 5 g de grano por parcela. La muestra se debe tomar del total del grano cosechado de cada parcela, el cual debe estar muy bien mezclado.

Mediciones en el laboratorio

Preparación de las muestras para el análisis:

4. En cuanto se muestreen las hojas, colóquelas a 75 °C por 48 horas; aunque las muestras de grano estén secas, también se pueden colocar al horno.
5. Muela la muestra de hoja/grano (por ejemplo, utilice un molino simple de 0.5 mm). Asegúrese de limpiar el molino cuidadosamente entre cada muestra con ayuda de una manguera de aire comprimido.
6. Coloque la muestra molida en un sobre etiquetado.
7. Guarde la muestra a temperatura ambiente en un lugar seco.

Análisis isotópico de carbono con espectrometría de masas

Generalmente, el análisis de las muestras con espectrometría de masas se envía a hacer a laboratorios especializados. A grandes rasgos, podemos decir que se toma una pequeña cantidad homogénea de muestra sólida medida de manera muy precisa (1-5 mg) y se calienta a altas temperaturas (1,000 – 1,800 °C) para producir CO₂ y N₂ en gas. Se miden las formas isotópicas de carbono y nitrógeno con espectrometría de masa isotópica.

Es importante verificar los requerimientos del procedimiento del laboratorio al cual se envíen para su análisis.

Análisis de datos

Cálculo de la composición isotópica del carbono ($\delta^{13}C$)

Los resultados de la espectrometría de masas son valores de la composición isotópica del carbono estable ($\delta^{13}C$) expresado en valores negativos y en partes porcentuales (‰) (Farquhar *et al.*, 1989):

$$\delta^{13}C (\text{‰}) = [(R_{\text{muestra}}/R_{\text{estándar}}) - 1] \times 1000 \quad \text{Ecuación 6.1}$$

Donde: la proporción en la muestra del isótopo más pesado respecto al más ligero es comparada con la referencia de carbonato de Peedee Belemnite (PDB).

Por ejemplo, un valor $\delta^{13}C$ de -28‰ significa que la proporción ¹³C/¹²C de la muestra es 28 ppt más bajo que el PDB de referencia. Los valores de $\delta^{13}C$ para plantas C3 van de alrededor de -35 a -20‰, y para plantas C4 entre -17 y -9‰.

Cálculo de la discriminación isotópica de carbono ($\Delta^{13}C$)

Siguiendo con (Farquhar *et al.*, 1989) – más que utilizar los valores ($\delta^{13}C$) de composición isotópica del carbono, los valores positivos para CID ($\Delta^{13}C$) pueden calcularse para un análisis estadístico de una manera más fácil como:

$$\Delta^{13}C = [(\delta_a - \delta_p)] / [1 + (\delta_p/1000)] \quad \text{Ecuación 6.2}$$

Donde δ_a y δ_p se refieren a la composición isotópica del carbono estable de la atmósfera y la muestra, respectivamente.

En la escala PDB, el CO₂ atmosférico libre (δ_a) tiene una composición aproximada de -8‰, (Farquhar *et al.*, 1989), aunque este valor puede variar a través de diferentes sitios (-9 a -7.5‰), y se hace más negativo cada año (ca. -0.02 a -0.03‰ por año) debido a los efectos de deforestación y uso de combustible fósil. Por lo tanto, con el fin de comparar los datos a través de los diferentes lugares, medioambientes (invernadero o cámara de crecimiento; valores de 10 a 13‰) y años, es útil medir la proporción isotópica del carbono en el aire en el momento de cada experimento.

Por ejemplo, si el valor de $\delta^{13}C$ es -28:

$$\begin{aligned} \Delta^{13}C &= [-8 - (-28)] / [1 + (-28/1000)] \\ &= 20/0.972 \\ &= 20.58 \end{aligned}$$

Las hojas de las plantas con alta TE cultivadas bajo riego muestran menor $\Delta^{13}C$ (es decir, baja discriminación).

Las plantas sometidas a estrés hídrico, generalmente producen grano con menor $\Delta^{13}C$, el cual está relacionado negativamente con la EA y relacionado positivamente con la TE.

Solución de problemas

Problema	Solución
Datos inusuales debido a la contaminación de muestra (normalmente se observan picos de C muy altos, y pueden cambiar mucho la proporción de isótopos en la muestra).	Todos los materiales en contacto con las muestras (mortero, espátulas, tubos de Eppendorf, etc.) deben limpiarse profusamente con alcohol y no tener polvo. Si se utiliza un molino, se debe limpiar cuidadosamente entre cada muestra con una manguera con aire comprimido o mediante vacío.
$\Delta^{13}\text{C}$ muy bajo en las muestras de hojas.	Las plantas no estuvieron bien regadas en el momento del muestreo. Asegúrese de que su material sea secado inmediatamente después del muestreo, ya que las pérdidas de carbohidratos por respiración (que ocurren aún después del corte) pueden alterar las proporciones de isótopos en la muestra.

Referencias

- Condon, AG., Farquhar, GD. y Richards RA. (1990) Genotypic variation in carbon isotope discrimination and transpiration efficiency in wheat. Leaf gas exchange and whole plant studies. *Australian Journal of Plant Physiology* 14, 9–22.
- Farquhar, D., Ehleringer, JR. y Hubick, KT. (1989) Carbon isotope discrimination and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 40, 503–537.
- Rebetzke, GJ., Condon, AG., Richards, RA. y Farquhar, GD. (2002) Selection for reduced carbon isotope discrimination increases aerial biomass and grain yield of rain fed bread wheat. *Crop Science* 42, 739–745.
- Sayre, KD., Acevedo, E. y Aus n, RB. (1995) Carbon isotope discrimination and grain yield for three bread wheat germplasm groups grown at different levels of water stress. *Field Crops Research* 41, 45–54.

Literatura recomendada

- Araus, JL., Slafer, GA., Reynolds, MP. y Royo, C. (2002) Plant breeding and drought in C3 cereals: what should we breed for? *Annals of Botany* 89, 925–940.
- Condon, AG., Richards, RA., Rebetzke, GJ. y Farquhar, GD. (2004) Breeding for high water-use efficiency. *Journal of Experimental Botany* 55, 2447–2460.
- Khazaie, H., Mohammady, S., Monneveux, P. y Stoddard, F. (2011) The determination of direct and indirect effects of carbon isotope discrimination (Δ), stomatal characteristics and water use efficiency on grain yield in wheat using sequential path analysis. *Australian Journal of Crop Science* 5(4), 466–472.
- Monneveux, P., Reynolds, MP., Trethowan, R., González-Santoyo, H., Peña, RJ. y Zapa, F. (2005) Relationship between grain yield and carbon isotope discrimination in bread wheat under four water regimes. *European Journal of Agronomy* 22, 231–242.
- Richards, RA. (2006) Physiological traits used in the breeding of new cultivars for water-scarce environments. *Agricultural Water Management* 80, 197–211.

TRIGO

Índices de reflectancia y medición de pigmentos



Capítulo 7. Reflectancia espectral

Julián Pietragalla, Daniel Mullan y Raymundo Sereno Mendoza

La reflectancia de la luz desde el dosel vegetal a diferentes longitudes de onda, está influenciada por las propiedades ópticas de la planta, dando una firma espectral única de los componentes que constituyen el dosel del cultivo (como por ejemplo, proteínas, lignina, celulosa, azúcar, almidón, agua, etc.). Los espectrómetros de campo (y espectro-radiómetros) se emplean para medir la reflectancia espectral, y generalmente tienen un rango espectral de 350-1100 nm, o un rango más amplio de 350–2500 nm. Este rango continuo abarca las regiones de la luz visible y del infrarrojo cercano del espectro electromagnético, cubriendo las longitudes de onda usadas para calcular la mayoría de los índices relacionados con el dosel. La comprensión de las propiedades ópticas de los doseles de las plantas ha permitido el desarrollo de una serie de mediciones extremadamente útiles para la selección de caracteres fisiológicos.

La medición y el análisis del espectro reflejado pueden emplearse para capturar una gran cantidad de información sobre el estado fisiológico del dosel de un cultivo, incluyendo el cálculo de índices de vegetación, de pigmentos y de agua (Tabla 7.1; Figura 7.1). Estos valores permiten estimar la biomasa verde, el área fotosintética del dosel, la cantidad de radiación fotosintéticamente activa (PAR) absorbida por el dosel, su potencial fotosintético, las características de la variedad (por ejemplo, presencia de ceras epicuticulares y la arquitectura del dosel). El rendimiento de granos también ha sido estimado usando índices de reflectancia espectral en diferentes etapas de desarrollo del cultivo. Las mediciones también pueden usarse para evaluar los efectos de las deficiencias nutricionales y estreses medio ambientales mediante la estimación de la concentración de clorofila y de carotenoides, la eficiencia del uso de la radiación fotosintética (RUE) y el contenido de agua.

Tabla 7.1. Índices de reflectancia espectral (SRI, acrónimo del inglés *spectral reflectance indices*) usados comúnmente para el análisis del dosel de trigo, donde los tipos de índices son: VI – índice de vegetación; PI – índice relacionado con pigmentos; WI – índice de agua.

Índice	Nombre	Proceso Fisiológico	Tipo	Cálculo
NDVI	Índice de vegetación de diferencia normalizada	Área verde, capacidad fotosintética, estado del N en la planta	VI	$[R_{900}-R_{680}]/[R_{900}+R_{680}]$
R-NDVI	Índice de vegetación de diferencia normalizada en rojo	Área verde, capacidad fotosintética, estado del N en la planta	VI	$[R_{780}-R_{670}]/[R_{780}+R_{670}]$
G-NDVI	Índice de vegetación de diferencia normalizada en verde	Área verde, capacidad fotosintética, estado del N en la planta	VI	$[R_{780}-R_{550}]/[R_{780}+R_{550}]$
SRa	Radio simple	Biomasa verde	VI	$[R_{800}-R_{680}]/[R_{900}+R_{680}]$
RARS _a	Análisis del radio del espectro de reflectancia de la clorofila a	Contenido de clorofila a	PI	$[R_{675}]/[R_{700}]$
RARS _b	Análisis del radio del espectro de reflectancia de la clorofila b	Contenido de clorofila b	PI	$[R_{675}]/[R_{650}+R_{700}]$
RARS _c	Análisis del radio del espectro de reflectancia de los carotenoides	Contenido de carotenoides	PI	$[R_{760}]/[R_{500}]$
NPQI	Índice de la extinción no-fotoquímica normalizada	Degradación normal de la clorofila; puede usarse para estimar fenología, plagas y enfermedades	PI	$[R_{415}-R_{435}]/[R_{415}+R_{435}]$
SIPI	Índice estructural independiente de los pigmentos	Senescencia relacionada al estrés	PI	$[R_{800}-R_{435}]/[R_{415}+R_{435}]$
PRI	Índice de reflectancia fotoquímica	Disipación del exceso de radiación	PI	$[R_{531}-R_{570}]/[R_{531}+R_{570}]$
WI	Índice de agua	Estado hídrico de la planta	WI	$[R_{970}]/[R_{900}]$
NWI-1	Índice de agua normalizado 1	Estado hídrico de la planta	WI	$[R_{970}-R_{920}]/[R_{970}+R_{920}]$
NWI-2	Índice de agua normalizado 2	Estado hídrico de la planta	WI	$[R_{970}-R_{920}]/[R_{970}+R_{920}]$
NWI-3	Índice de agua normalizado 3	Estado hídrico de la planta	WI	$[R_{970}-R_{920}]/[R_{970}+R_{920}]$
NWI-4	Índice de agua normalizado 4	Estado hídrico de la planta	WI	$[R_{970}-R_{920}]/[R_{970}+R_{920}]$

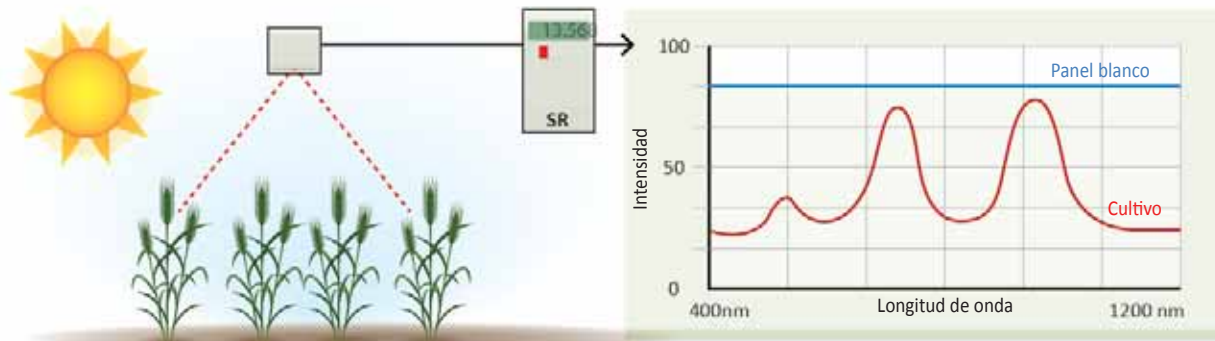


Figura 7.1. Medición de reflectancia espectral de un dosel de un cultivo.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones deben ser tomadas:

- En un día claro y soleado – con nubes o con condiciones nubladas se incrementará la cantidad de radiación difusa (indirecta) sobre el dosel, incrementando la penetración de luz en el dosel y la cantidad de radiación absorbida por los pigmentos fotosintéticos. La estimación de los índices de vegetación será sobrestimada bajo estas condiciones.
- Cuando hay viento despreciable – ya que incluso un ligero viento puede modificar la estructura del dosel y distorsionar el cálculo de los índices espectrales.
- Cuando no hay rocío o humedad en la superficie de las hojas – la humedad superficial distorsionará las mediciones debido a los cambios en la reflexión de la luz dentro del dosel.

Como regla general, deben tomarse mediciones del panel blanco de referencia más frecuentemente cuando se presenta una mayor inestabilidad del medio ambiente.

Hora del día

Tome la mayoría de las mediciones tan cerca al medio día como sea posible, normalmente de 11:00 h a 14:00 h.

Etapa de desarrollo de la planta

Las medidas pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo y/o en intervalos regulares desde el inicio de la elongación del tallo y hasta el final del llenado de grano, dependiendo de los objetivos experimentales/momento de máximo estrés. Para comparaciones entre genotipos, no tome mediciones durante el espigamiento y anthesis ya que las diferencias en fenología podrían confundir los resultados.

Por lo general se toman dos mediciones entre mediados del macollamiento y al fin del periodo de embuche, luego dos mediciones durante el llenado de grano.

Número de muestras por parcela

Tome de 3 a 6 lecturas por parcela en posiciones fijas, con por lo menos 10 promedios de espectros por lectura (para asegurar que el ruido en la señal esté reducido).

Procedimiento

Lleve con usted el siguiente equipo al campo:

- Espectrómetro de campo, equipado con un lente óptico apropiado (para mediciones de un dosel de trigo).
- Un panel blanco de referencia espectral, con el soporte necesario para mantenerlo en una posición fija y horizontal en el campo.

Consejos para la toma de mediciones

El campo de medición del sensor debe tomarse en cuenta al momento de decidir su posición sobre el cultivo y la distancia entre el lente y el dosel. Generalmente, el lente del sensor debe centrarse por encima de una hilera del cultivo para los índices de vegetación, de pigmentos y de agua. Sin embargo, para la determinación de la RUE, el campo de medición del sensor debe incluir ambas hileras y los espacios entre las hileras para tomar en cuenta la interceptación de radiación para el área completa del dosel.

Dos formas de aumentar el área de medición son: (i) abrir el ángulo del campo de vista y/o (ii) incrementar la distancia hacia el objetivo que se va a medir.

Los dos principales ajustes del espectrómetro son: (i) tiempo de integración (exposición) – es decir, la cantidad de tiempo en la que el sensor está abierto y registrando la intensidad de la radiación. Este ajuste puede diferir dependiendo en la configuración del equipo (por ejemplo, lentes, filtros, rejilla/difusor, correctores, etc.) y la calidad de la luz solar o de la fuente de luz utilizada, y (ii) el número de lecturas promediadas por cada punto - es decir, el número de espectros registrados y promediados

para producir un único punto de datos. Un número más alto de lecturas promediadas reduce la variación de los datos, pero incrementa el tiempo de procesamiento (hasta un máximo de 10).

Consideraciones importantes que pueden influenciar la reflectancia de la radiación electromagnética de un dosel:

- Estructura y morfología del dosel: la reflectancia es afectada por la arquitectura del dosel (por ejemplo, tipos erectófilos y planófilos), presencia de ceras epicuticulares, espigas (presencia, tamaño y densidad), barbas (densidad, longitud y color). Por consiguiente, es importante agrupar genotipos que se encuentran en una etapa de desarrollo fenológico similar.
- La cantidad y el ángulo de radiación incidente: este cambia continuamente a lo largo del día debido a los movimientos del sol y el paso de las nubes. Estos afectan en grados diferentes a la reflectancia y a los índices calculados. Por ello, es fundamental repetir las lecturas de referencia del blanco y de la referencia en oscuridad cada 15-30 parcelas.

Preparaciones

Asegúrese de que el espectrómetro esté conectado firmemente a la computadora de control y que las baterías para ambos equipos estén completamente cargadas.

1. Después de encender el espectrómetro, permita que el instrumento se equilibre con la temperatura del ambiente alrededor de 10 minutos. Siempre encienda el espectrómetro primero antes de encender la computadora de control del equipo con el fin de establecer una conexión fiable y segura (aunque esto puede depender del dispositivo específico).
2. Abra el programa de captura de datos en la computadora. Cree un archivo de captura de datos (incluyendo la fecha de la medición y la información del ensayo).

Medidas iniciales

3. Se requiere de una calibración antes de tomar la primera medición:
 - Ajuste la configuración del equipo, incluyendo la del lente en uso, el tiempo de integración y el número de lecturas promediadas por punto de datos. Apunte el lente del sensor hacia abajo en la posición nadir (es decir, directamente hacia abajo) sobre el panel blanco de referencia a una distancia determinada (por lo general de 60-200 cm), y ajuste manualmente el tiempo de integración para mantener el pico de reflectancia de la lectura del blanco de referencia entre 75% y 85% del máximo, de modo que el valor de la reflectancia no se sature a ninguna longitud de onda cuando se toma una lectura de referencia con el blanco, pero que este valor no sea demasiado bajo para la interpretación de los datos. Durante el muestreo, se vuelve a tomar regularmente mediciones con el blanco de referencia (cada 15-30 parcelas) (ver detalles abajo).

Mediciones en el ensayo

4. Tome una "lectura en oscuridad" para establecer el punto de referencia más bajo para el equipo (Figura 7.2A):
 - Cubra completamente el final de la fibra óptica de tal modo que no haya luz capturada por el espectrómetro.
 - Esta línea de referencia será entonces una línea recta en 0 (es decir, cero reflectancia).

La frecuencia de las "lecturas en oscuridad" dependerá del tiempo transcurrido desde que el equipo ha sido puesto en marcha. Cuando el instrumento es inicialmente encendido con la lectura en oscuridad, esta debe tomarse cada 10 minutos, ya que las mediciones de base cambiarán a medida que el instrumento alcanza la temperatura de operación. Una vez que ésta se ha alcanzado, una lectura en la oscuridad debe tomarse nuevamente al mismo tiempo que la lectura del blanco.

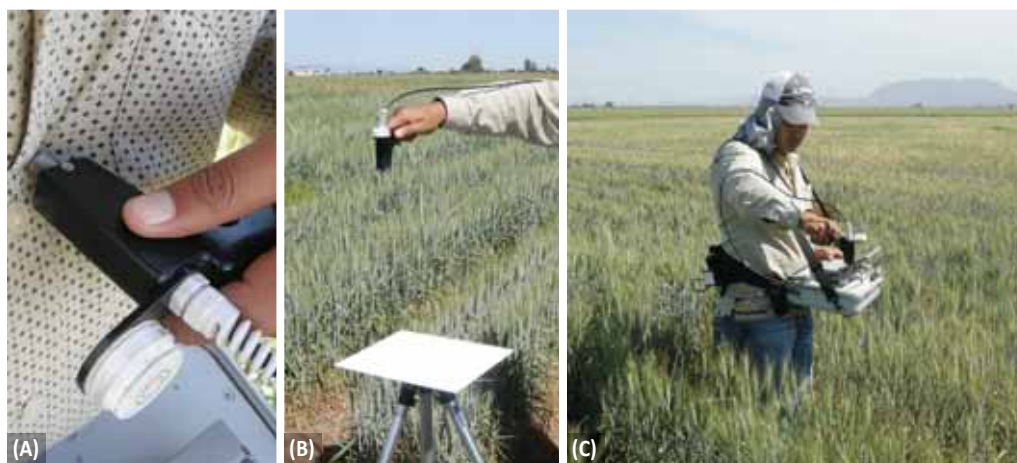


Figura 7.2. Toma de medidas con un espectrómetro de campo: (A) lectura en oscuridad; (B) lectura del blanco; (C) lectura del dosel vegetal.

5. Tome una "lectura del blanco" para establecer el punto superior de referencia del dispositivo (Figura 7.2B):
 - Mantenga la sonda verticalmente por encima del centro del panel blanco de referencia.
 - Haga clic en el botón correspondiente a la lectura del blanco en el programa de computación.
 - Esta línea de referencia debe ser una línea recta en 1 (es decir, 100% reflectancia). Sin embargo, frecuentemente hay ruido en la señal en esta lectura, debido al disturbio atmosférico (por ejemplo, si hay un alto nivel de humedad en el aire).

Esta medición proporcionará la cantidad máxima de reflectancia posible proveniente de la radiación incidente disponible. La medición del panel de referencia proporciona un valor del espectro que incide sobre el dosel, la cual se usa para obtener un cociente con el espectro reflejado por el dosel. Como la intensidad de la radiación incidente está continuamente cambiando con el ángulo cenital y otras variables medioambientales, es muy importante realizar mediciones periódicas del panel blanco de referencia. Una medición de referencia del blanco podría tomarse cada 15-30 parcelas, con mayor frecuencia de las lecturas del blanco de referencia cuando la distancia al sol desde el ángulo cenital incrementa.

6. Ahora los datos pueden capturarse a partir del ensayo:
 - El lente se sostiene de 60-200 cm sobre el dosel del cultivo, ya sea a mano o con la ayuda de un instrumento. La distancia variará con las diferencias del diseño del ensayo y de los instrumentos, pero se debe tener en cuenta el área del dosel, el espacio entre las hileras de plantas y el campo de visión del lente en uso. Mantenga una orientación vertical constante del lente durante las mediciones (Figure 7.2C).

Datos y cálculos

Dependiendo de la configuración del instrumento, los datos se procesan directamente por el propio programa del instrumento, o pueden ser descargados e importados en MS Excel. Los datos se presentan usualmente en 5 columnas, representando:

- Longitud de onda (nm).
- Blanco de referencia (intensidad de *counts*).
- Oscuro de referencia (intensidad de *counts*).

- Espectro de la muestra (Intensidad de *counts*).
- Espectro de muestra procesada (reflectancia; %).

La reflectancia del dosel de la planta (CR, acrónimo del inglés *canopy reflectance*) se calcula utilizando la ecuación:

$$CR (\%) = (Muestra - Oscuridad) / (Blanco - Oscuridad) \times 100$$

Ecuación 7.1

Los resultados típicos para la radiación reflejada de un dosel de trigo en comparación con las lecturas de referencia del blanco y oscuridad, y la reflectancia del dosel (%) en dos medioambientes (irrigados y en sequía) en el noroeste de México esta mostrados en la Figura 7.3 y 7.4, respectivamente.

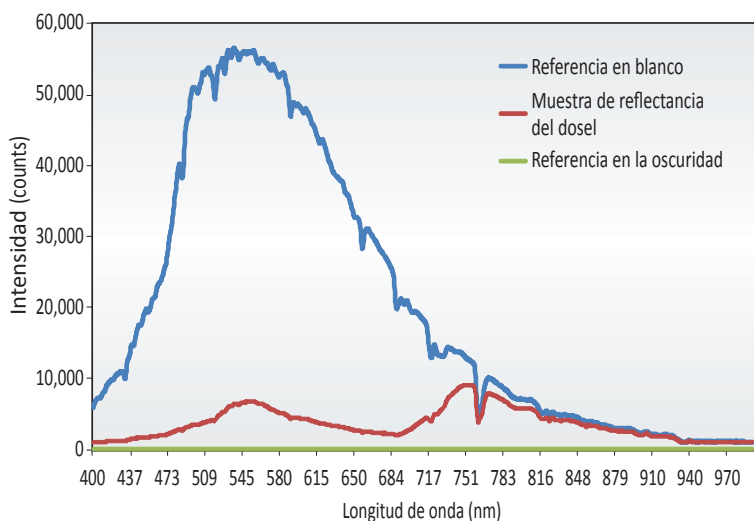


Figura 7.3. Radiación reflejada por el dosel de trigo con las lecturas de referencias en blanco y oscuridad.

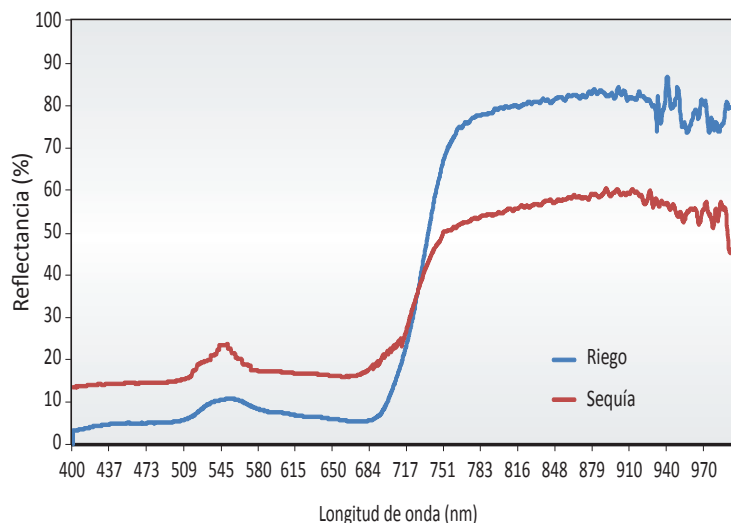


Figura 7.4. Reflectancia del dosel (%) de trigo en ambientes de riego y sequía en el Noroeste de México.

Solución de problemas

Problema	Solución
Después de una hora de mediciones, las lecturas (blanco/ reflectancia) muestran saturación	Asegúrese de configurar manualmente el tiempo de integración para mantener el pico de las lecturas de reflectancia del blanco de referencia entre 75% y 85% de las mediciones iniciales.
El Spectralon® del panel blanco de referencia es muy costoso	El panel puede hacerse de una mezcla de sulfato de bario y pintura blanca de látex
Hay inconsistencias en las lecturas en los ensayos	Hay varias consideraciones importantes cuando se realizan mediciones de teledetección y se interpretan resultados espectrales. La reflectancia de la radiación electromagnética de un dosel puede ser influenciada por numerosos factores, incluyendo los siguientes: <ul style="list-style-type: none"> - Estructura y morfología del dosel - Grado de cobertura del dosel - Geometría de la radiación incidente - Grado de sombreado - Presencia de nubes - Presencia de objetos cercanos

Literatura recomendada

- Aparicio, N., Villegas, D., Araus, J.L., Casadesus, J. y Royo, C. (2002) Relationship between growth traits and spectral vegetation indices in durum wheat. *Crop Science* 42, 1547–1555.
- Babar, MA., van Ginkel, M., Reynolds, MP., Prasad, B. y Klatt, AR. (2007) Heritability, correlated response, and indirect selection involving spectral reflectance indices and grain yield in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 58, 432–442.
- Blackburn, GA. (2006) Hyperspectral remote sensing of plant pigments. *Journal of Experimental Botany* 58, 855–867.
- Gutierrez, M., Reynolds, MP. y Klatt, AR. (2010) Association of water spectral indices with plant and soil water relations in contrasting wheat genotypes. *Journal of Experimental Botany* 61(12), 3291–3303.
- Osborne, SL., Schepers, JS., Francis, DD. y Schlemmer, MR. (2002) Use of spectral radiance to estimate in-season biomass and grain yield in nitrogen- and water-stressed corn. *Crop Science* 42, 165–171.
- Peñuelas, J., Filella, I., Biel, C., Serrano, L. y Savé, R. (1993) The reflectance at the 950-970 nm region as an indicator of plant water status. *International Journal of Remote Sensing* 14, 1887–1905.
- Peñuelas, J., Filella, I. y Gamon, JA. (1995) Assessment of photosynthetic radiation-use efficiency with spectral reflectance. *New Phytologist* 131(3), 291–296.
- Prasad, B., Carver, BF., Stone, ML., Babar, MA., Raun, WR. y Klatt, AR. (2007) Potential use of spectral reflectance indices as a selection tool for grain yield in winter wheat under Great Plains conditions. *Crop Science* 47, 1426–1440.
- Wiltshire, J., Clark, WS., Riding, A., Steven, M., Holmes, G. y Moore, M. (2002) Spectral reflectance as a basis for in-field sensing of crop canopies for precision husbandry of winter wheat. HGCA Project Report No. 288. Home Grown Cereals Authority, Caledonia House, London, UK.
- Zhao, C., Wang, J., Huang, W. y Zhou, Q. (2009) Spectral indices sensitively discriminating wheat genotypes of different canopy architectures. *Precision Agriculture* 11, 557–567.

Capítulo 8. Índice de vegetación de diferencia normalizada

Julián Pietragalla y Arturo Madrigal Vega

El índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, acrónimo del inglés *normalized difference vegetation index*) es ampliamente utilizado en mediciones de teledetección realizadas en tierra, y desde altitudes bajas, altas y por satélite para medir el verdor de la vegetación y el tamaño del dosel fotosintético. El sensor de NDVI portátil de campo (Figura 8.1) proporciona una medición rápida de los cultivos en tierra a una resolución apropiada para caracterizar el dosel por: índice de área foliar (LAI) e índice de área verde (GAI), biomasa y contenido de nutrientes (por ejemplo, nitrógeno). Los datos pueden utilizarse para estimar y predecir el rendimiento, la acumulación de biomasa y su tasa de crecimiento, la cobertura del suelo y el vigor temprano, la estimación de patrones de senescencia, y para detección de estreses bióticos y abióticos. La tecnología del NDVI se utiliza también para hacer decisiones en agricultura de precisión: detección de malezas, fumigación con herbicidas, y tasa y momento de aplicaciones de fertilizantes nitrogenados.

El NDVI se calcula a partir de mediciones de la reflectancia de la luz en las regiones del rojo e infrarrojo cercano (NIR) del espectro. Un dosel verde y sano absorberá la mayor parte de la luz roja y reflejará la mayor parte de la luz NIR, ya que la clorofila absorbe la luz azul y roja principalmente y el mesófilo refleja la luz NIR:

$$\text{NDVI} = (R_{\text{NIR}} - R_{\text{Red}}) / (R_{\text{NIR}} + R_{\text{Red}}) \quad \text{Ecuación 8.1}$$

La mayoría de los sensores NDVI portátiles de campo son 'activos' (es decir, cuentan con su propia fuente de luz) lo cual permite realizar mediciones bajo cualquier condición de luz, y para que los datos sean comparables entre la fecha y la hora del día.

Ubicación y condiciones ambientales

Para los sensores 'activos', las mediciones pueden realizarse bajo cualquier condición de luz (para los sensores de NDVI sin una fuente de luz propia, tome las lecturas en un día claro y soleado). Tome mediciones cuando haya viento muy ligero, ya que incluso un ligero viento puede modificar la estructura del dosel. Es importante que las superficies de las plantas estén secas y no mojadas por rocío, riego o lluvia.

Hora del día

Para los sensores activos, las medidas pueden tomarse a cualquier hora del día. Para los sensores de NDVI sin una fuente de luz propia, tome la mayoría de las mediciones tan cerca al medio día como sea posible; normalmente de 11:00h a 14:00h.

Etapas de desarrollo de la planta

Las medidas pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo y/o a intervalos regulares desde la emergencia hasta la madurez fisiológica, dependiendo de los objetivos del experimento y el momento máximo de estrés. Para comparar entre genotipos, no tome medidas durante el espigamiento y floración, ya que las diferencias de fenología pueden confundir los resultados:

- Vigor temprano: tome tres mediciones, a los 5, 10 y 15 días después de la emergencia (DAE, acrónimo del inglés *days after emergence*), para clasificar los genotipos. Se recomienda el uso de la misma fuente de semilla para todos los genotipos, las semillas de diferentes ambientes



Figura 8.1 (A) Sensor portátil NDVI GreenSeeker; (B) usándolo en campo en la etapa GS31; y, (C) usándolo en campo durante el llenado de grano.

pueden presentar variaciones en el establecimiento del cultivo, lo cual podría confundir el análisis.

- Detección de estreses bióticos y abióticos: tome las mediciones antes, durante y después del periodo/ evento de estrés. Los efectos sobre el NDVI (por ejemplo, para la estimación de la biomasa verde) permitirán la discriminación de los genotipos sensibles y resistentes/ tolerantes al estrés.
- La acumulación de la biomasa y la tasa de crecimiento del cultivo: tome mediciones periódicamente desde la emergencia hasta el final de la floración para estimar la acumulación de la biomasa sobre el tiempo para el cálculo de la tasa de crecimiento del cultivo.
- Duración de la senescencia, permanencia en verde y llenado de grano: realice mediciones semanalmente desde la floración hasta la madurez fisiológica. Los genotipos que mantienen el área del dosel con verdor de larga duración, se asocian con un mayor rendimiento.

Número de muestras por parcela

Tome una medición por parcela con una duración fija (dependiendo del tamaño de la parcela); por ejemplo, aproximadamente 5 segundos para una parcela de 5 m.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la toma de mediciones en campo utilizando un lector portátil de mano Ntech 'Green Seeker' medidor de NDVI (un sensor activo).

Lleve el siguiente equipo al campo:

- Sensor de NDVI portátil de campo

Consejos para la toma de mediciones

Mientras se toman las mediciones, asegúrese de sostener la cabeza del sensor:

- Nivelado horizontalmente de modo que el campo de visión esté directamente sobre el cultivo.
- Constantemente alineado sobre la parcela, por lo general centrado en las hileras centrales de plantas. Lo ideal sería que el campo de visión cubra dos o más hileras del cultivo (Figuras 8.1C y 8.2B).
- A una distancia de 60-120 cm por encima del cultivo – dentro del rango de distancia óptimo, las lecturas no son afectadas por la varianza de altura (ver las recomendaciones del fabricante). Las diferencias de altura del dosel entre genotipos desde la emergencia hasta el inicio de la elongación del tallo son intrascendentes, sin embargo, después del espigamiento, la altura del dosel de las plantas puede diferir entre genotipos y podría ser necesario ajustar la altura de la cabeza del sensor entre las parcelas para mantener una distancia constante entre ésta y el dosel del cultivo. Una cuerda pesada amarrada detrás del sensor puede ayudar al operador a mantener una distancia constante entre el sensor y el dosel del cultivo (véase la Figura 8.1C).

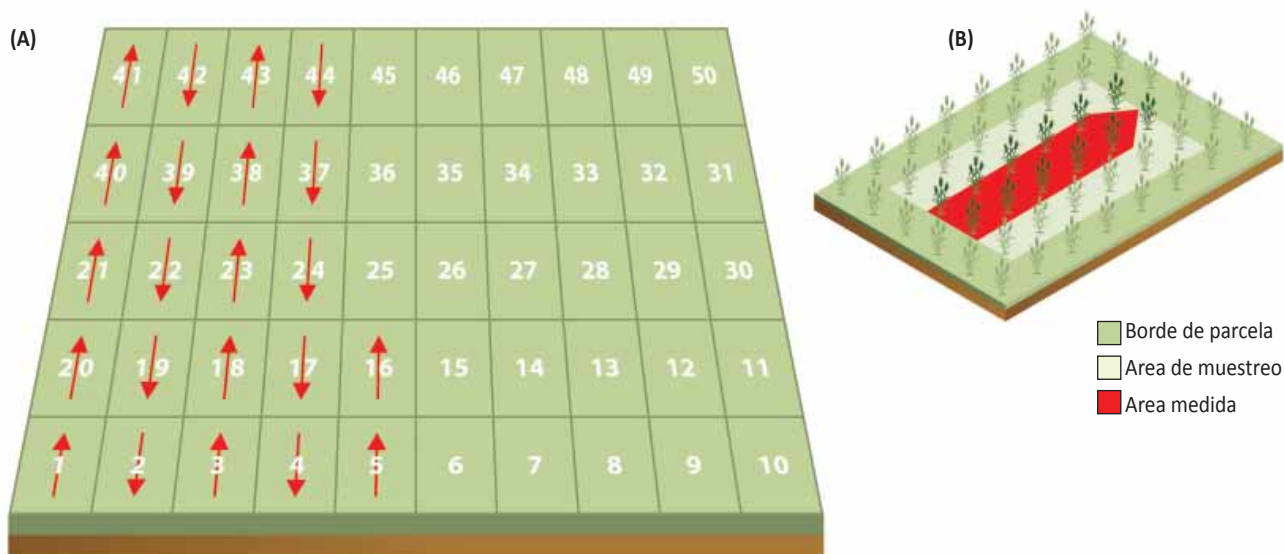


Figura 8.2. (A) Mapa de campo y dirección de las mediciones (el orden de las parcelas muestreadas es: 1, 20, 21, 40, 41, 42, 39, 22...); y, (B) área muestreada dentro de cada parcela al pasar el sensor por encima de las hileras centrales y excluyendo los bordes de las parcelas.

Camine a una velocidad constante (por lo general de 1 m s^{-1}). La mayoría de los sensores de NDVI portátiles de campo tienen un número constante de mediciones por segundo mientras el gatillo está presionado, proporcionando entonces un promedio de los datos tomados. Camine hacia delante y hacia atrás de las parcelas del cultivo, independientemente del diseño experimental, ya que es generalmente más fácil reorganizar los datos en la oficina que seguir el número de la parcela en el campo (ver figura 8.2).

Es necesario controlar la fenología en poblaciones con diferentes fechas de floración, ya que las plantas con diferentes etapas de desarrollo difieren en arquitectura y presentan diferencias en la relación fuente-destino de asimilados, y estos pueden confundir el análisis. Esto puede corregirse mediante el fraccionamiento de la población en líneas tempranas y tardías, y por lo tanto haciendo que diferentes poblaciones puedan ser seleccionadas. Un rango de hasta 10 días en la fecha de floración es bastante razonable.

Preparaciones

Asegúrese de que la unidad del sensor y baterías de la computadora (PDA) estén completamente cargadas (esto suele requerir más de 6 horas).

Verifique las conexiones entre la cabeza del sensor GreenSeeker, la unidad de la batería, el tubo telescópico y el PDA.

Verifique el ángulo de la cabeza del sensor en relación al suelo (este debe estar en posición horizontal), y vigile la distancia entre la cabeza del sensor y el dosel mediante el ajuste del ángulo de la cabeza del sensor y el poste telescópico.

Ajuste las correas en los hombros para dar una distribución bien equilibrada del peso del instrumento para un trabajo cómodo.

- Después de encender la unidad Green Seeker y el PDA, permita que los instrumentos se equilibren con la temperatura ambiente durante unos 10 minutos. Vaya a 'START' > 'PROGRAMS' y ejecute el programa 'NTECH CAPTURE'. Luego, vaya a 'SENSOR' > 'START GREENSEEKER'. Seleccione el modo 'LOGGING PLOTS', la pantalla mostrará tres celdas:

- SAMPLE No.: Muestra el número de parcelas medidas.
- NDVI: muestra el valor de NDVI de la última parcela.
- AVG NDVI: muestra el valor promedio de NDVI de todas las parcelas medidas previamente.

El sensor está listo ahora.

Mediciones del ensayo

- Coloque el sensor en el inicio de la parcela (véase consejos sobre la toma de mediciones). Presione el gatillo y manténgalo pulsado mientras se desplaza a través de la parcela, suelte el gatillo al final de la zona de muestreo. Un pitido continuo se produce cuando el gatillo se mantiene presionado.
- Camine hacia delante y atrás de las hileras de la parcela, independientemente del diseño experimental (vea la Figura 8.2). En el caso de un error durante la toma de muestras, tome nota del 'SAMPLE No.' y corríjalo durante el procesamiento de datos.

Mediciones finales y terminación

- Después de la medición de todo el ensayo, vaya a 'FILE' > 'SAVE' - asigne un nombre de archivo (por ejemplo, nombre del ensayo y la fecha).
- Los datos guardados pueden descargarse con el programa de computación suministrado con el instrumento. Los datos son comúnmente descargados como un archivo de texto 'delimitado por comas' e importado a MS Excel.

Datos y cálculos

En primer lugar, es necesario volver a ordenar los datos descargados en donde el número de muestra y la identificación de la parcela están en diferente orden. Para cada ensayo, se crean tres archivos de texto individuales: (i) un archivo general con el NDVI y los valores del índice de vegetación (VI) (Red/NIR) para cada punto de medida (aproximadamente 10 valores por segundo), (ii) un archivo del 'AVG NDVI' y datos del VI de cada parcela; y (iii) un archivo con información del diagnóstico (indicado con el sufijo 'DIAG').

Por lo general se utilizan los datos del archivo AVG. Los valores de NDVI del dosel de un cultivo fluctúan en un rango de 0 a 1 (donde 0 representa ninguna área verde, y 1 representa el verdor máximo) (Tabla 8.1).

Tabla 8.1. Muestra del promedio (AVG) del índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI) y los datos de índices de vegetación (VI).

Tiempo (ms)	Parcela	Conteo	NDVI	VI-2
173610	1	29	0.54283	0.30748
178610	2	25	0.45732	0.38388
184410	3	35	0.60763	0.25526

Solución de problemas

Problema	Solución
Error de varianza considerable en los datos	El medidor de NDVI no se mantiene centralmente sobre la parcela, y/o se tienen parcelas muy pequeñas con efecto de borde muy grandes.
Los valores de reflectancia son variables y/o con un alto error de varianza.	Cuando la carga de la batería es baja se produce una reducción en la intensidad de la fuente de luz afectando el valor de la reflectancia (es decir, el sensor activo se vuelve sensor pasivo).
Un valor no intencional fue grabado	Tome nota del número de parcela y del error, y elimine el valor extra tomado durante el proceso de los datos.
No hay asociación entre la biomasa y el marcador de NDVI	Se producen efectos de confusión debido a la diferencia de altura de las plantas dentro del ensayo. Esto puede corregirse agrupando líneas fenotípicamente similares dentro de la población.

Literatura recomendada

- Araus, J.L. (1996) Integrative physiological criteria associated with yield potential. In: Reynolds, M.P., Rajaram, S. y McNab, A. (Eds.). *Increasing yield potential in wheat: breaking the barriers*. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Gutierrez-Rodriguez, M., Reynolds, M.P., Escalante-Estrada, J.A. y Rodriguez-Gonzalez, M.T. (2004) Association between canopy reflectance indices and yield and physiological traits in bread wheat under drought and well-irrigated conditions. *Australian Journal of Agricultural Research* 55(11), 1139–1147.
- N Tech Industries (2011) Greenseeker. Disponible en: <http://www.ntechindustries.com/greenseeker-home.html> (acceso: 13 Agosto 2011).
- Oaklahoma State University (2011) Nitrogen use efficiency. Disponible en: <http://www.nue.okstate.edu/> (acceso: 13 Agosto 2011).
- Raun, W.R., Solie, J.B., Johnson, G.V., Stone, M.L., Lukina, E.V., Thomason, W.E. y Schepers, J.S. (2001) In-season prediction of potential grain yield in winter wheat using canopy reflectance. *Agronomy Journal* 93(1), 131–138.
- Verhulst, N. y Govaerts, B. (2010a) The normalized difference vegetation index (NDVI) GreenSeeker™ handheld sensor: Toward the integrated evaluation of crop management. Part A: Concepts and case studies. CIMMYT, Mexico, D.F.
- Verhulst, N. y Govaerts, B. (2010b) The normalized difference vegetation index (NDVI) GreenSeeker™ handheld sensor: Toward the integrated evaluation of crop management. Part B: Userguide. CIMMYT, Mexico, D.F.

Capítulo 9. Contenido de clorofila

Debra Mullan y Daniel Mullan

La clorofila es un pigmento verde fotosintético que absorbe la luz solar (principalmente en las porciones del azul y el rojo del espectro electromagnético) y transfiere esta energía al centro de reacción de los fotosistemas. El contenido de clorofila de las hojas (y otros tejidos verdes) se puede medir de manera rápida y no destructiva usando un medidor óptico portátil de mano que funciona a baterías (por ejemplo, el medidor de clorofila Minolta SPAD-502), el cual mide el contenido de clorofila a través de la transmitancia de la luz (absorbancia de la luz roja a 650 nm y de la luz infrarroja a 940 nm) y compensa los valores dependiendo del grosor de la hoja.

La medición del contenido de clorofila, como una aproximación del complejo fotosintético entero, indica su potencial fotosintético. La pérdida de clorofila, es decir, la “clorosis”, es un indicativo del estrés inducido por calor, sequía, salinidad, deficiencia nutricional, envejecimiento, etc., y refleja una pérdida del potencial fotosintético de la planta. Sin embargo, debe notarse que la medición del contenido de la clorofila es ‘puntual’, y a menudo es ventajoso integrar el contenido total de clorofila del dosel en base al área, ya sea mediante medidas integrativas dentro de un área determinada del dosel, o mediante el uso de instrumentos que miden la reflectancia del dosel completo (por ejemplo, sensores de NDVI; ver en este volumen, Capítulo 8).

Ubicación y condiciones ambientales

Las medidas pueden tomarse bajo cualquier condición ambiental. Es importante que la superficie de la hoja esté seca, sin gotas de rocío ni húmedas debido a sistemas de riego o lluvia.

Hora del día

Las mediciones pueden tomarse a cualquier hora del día.

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden tomarse en cualquier etapa fenológica y/o a intervalos regulares desde el inicio de la elongación del tallo hasta mediados de llenado de grano, dependiendo de los objetivos del experimento y el momento de máximo estrés de la planta:

- Para el momento de máximo contenido de clorofila: se deben tomar dos medidas entre el inicio del espigamiento y a mediados del llenado de grano. En los tratamientos bajo estrés, el contenido de clorofila llega a su máximo más temprano de lo normal en la temporada; la severidad del estrés y las condiciones experimentales determinarán el momento óptimo para

estas mediciones. Tomar las mediciones de manera más temprana bajo condiciones severas de estrés, ya que las plantas fenecerán rápidamente.

- Para la determinación de patrones de estado de verdor o senescencia: las medidas deben iniciarse a mediados del llenado de grano y continuar a intervalos regulares (aproximadamente cada 4-7 días) hasta la madurez fisiológica.

Número de muestras por parcela

Tomar tres promedios de cinco hojas por parcela (es decir, 3x5 hojas).

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la toma de mediciones utilizando el medidor portátil de clorofila Minolta SPAD-502 (Figura 9.1).

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Medidor de clorofila portátil de mano
- Tabla portapapeles con el formato de campo correspondiente.

Consejos para la toma de mediciones

Las mediciones se realizan normalmente en la hoja bandera (una vez que esté completamente expandida), aunque también se puede tomar mediciones en hojas inferiores del follaje para obtener diferentes perfiles de clorofila. Las hojas deben estar limpias, secas, intactas, verdes, sin signos de daño o enfermedad.

Es importante medir de manera consistente. Siempre coloque la hoja en el instrumento con la superficie adaxial (superior) hacia arriba. Evite colocar la nervadura, venas principales o partes gruesas de la hoja en la cámara de medida. Normalmente, mida entre la tercera parte y la mitad del largo de la hoja a partir de su inserción en el tallo (Figura 9.1B).

Las lecturas del instrumento no son valores de clorofila absolutos, sino que cada lectura es un ‘índice de concentración de clorofila’ (ICC; que va de 0 a 99.9). El medidor de clorofila puede almacenar hasta 30 lecturas en su memoria interna, aunque estas se pierden cuando el instrumento se apaga (existen modelos en los que se puede almacenar y descargar las mediciones realizadas).

Para estudios de verdor o senescencia, donde se deben hacer mediciones repetidas en hojas seleccionadas, se recomienda marcar cada tallo con una cinta de color alrededor del pedúnculo para facilitar su localización.

Preparaciones

Asegúrese de que la cámara del instrumento esté limpia y que el sellador de caucho que se encuentra alrededor de la cámara esté intacto y limpio (de otro modo, la luz del entorno puede filtrarse dentro de la cámara, causando lecturas incorrectas).

1. Después de encender el medidor de clorofila, deje que el instrumento se equilibre con la temperatura ambiente por alrededor de 10 minutos.

Mediciones iniciales

2. Se debe calibrar antes de tomar la primera medición (Figura 9.1C):
 - Mantener las 'pinzas' del instrumento cerradas con el interior de la cámara vacío.
 - Esperar hasta oír un 'bip' y ver en la pantalla 'N=0'.
 - Ahora, el instrumento está calibrado.

Durante las mediciones, verifique la precisión de las medidas regularmente, tomando varias lecturas de la misma hoja y comparando estos valores. Los discos de calibración vienen incluidos con el medidor de clorofila SPAD-502, y deben usarse regularmente.

Mediciones en el ensayo

3. Seleccionar aleatoriamente cinco hojas bandera (o las hojas más jóvenes completamente expandidas) de diferentes plantas dentro de una parcela, evitando los extremos (bordes) de la parcela y las plantas de las hileras exteriores.
4. Colocar la hoja en el sensor entre un tercio y la mitad de la distancia a partir de la base de la hoja (con la superficie adaxial hacia arriba, evitando las nervaduras y la vena principal o partes gruesas de la hoja). Utilizar las marcas del 'sensor de localización' de las pinzas y alinear la muestra para asegurarse de que esté posicionada correctamente (ver Figura 9.1A).



Figura 9.1. Uso del medidor de clorofila Minolta SPAD-502: (A) principales partes del instrumento; (B) medición en una hoja bandera en un punto medio, evitando que el sensor se ubique en la vena principal o nervadura, mostrando la lectura del índice de concentración de clorofila (ICC); y, (C) el 'modo promedio' y 'modo de calibración'.

5. Sostener las pinzas cerradas hasta que el instrumento emita un bip y luego soltarlas.
6. Las lecturas del ICC se muestran en la pantalla (Figura 9.1C).
7. Una vez de que 5 medidas han sido realizadas, se mostrará 'N=5' en la pantalla. En este momento se pueden revisar las lecturas, aquellas con valores extremos se pueden eliminar y volver a tomar cuando sea necesario.
8. Seleccionar 'AVERAGE', y grabar la lectura promedio (Figura 9.1C).
9. Ahora, borrar todas las lecturas (de otro modo se incluirán en el promedio de la siguiente medición).
10. Repetir, para obtener tres promedios por parcela.

Datos y cálculos

Los datos se anotan directamente en el formato de toma de datos de campo (al menos de que el modelo utilizado tenga la capacidad de almacenar los datos). Los valores obtenidos se emplean para calcular la media del ICC para cada parcela (ya sea para el contenido máximo de clorofila, o de intervalos de muestreo secuenciales). Los valores de ICC varían entre 40 – 60 para la hoja bandera de una planta sana en antesis.

Solución de problemas

Problema	Solución
El medidor de clorofila SPAD no da una lectura de ICC, pero se escucha una serie de 'bips' cuando se cierran las pinzas.	El medidor de clorofila no puede tomar la lectura – posiblemente la cámara y/o el sello de la cámara están sucios o la hoja no ha sido insertada correctamente dentro de la cámara. Volver a tomar la medición.
Hay mucha variación en las mediciones de CCI dentro de una misma parcela.	Es importante mantener un punto de medida consistente a lo largo de la hoja. Las lecturas con valores bajos pueden deberse a que la hoja que está siendo medida está dañada, enferma o sucia, o que se colocó la punta de la hoja. Las mediciones con SPAD sólo miden 'puntos' específicos de las hojas, así que es difícil inferir los valores de todo el follaje. Para realizar mediciones completas se utiliza el 'Field Scout CM1000'.
La superficie de las hojas del cultivo está dañada (ej., daño por heladas, enfermedades, etc.)	No tomar mediciones de CCI de material vegetal muerto, pues los datos no serán útiles. Evitar las áreas dañadas de las plantas.

Literatura recomendada

- Adamsen, FJ., Pinter, PJ., Barnes, EM., LaMorte, RL., Wall, GW., Leavi, SW. y Kimball, BA. (1999) Measuring wheat senescence with a digital camera. *Crop Science* 39(3), 719–724.
- Babar, MA., Reynolds, MP., van Ginkel, M., Kla, AR., Raun, WR. y Stone ML. (2006) Spectral reflectance to estimate genetic variation for in-season biomass, leaf chlorophyll, and canopy temperature in wheat. *Crop Science* 46, 1046–1057.
- Dwyer, LM., Tollenaar, M. y Houwing, L. (1991) A nondestructive method to monitor leaf greenness in corn. *Canadian Journal of Plant Science* 71, 505–509.
- Yadava, UL. (1986) A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 21, 1449–1450.

TRIGO

Fotosíntesis e intercepción de luz



Capítulo 10. Cobertura vegetal del suelo

Daniel Mullan y Mayra Barceló García

La cobertura vegetal del suelo, o el porcentaje de superficie del suelo cubierta por el follaje de la planta, es una medición importante del establecimiento del cultivo y el vigor temprano (caracterizados por un rápido desarrollo del área foliar y/o de la biomasa sobre la superficie del suelo). Los genotipos con mayor cobertura temprana son capaces de interceptar mejor la radiación incidente, aumentando así el sombreado del suelo y disminuyendo la evaporación, lo cual incrementa la eficiencia del uso del agua, que podría aportar un aumento de la competitividad con las malezas y potencialmente reducir la erosión del suelo. En particular, la característica de cubrir el suelo rápidamente tiene un potencial benéfico en ambientes de tipo Mediterráneo (donde el agua está disponible al inicio de la temporada, pero disminuye rápidamente al acercarse la fase de llenado de grano) o cuando se hacen siembras tardías, y así poder incrementar la biomasa y subsecuentemente, el rendimiento de grano.

La caracterización fenotípica precisa de la cobertura del suelo y el vigor temprano (o precoz) normalmente se ha conseguido mediante métodos de muestreo destructivos, los cuales por lo general emplean demasiado tiempo como para realizarse dentro de los programas de fitomejoramiento. Los enfoques para la evaluación de un alto número de genotipos mediante la medición de la cobertura del suelo son: evaluación visual, análisis digital de fotografías, o mediante el índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI, acrónimo del inglés *Normalized Difference Reflectance Index*, el cual puede verse en este volumen, Capítulo 8). La evaluación visual permite un enfoque rápido y de baja tecnología, pero es subjetivo, por lo cual podría carecer de la resolución adecuada para distinguir entre los genotipos, mientras que el análisis digital de fotografías permite una medición más cuantitativa y objetiva.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones pueden realizarse bajo la mayoría de las condiciones ambientales. Para efectos de procesamiento de fotografías, lo mejor es tomarlas cuando la luz es difusa (es decir, cuando hay una cobertura continua de nubes) y no existe sombra mínima, y cuando las superficies de las plantas están secas y no mojadas por el rocío, el riego o la lluvia.

Hora del día

Las mediciones pueden tomarse a cualquier hora del día.

Etapas de desarrollo de la planta

Realice las mediciones a intervalos regulares desde la emergencia hasta la cobertura total: aproximadamente a

los 10, 20 y 30 días después de la emergencia en función del entorno en el que se siembra el ensayo), o tome medidas cuando la cobertura del suelo promedio es de aproximadamente el 20%, 50% y 80%.

Número de muestras por parcela

Tome una evaluación/fotografía en parcelas pequeñas (por ejemplo, con una cama elevada, $\leq 2,0$ m de largo), o si hay una mala germinación tome dos evaluaciones/fotografías por cama a través de todo el ensayo. Tome dos evaluaciones/fotografías en parcelas grandes (por ejemplo, las parcelas con dos camas elevadas $\leq 3,5$ m de largo), o si hay una mala germinación, tome tres evaluaciones/fotografías por cama en todo el ensayo. En cada caso, asegúrese de que la cobertura del suelo a lo largo de la parcela está representada con exactitud.

Procedimiento

Tome consigo el siguiente equipo a campo:

- Cámara digital
- Baterías de repuesto
- Formato de campo y tabla portapapeles (para la evaluación visual)

Consejos para la toma de mediciones

Planifique las mediciones con cuidado: deje de tomar las mediciones cuando la primera parcela alcanza el máximo de cobertura del suelo - aún si no se han tomado tres repeticiones - ya que los cultivos se comparan respecto a cada uno de los otros. Las medidas tomadas después de este momento conducirán a una mala interpretación de los resultados.

En la planificación de las mediciones, tenga en cuenta que cada evaluación visual puede tardar hasta 10 segundos, y las fotografías digitales se pueden tomar a una tasa de 1 cada 5 segundos (lo que significa que un ensayo de 500 parcelas puede ser evaluado en cerca de 90 o 45 minutos, respectivamente).

A. Evaluación visual

Mediciones del ensayo

Con la experiencia, es posible estimar la cobertura del cultivo de una parcela mediante la observación.

Como las observaciones son subjetivas, es importante que las calificaciones sean consistentes:

- Asegúrese de que las calificaciones de los nuevos observadores estén calibradas con las de un observador experimentado (que esté familiarizado con la evaluación de la cobertura del suelo), de modo que los valores estén estandarizados.
- Si varias personas dentro del grupo van a realizar las observaciones, se recomienda que todos los observadores se reúnan para calibrar sus lecturas antes de empezar, y que lo sigan haciendo posteriormente con regularidad.
- Asegúrese de que sólo una persona tome las observaciones entre réplicas.

Puntuación:

- Párese a un lado de la parcela de manera que el observador pueda mirar hacia abajo directamente sobre el cultivo.
- Observe el cultivo. A veces es útil observar a través de un círculo formado por el pulgar y el dedo índice a 10 cm del ojo.
- Califique la cobertura del cultivo utilizando una escala desde 0 (0%) hasta 10 (100%) – mediante la estimación del porcentaje de cobertura en incrementos de 10% (ver Figura 10.1).

B. Evaluación digital

Preparaciones

- Antes de tomar las fotografías, registre todos los detalles del ensayo e incluya el nombre de la persona que tomará las fotografías (por ejemplo, incluir esta información en una fotografía que esté agrupada con las fotografías de la muestra).
 - Asegúrese de que las baterías de la cámara estén cargadas, y lleve baterías de repuesto.
 - Verifique que la cámara esté configurada para tomar fotografías con una resolución de 640 x 480. Una resolución mayor aumentará el tamaño del archivo y hará lento el procesamiento en la computadora.
 - No utilice el zoom de la cámara – manténgala en la posición sin ‘aumentos’ (zoom).
 - No incluir pies ni sombras del fotógrafo en las fotografías.

Al tomar muestras de un ensayo grande, separe cada fila tomando una fotografía del cielo al final de cada fila - lo que facilitará la orientación y minimizará los errores si las parcelas son accidentalmente saltadas o repetidas. Una vez que todo el ensayo haya sido fotografiado, tome tres fotografías del cielo para indicar el final.

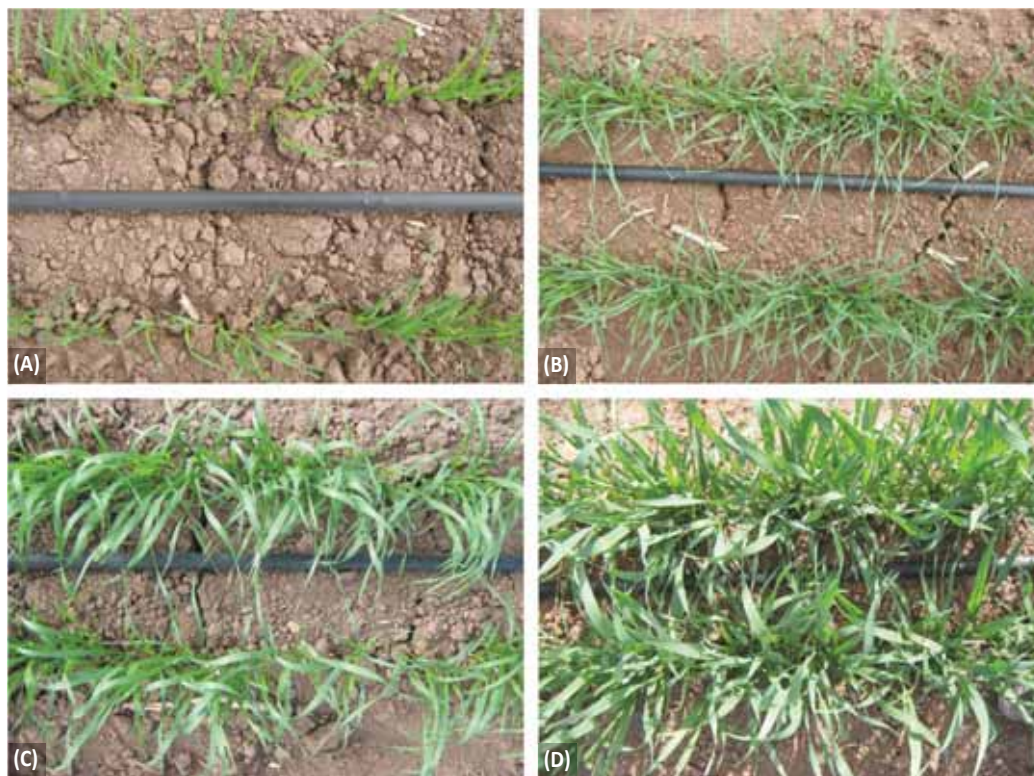


Figura 10.1. Calificaciones y porcentajes de cobertura visual del suelo: (A) 1 (10% cubierto); (B) 3 (30% cubierto); (c) 5 (50% cubierto); y, (D) 9 (90% cubierto).

Mediciones del ensayo

2. Párese en el lado de la parcela y tome fotos mirando hacia abajo sobre la parcela. Mantenga una altura constante por encima del suelo (por lo general de 1 m), que capture la cantidad máxima de la parcela, sin incluir las parcelas vecinas en la fotografía. Tome fotografías en una dirección vertical a lo largo de la parcela y asegúrese de que la cámara se mantiene centrada por encima de la cama del cultivo (Figura 10.2).
- Descargue las fotografías en una computadora para su procesamiento digital.

Procesamiento de las fotografías digitales de cobertura de suelo con 'Adobe Photoshop'

Las fotografías pueden ser analizadas ahora para obtener un valor de la 'cobertura digital de suelo' (conocida como DGC de su acrónimo del inglés *digital ground cover*).

Programa de computación

Utilice el programa de computación 'Adobe Photoshop CS3 Extended' (Photoshop) o una versión posterior, ya que ésta incluye la funcionalidad necesaria para llevar a cabo el DGC automatizado. Una versión gratuita de prueba está disponible en 'www.adobe.com', lo que permitirá el procesamiento fotográfico de la DGC antes de adquirirlo - consulte el sitio web de Adobe y las instrucciones del programa para los requisitos mínimos. La velocidad de procesamiento de la fotografía digital dependerá de estas especificaciones – generalmente el tiempo de procesamiento es de una fotografía por segundo.

Configuración de la interfaz

Photoshop es multi-funcional, y por lo tanto las funciones del programa deben personalizarse para la DGC. La siguiente descripción permitirá que se establezca una interfaz común del programa:

1. Abra el programa Photoshop.
2. En la barra del menú seleccione 'WINDOW' > 'WORKSPACE' > 'AUTOMATION'.
3. Seleccione 'YES' para modificar el menú y/o establecer métodos abreviados del teclado y aplicar el espacio de trabajo.

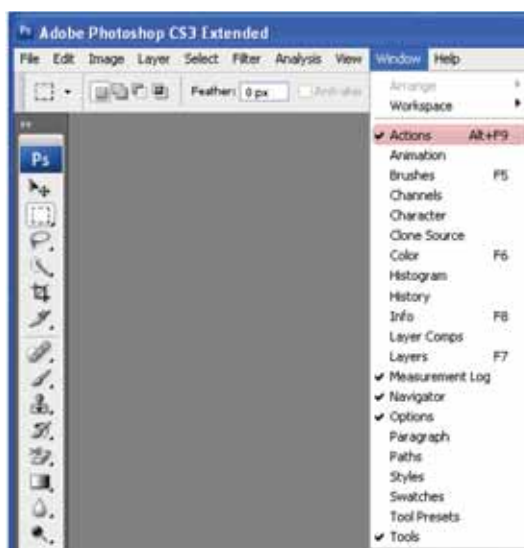


Figura 10.3. Opciones recomendadas para el espacio de trabajo.



Figura 10.2. Fotografiando parcelas para la estimación digital de la cobertura del suelo. Mantenga la cámara: (A) a una altura consistente; y, (B) en orientación central constante sobre la parcela.

4. Seleccione 'WINDOW' > 'LAYERS' para remover la paleta de capas ('layers'), ya que no son requeridas.
5. Seleccione 'WINDOW' > 'MEASUREMENT LOG' para activar la paleta de registro de medidas.
6. La ventana del menú ahora debe aparecer como se muestra en la Figura 10.3 (tome nota de las funciones indicadas con una marca).
7. Para habilitar un entorno de trabajo libre, haga doble clic en la parte superior de la caja "Measurement Log" ('registro de medidas') "para minimizarla, y muévela al fondo de la pantalla. La pantalla debería ahora ser similar a la de la Figura 10.4.

3. Haga click en 'RECORD'; el ícono en la paleta de Acciones se volverá rojo.

Ajuste del color de la imagen para mejorar la resolución de área verde:

4. En la barra de menú seleccione 'IMAGE' > 'ADJUSTMENTS' > 'HUE/SATURATION/LIGHTNESS'.
5. Ajuste los valores a: Hue = 0; Saturation = +60; Lightness = -20; y haga clic en 'OK' (Figura 10.5).

Selección del área de hojas verdes:

6. En la paleta 'Navigator' (Figura 10.4), amplíe la imagen de la muestra a 300%.

Crear, registrar y comprobar una 'Acción'

Las siguientes instrucciones detallan una serie de acciones para la manipulación de la imagen que pueden registrarse por Photoshop, y luego repetirse automáticamente para el análisis de todas las fotografías DGC:

1. Abra un archivo – ya sea arrastrando una fotografía desde un archivo hacia el área de trabajo de Photoshop, o seleccionando 'FILE' > 'OPEN'.
2. Cree una 'Nueva Acción' – haga clic en el botón 'CREATE NEW ACTION' en la parte inferior de la paleta 'Actions' (ver Figura 10.4). Introduzca el nombre de la Acción 'Digital Ground Cover' y deje todas las demás opciones por defecto.

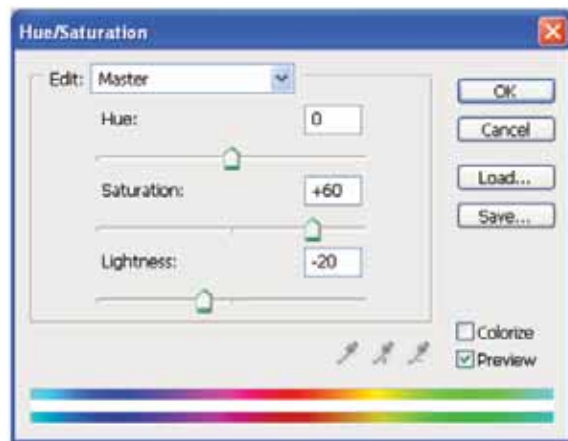


Figura 10.5. Configuración del tono/saturación

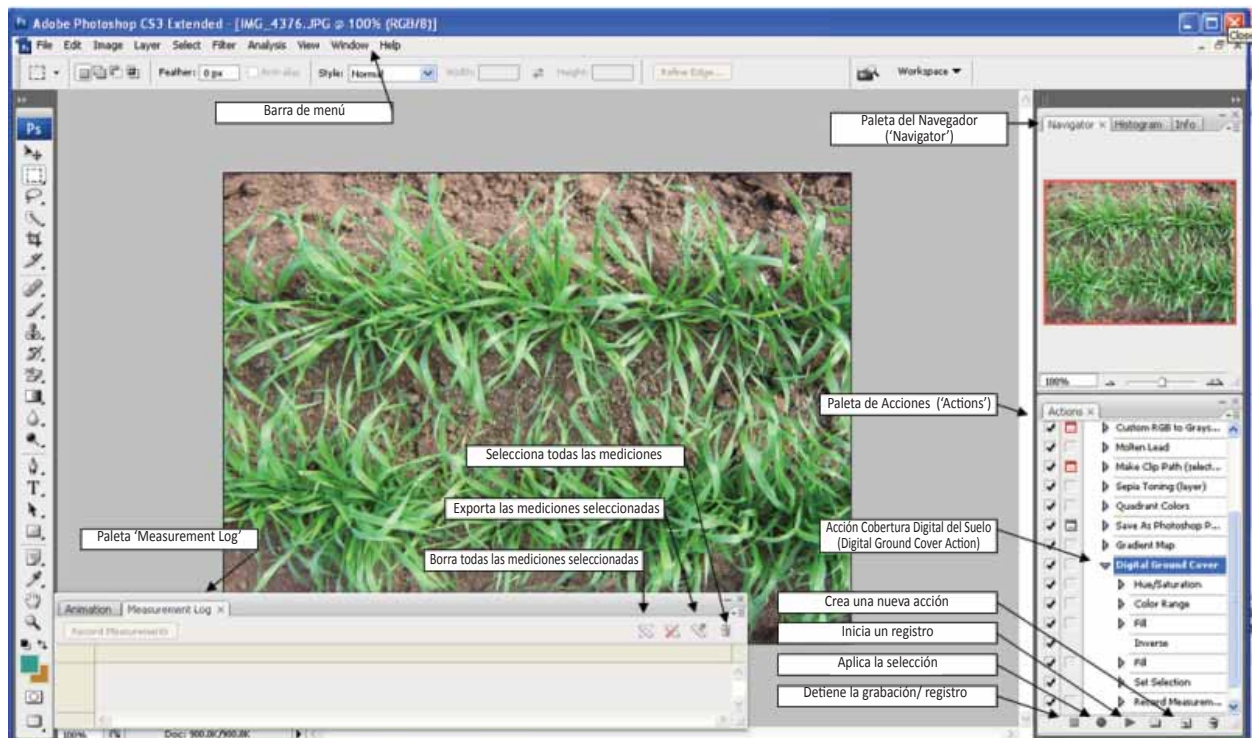



Figura 10.4. Configuración del espacio de trabajo indicando las características importantes.

- En la barra de menú seleccione 'Select' > 'COLOR RANGE': ajuste los valores a: 'FUZZINESS' = 0; y seleccione 'SELECTION' para dar una vista previa de selección.
- Haga clic en la herramienta 'Plus Eye-dropper'  y utilícela para seleccionar los píxeles verdes en la imagen de muestra. Seleccione tantos píxeles verdes (de las hojas) como sea posible para obtener un rango completo del color (Figura 10.6)..

Este proceso es el componente más crucial de la acción DGC. Es fundamental que los píxeles verdes en la imagen sean seleccionados de manera exacta antes de su procesamiento automático. Tenga en cuenta que este proceso puede tomar varios intentos: si la selección de muestra no es satisfactoria, seleccione la herramienta 'Regular Eye-dropper' y haga clic en la imagen de muestra una vez para reiniciar el proceso de selección de rango de color. Empiece nuevamente a seleccionar píxeles.

Transformación de la imagen a blanco y negro:

- Observe el botón 'Selection Image' en la ventana de 'Color Range', ya que el rango de color se acumula, este empezará a representar una imagen en blanco y negro de la imagen original de la muestra.
- Detenga la selección de píxeles de color verde cuando la imagen represente la cobertura del suelo real en la imagen de muestra (Figura 10.6).

- Compruebe los píxeles verdes ahora indicados en la imagen de la muestra, esta indica los píxeles que están dentro del rango de selección de color.
- En la paleta 'Navigator', redimensione la imagen al 100% y asegúrese de que el área foliar verde ha sido seleccionada correctamente.

Medición de la relación blanco:negro en la imagen:

- En la barra de menú seleccione 'EDIT' > 'FILL'; luego en el menú 'CONTENTS' seleccione 'USE: WHITE', asegúrese de tener los siguientes ajustes: 'Mode: Normal' y 'Opacity: 100%'; y haga clic en 'OK'.
- En la barra de menú seleccione 'SELECT' > 'INVERSE'.
- En la barra de menú seleccione 'EDIT' > 'FILL'; luego en el menú 'CONTENTS' seleccione 'USE: BLACK'; y haga clic en 'OK'.
- Ahora, se mostrará una imagen en blanco y negro, asegúrese de que es representativa de la imagen en color.
- En la barra de menú seleccione 'ANALYSIS' > 'SELECT DATA POINTS' > 'CUSTOM'.
- Seleccione ONLY 'DOCUMENTS' y 'GREY VALUE (MEAN)' de la lista de 'Data Points', retire todas las otras opciones, y haga clic en 'OK'.
- En la barra de menú seleccione 'SELECT' > 'ALL'.
- En la barra de menú seleccione 'ANALYSIS' > 'RECORD MEASUREMENTS'.



Figura 10.6. Ejemplo de la selección del rango de color.

Finalización de la creación de una acción:

21. Detenga la grabación de la acción haciendo clic en el botón 'STOP PLAYING/RECORDING' en la parte inferior de la paleta 'Actions' (Figura 10.4).
22. La lista de acciones que se han realizado para grabar DGC, ahora podrá ser vista desde el menú desplegable de la paleta 'Actions' (Figura 10.7).

Prueba y ajuste de las medidas DGC:

Antes del procesamiento automatizado de las fotografías de muestra, es importante primero probar la exactitud de la acción DGC en varias fotografías representativas y hacer ajustes. En particular, el ajuste de tono/saturación de color ('Hue/Saturation') y el proceso de selección de las variables de la gama de colores (Color Range) podrían necesitar un calibración para diferentes ambientes (esta calibración se vuelve más rápida y fácil con la experiencia).

23. Visualice los componentes de la acción DGC en la paleta 'Actions' – esta se divide en 7 pasos (Figura 10.7). Los pasos de 'Hue/Saturation' y 'Color Range' son los de interés primario.
24. Abra una nueva imagen de muestra.
25. En la paleta 'Actions', seleccione 'HUE/SATURATION' – esto iniciará sólo este componente de la acción DGC. La ventana de tono/saturación ('Hue/Saturation') aparecerá.
26. Ahora, ajuste ligeramente los niveles de Hue, Saturation y Lightness (Tono, Saturación y Luminosidad, respectivamente) (Figura 10.5; para reducir el efecto de las sombras, y aumentar el verdor de las hojas); haga clic en 'OK'.
27. En la paleta 'Navigator', amplíe la imagen hasta 300%.
28. En la paleta 'Actions', seleccione 'COLOR RANGE'. La ventana de gama de colores aparecerá.



Figura 10.7. Componentes de la paleta 'Actions'.

29. En la ventana 'Color Range' podría ser necesario volver a seleccionar los píxeles de color como se describió anteriormente (paso 8); haga clic en 'OK'.

Usualmente, sólo se necesitan pequeños cambios en 'Saturation' (saturación) cuando se configura el programa por primera vez. Cuando haga ajustes, trate de maximizar las diferencias entre el suelo y el tejido vegetal. En particular, trate de reducir el nivel de brillo de las hojas, ya que el mismo color "blanco" se presenta también en las superficies brillantes del suelo. Para evaluar la exactitud de la discriminación entre el suelo y el tejido vegetal, vea la cantidad de 'spot' (puntos) seleccionados en el suelo - a menudo es imposible eliminar completamente la selección de suelo (dependiendo del tipo de suelo), pero sólo debe tolerarse una cantidad razonablemente pequeña (vea la Figura 10.8).

La acción DGC ha sido ahora modificada, con todas las modificaciones automáticamente registradas para el siguiente análisis.

30. Ahora, abra varias imágenes adicionales a lo largo de todo el ensayo (por ejemplo, fotografías de las parcelas 1, 50, 100, 150, etc.) para probar la consistencia de los parámetros registrados durante el tiempo de muestreo.

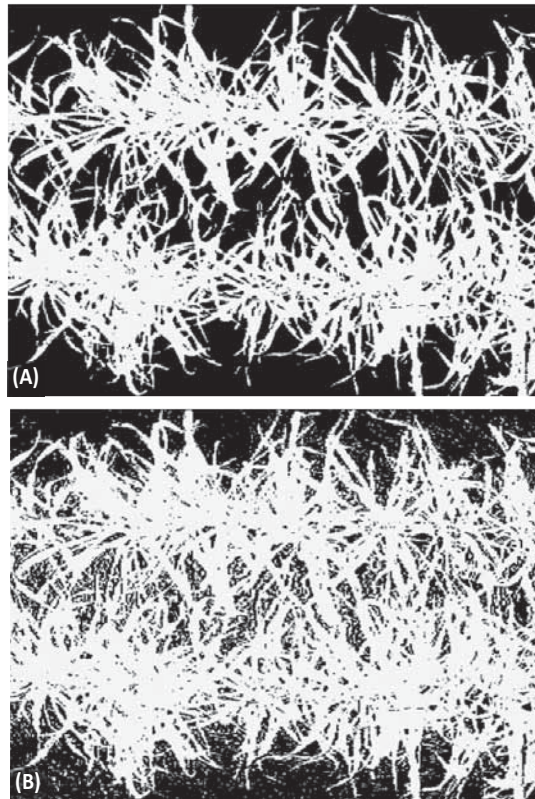




Figura 10.8. Verificación de la selección de la gama de color: (A) selección exacta del color; y, (B) selección inexacta de color.

Puesta en marcha de la acción DGC

Para poner en marcha la acción DGC por completo en las imágenes de muestra, haga clic en el botón 'PLAY SELECTION' ► en la parte inferior de la paleta 'Actions'. Este reproducirá todos los componentes de la acción DGC y presentará una imagen en blanco y negro de la fotografía de la muestra.

Procesamiento automático de imágenes por lotes


Una vez que la acción DGC se establece, todas las fotografías de muestra para un lote (es decir, lugar y/o ensayo) pueden ser procesadas automáticamente. El procesamiento de imágenes puede ser interrumpido presionando 'ESC' en cualquier momento.

31. Cree una carpeta vacía en el directorio de Adobe Photoshop: C:\Program Files\Adobe_Photoshop_CS3. El programa utiliza esta carpeta para almacenar las imágenes temporalmente durante el procesamiento, y luego son eliminadas por el programa.
32. Asegúrese de que todos los datos se extraen de 'Measurement Log' (Figura 10.4): para hacer esto haga clic en el botón 'SELECT ALL MEASUREMENTS'  en la parte superior de la paleta 'Measurements Log', luego seleccione 'DELETE SELECTED MEASUREMENTS' .
33. Cierre cualquier imagen abierta.
34. En la barra de menú seleccione 'FILE' > 'AUTOMATE' > 'BATCH'.
35. En la ventana 'Batch' ingrese las opciones mostradas en Box 10.1; haga clic en 'OK'.

El programa empezará ahora a procesar todas las imágenes de la carpeta seleccionada y mostrará los datos en la ventana 'Measurements Log'.

Procesamiento de datos

Los datos grabados en 'Measurements Log' necesitan ahora ser importados a la hoja de cálculo de MS Excel, de modo que puedan ser utilizados para calcular el porcentaje actual de cobertura de suelo.

1. Abra la ventana de 'Measurements Log'
2. Haga clic en el botón 'SELECT ALL MEASUREMENTS'.
3. Haga clic en el botón 'EXPORT SELECTED MEASUREMENTS' .
4. Use 'SAVE WINDOW' para guardar los datos como archivo TXT (texto) delimitado por tabulaciones.
5. Abra una hoja de cálculo MS Excel
6. Importe el documento TXT utilizando la opción 'Text delimited'.

El porcentaje de cobertura del suelo se calcula como una proporción del 'Mean Grey Value' (valor medio gris) comparado con el 'Mean Grey Value' si la imagen fuese completamente blanca (255), dado a que el 'Mean Grey Value' de una imagen completamente blanca es 255 (100% de cobertura), y el valor gris para una imagen completamente negra es 0 (0%).

7. La hoja de cálculo debe constar de dos columnas de datos: la Columna 1 es el nombre de la imagen, y la Columna 2 contiene el valor medio gris (Mean Grey Value) de la imagen.

CAJA 10.1

Ajustes para el procesamiento automático

Play (Reproducir)	Set (Establecer) Action (Acción)	Acciones por defecto Cobertura digital del suelo
Source (Fuente)	Folder (Carpeta) Choose (Escoger) Select (Seleccionar)	Seleccione esta opción en el menú desplegable Ingrese la ubicación de la carpeta que contiene las imágenes digitales de cobertura del suelo aquí Seleccione sólo la opción 'Suppree File Open' (Suprimir archivos abiertos) 'Dialogs' y 'Suppress Color Profile Warnings' (Suprimir advertencias del perfil de color)
Destination (Destino)	Folder (Carpeta) Choose (Escoger) Select (Seleccionar) File naming (Dar nombre al archivo) Starting serial (Serie de inicio) Errors (Errores)	Seleccione esta opción en el menú desplegable Ingrese la ubicación de la carpeta vacía (es decir, C:\Program Files\Adobe\Adobe_Photoshop_CS3) Seleccione la palanca 'Override Action' "Save As" Commands'. Deje esta opción por defecto (nombre del documento + extensión) #1 Seleccione 'Stop For Errors' en el menú desplegable

8. En una tercera columna, se calcula el porcentaje de cobertura del suelo (% GC) para la fotografía usando la ecuación:

$$\%GC = (\text{Mean Grey Value} / 255) \times 100 \quad \text{Ecuación 10.1}$$

Ejemplo práctico

La Figura 10.9, a continuación, muestra una fotografía tomada en el campo de la cobertura del suelo y la imagen correspondiente procesada.

Mean grey value = 24.9
(Valor promedio de gris)

% de cobertura del suelo = $(24.9 / 255) \times 100$
= 9.76%

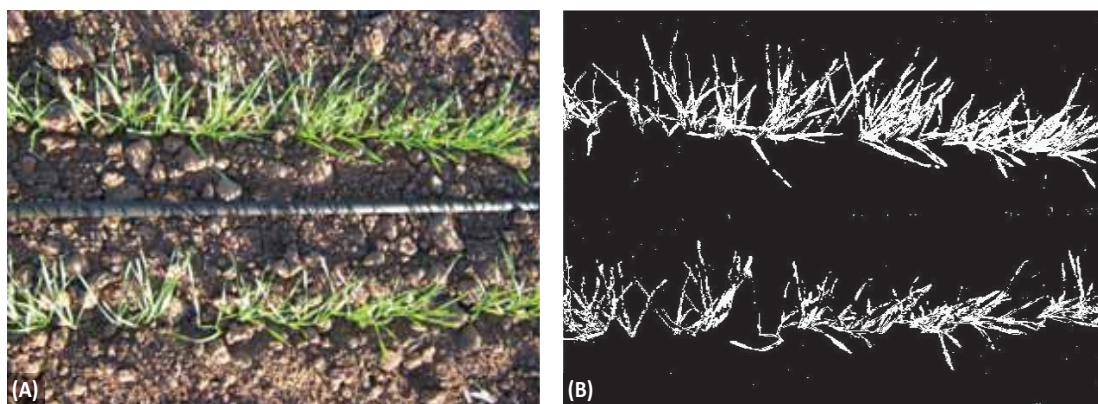


Figura 10.9. Ejemplo práctico de: (A) fotografía digital de una parcela (.jpg); y, (B) imagen procesada por DGC.

Solución de problemas

Problema	Solución
Hay variabilidad en la escala de las imágenes.	Use un soporte calibrado de altura fija conocida para estandarizar la escala de la fotografía.
Las fotografías están sobre-expuestas (demasiada luz).	Tome fotos en horas tempranas -durante la mañana o en las últimas horas de la tarde - , cuando la radiación solar es menor. Ajuste las configuraciones de la cámara para tener en cuenta la luz disponible.
Algunas hojas dentro de la fotografía están sombreadas y son difíciles de seleccionar para los píxeles verdes.	Se debe tener cuidado para evitar las sombras.

Literatura recomendada

Mullan, DJ. y Reynolds, MP. (2010) Quantifying genetic effects of ground cover on soil water evaporation using digital imaging. *Functional Plant Biology* 37, 703–712.

Capítulo 11. Interceptación de luz

Daniel Mullan y Julián Pietragalla

La luz (la radiación solar) proporciona la energía para realizar la fotosíntesis. Del espectro luminoso, el rango de longitudes de onda que puede ser utilizado por las plantas para la fotosíntesis está entre los 400 nm (azul) y 700 nm (rojo), el cual se denomina 'radiación fotosintéticamente activa' (PAR, acrónimo del inglés *photosynthetic active radiation*). La cantidad de luz dentro del dosel del cultivo puede medirse con un ceptómetro (una sonda larga y delgada que contiene hasta 80 sensores de PAR a lo largo de su longitud), mediante la cual puede estimarse la cantidad de PAR interceptada por el cultivo. Cuando la luz incide sobre el dosel, ésta es absorbida o reflejada, y la luz restante se transmite a las hojas ubicadas en niveles más bajos. Por lo tanto, en un momento particular, la fracción de la radiación de luz incidente interceptada (F) depende del índice de área verde (IAV, o GAI, acrónimo del inglés *green area index*; es decir, el área de superficie verde del cultivo por unidad de superficie del suelo) y cómo las hojas están colocadas geoméricamente en el dosel (K; coeficiente del dosel). Para los cultivos de cereales, hay un incremento de radiación interceptada que va disminuyendo proporcionalmente a medida que se incrementa el área verde: para cultivos de trigo con un IAV de 5 (típico para el cultivo de trigo en espigamiento), generalmente más del 95% de la PAR incidente será interceptada.

El atributo más importante que afecta a la geometría de los doseles es el ángulo de la hoja, también se ve afectado por las propiedades de superficie de las hojas tales como el espesor, tamaño, forma, y la estratificación vertical de la superficie foliar. Existen diferencias sustanciales en la extensión de la penetración de la luz en el dosel de acuerdo al ángulo de la hoja: doseles con hojas más erectas interceptarán menos PAR por IAV, como resultado habrá menos saturación en las hojas superiores y más PAR disponible para las hojas inferiores. Durante la estación de cultivo, la cantidad total de luz interceptada por el dosel del cultivo es una función de su tamaño, longevidad, propiedades ópticas y estructura. Como conductor fisiológico del rendimiento, los valores de la cantidad de PAR interceptada pueden utilizarse para calcular la eficiencia del uso de la radiación (RUE - acrónimo del inglés *radiation use efficiency* -), es decir, la eficiencia de la conversión de la radiación de la luz interceptada en materia seca aérea [sobre la superficie del suelo]; y la interceptación de luz (IL) puede influir en la eficiencia del uso del agua (WUE, acrónimo del inglés *water use efficiency*), y pueden indicar diferencias en la arquitectura del dosel y en el crecimiento entre genotipos. Las lecturas del ceptómetro pueden utilizarse también para estimar el IAV y el índice de área foliar (LAI, acrónimo del inglés *leaf area index*) mediante el uso de las lecturas de la

PAR por encima y por debajo del dosel en combinación con otras variables, tales como el ángulo cenit y los parámetros de la distribución de las hojas.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones deben realizarse cuando el cielo está despejado y soleado, y hay viento insignificante. Las condiciones de luz deben permanecer constantes durante el período de muestreo del ensayo, las medidas pueden tomarse cuando el cielo está cubierto por nubes (es decir, si hay cobertura de nubes continua), aunque esto no es recomendable debido a un aumento desproporcionado en la cantidad de radiación difusa.

Es importante que las superficies de las plantas estén secas y no mojadas por el rocío, riego o lluvia.

Hora del día

Tome la mayoría de las mediciones lo más cerca posible del mediodía, normalmente de 11:00 h a 14:00 h.

Etapas de desarrollo de la planta

Las medidas pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo y/o a intervalos regulares a partir de mediados de desarrollo de las plántulas hasta mediados de la antesis:

- Para la interceptación de luz del dosel durante el crecimiento: tome medidas periódicamente desde el inicio de la elongación del tallo hasta la cobertura completa/antesis para estimar los cambios en la interceptación de la luz con el tiempo (por ejemplo, para el cálculo de la RUE).
- Para la interceptación de luz máxima del dosel: realizar mediciones en la antesis +7 días. Para los tratamientos de estrés, la IL llega a su máximo más prontamente en la estación del cultivo; la severidad del estrés y las condiciones experimentales determinarán el momento óptimo para estas mediciones. Tome las medidas con anterioridad en condiciones muy estresantes porque las plantas fenecerán rápidamente.

Número de muestras por parcela

Tome tres lecturas en cada nivel de muestreo dentro del dosel del cultivo.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la toma de mediciones con el ceptómetro AccuPAR Decagon LP-80, el cual permite la medición simultánea de la PAR por encima (con un sensor externo) y por debajo (con una sonda) del dosel.

Lleve consigo el siguiente equipo al campo:

- El ceptómetro y el sensor externo para medir sobre el dosel.
- El solarímetro de estación meteorológica (medición de PAR continuo para el cálculo de la RUE)

Consejos para la toma de mediciones

Antes de tomar cualquier medición, asegúrese de que las opciones de hora, fecha y lugar se han establecido correctamente ya que esto determinará el ángulo cenital y por lo tanto el LAI. Una vez que se han establecido estos parámetros para la ubicación donde usted se encuentra, estos permanecerán guardados y sólo tendrán que reajustarse si el muestreo se realiza en un lugar diferente.

Al colocar la sonda por debajo del dosel tenga cuidado de que no se ensucie. Si esto ocurre, es importante limpiar cuidadosamente la sonda con una solución apropiada (por ejemplo, la recomendada por el fabricante) antes de tomar más mediciones.

Las lecturas pueden tomarse a niveles definidos dentro del dosel del cultivo (por ejemplo, por debajo de la espiga, por debajo de la hoja bandera, a nivel del suelo, etc.). Sostenga la sonda dentro del dosel - asegúrese de que esté nivelada y de que se mantenga en una orientación representativa (por ejemplo, en una parcela de dos hileras de plantas, mantenga la sonda en diagonal a través de ambas, véase las Figuras 11.1 y 11.2). Mantener/conectar con el sensor que va por encima del dosel - asegúrese que esté nivelado también (use el nivel de burbuja) y que no esté sombreado.

Para los instrumentos que NO sean capaces de medir simultáneamente por encima y por debajo del dosel, tome tres mediciones de PAR por encima del dosel con la sonda (manteniéndola por encima del dosel en el mismo lugar y orientación que las mediciones por debajo del dosel) (Figura 11.3, posición A).

Para la reflectancia del dosel, tome tres medidas con la sonda (sujetándola invertidamente por encima del dosel en el mismo lugar y orientación que las mediciones por debajo del dosel) (Figura 11.3, posición B), a continuación, proceda a tomar las mediciones por debajo del dosel (Figura 11.3, posición C). Nótese que la reflectancia es muy pequeña o despreciable cuando el dosel tiene un LAI muy alto o cuando la reflectancia del suelo es similar a la del dosel.

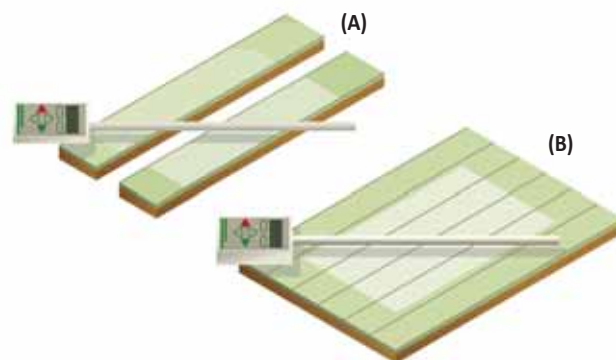


Figura 11.2 Colocación del ceptómetro de manera correcta dentro del cultivo para tomar mediciones representativas: (A) en un sistema de dos camas levantadas, cada uno con dos hileras de plantas; y, (B) en un sistema de siembra en melgas con siete hileras de plantas.



Figura 11.1 Toma de mediciones de interceptación de luz con un ceptómetro de mano: (A) mediciones debajo de la espiga; (B) ceptómetro Decagon AccuPAR LP-80; y, (C) mediciones en la etapa GS31, se muestra también el sensor externo siendo sostenido para mediciones simultáneas en el dosel.

Preparaciones

Limpie cuidadosamente la sonda de luz antes y después de realizar las mediciones usando la solución limpiadora recomendada.

1. Después de encender el ceptómetro, permita que el instrumento se equilibre con la temperatura ambiente durante unos 10 minutos.
2. Utilice el botón 'MENU' para seleccionar la opción 'PAR'. Si necesita salir de la función utilice el botón "ESC".
3. Conecte el "sensor externo" (Figura 11.1C).

Mediciones en el ensayo

4. Para hacer mediciones de PAR por encima del dosel: pulse la tecla de la flecha hacia arriba (\triangle) en el menú PAR/LAI.
5. Para realizar las mediciones dentro del dosel: pulse la flecha hacia abajo (∇) o la tecla verde circular ubicada en la esquina superior derecha del teclado (\bullet).



Figura 11.3 Tome mediciones para calcular la interceptación de luz, de: (A) PAR sobre el dosel; (B) reflectancia del dosel (con el ceptómetro volteado hacia abajo); y, (C) interceptación luz total del dosel.

Cuando se ha tomado por lo menos una o ambas de las mediciones por encima y por debajo del dosel, los otros datos relevantes se muestran en la parte inferior de la pantalla (Figura 11.4). Si el sensor externo está conectado, tanto los valores por encima y por debajo del dosel se toman cada vez que se presiona la flecha hacia abajo.

Al presionar 'ENTER' guarda estos valores en la memoria, al presionar 'ESC' se eliminan los valores.

Datos y cálculos

Dependiendo de la configuración del instrumento, tome nota de los valores calculados por el dispositivo durante el muestreo, o guarde los datos y descárguelos con el programa de computación suministrado con el instrumento. Los datos suelen ser descargados como un archivo de texto "delimitado por comas" e importados a MS Excel.

En su forma más simple (cuando se toman las mediciones por separado, por encima y por debajo del dosel):

$$\text{Interceptación de la luz (\%)} = ((A-B)-C) / (A-B) \times 100$$

Ecuación 11.1

Donde: (A) = PAR sobre el dosel; (B) = PAR reflejado; y, C= PAR debajo del dosel (véase figura 11.3).

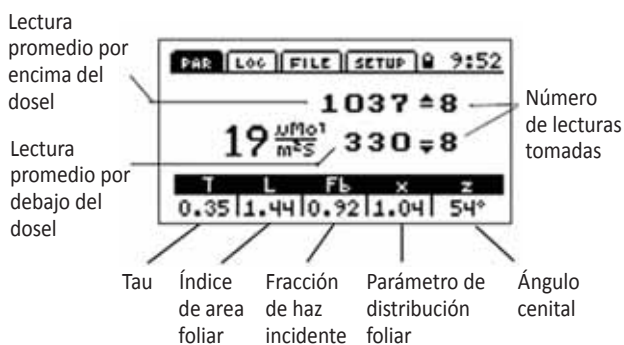


Figura 11.4. Ejemplo de datos mostrados por el ceptómetro AccuPAR LP-80. Adaptado de Decagon Devices, 2010.

Tabla 11.1: Salida de datos típica de un ceptómetro posicionado en el fondo del dosel con medición simultánea de la radiación fotosintéticamente activa sobre el dosel. Donde: la 'interceptación' se calcula como $F=1-(\text{transmitida/incidente})$.

Hora	Parcela	Muestra	Transmitida	Propagada	Incidente	Fracción de haz	Angulo cenital	Índice de área foliar	Interceptación (F)
11:30	1	1	49.9	0.44	1848.3	0.64	33.5	6.2	0.9730
11:30	1	2	42.6	1.56	1775.7	0.64	33.5	6.4	0.9760
11:30	1	3	81.6	1.87	1796.4	0.64	33.5	5.2	0.9546
11:32	2	1	18.5	0.90	1862.3	0.68	33.3	8.0	0.9901
11:33	2	2	25.6	1.15	1859.3	0.68	33.3	7.4	0.9862
11:33	2	3	26.8	2.62	1857.5	0.68	33.3	7.3	0.9856

Los sensores en los ceptómetros miden la PAR, sin embargo, para los sensores que miden la radiación solar total (por ejemplo, los solarímetros), la PAR es a menudo tomada como un 50% de la radiación solar total (Monteith, 1972), como un promedio aproximado de un haz directo de luz (45% PAR) y de la luz difusa dentro de un dosel (60% PAR):

$$\text{PAR} = \text{Radiación solar} / 2 \quad \text{Ecuación 11.2}$$

La PAR interceptada por el cultivo sobre una base diaria puede calcularse a partir de la interceptación fraccionada del muestreo multiplicada por la PAR total diaria (del solarímetro de la estación meteorológica). En la etapa de crecimiento del cultivo (por ejemplo, de GS31 hasta anthesis) la PAR interceptada acumulativa puede calcularse multiplicando la radiación diaria total sobre el cultivo por la fracción de luz incidente interceptada por el dosel

(asumiendo una tasa lineal de aumento del IAV de acuerdo al tiempo calendario entre muestreos).

Para el cálculo de la RUE, hasta donde sea posible, las mediciones de luz deberían tomarse en la muestra de un cuadrante antes de que éste sea muestreado destructivamente con el fin de aumentar la precisión del cálculo del coeficiente del dosel (K). La RUE se calcula para cada parcela, dividiendo la biomasa acumulada entre la PAR interceptada acumulada ($\text{MJ m}^{-2} \text{ d}^{-1}$) durante el mismo periodo:

$$\text{RUE (g MJ}^{-1}\text{)} = (\text{MJ}_{t2} - \text{MJ}_{t1}) / (\text{PS}_{t2} - \text{PS}_{t1}) \quad \text{Ecuación 11.3}$$

Donde: MJ = PAR interceptada acumulada (MJ m^{-2}); y, PS = peso seco acumulado por el cultivo (g m^{-2}) en el primer muestreo (t1) o segundo muestreo (t2).

Solución de problemas

Problema	Solución
En qué ángulo debe estar la sonda del ceptómetro insertada en el cultivo?	Asegúrese de que el ceptómetro esté midiendo una parte representativa del cultivo – con la proporción correcta de plantas y espacios (es decir, el espacio entre las hileras de plantas). Se recomienda que el ceptómetro sea sostenido en ángulo diagonal en el caso de plantas sembradas en hileras.
Hay un alto error de varianza de los datos.	Esto puede ser debido a condiciones ambientales variables o sub-óptimas (por ejemplo, días nublados o brumosos); o a un establecimiento variable del dosel.

Referencias

- Decagon Devices. (2010) Disponible en: <http://www.decagon.com/> (acceso: 7 Enero 2012).
- Monteith, J.L. (1972) Solar radiation and productivity in tropical ecosystems. *Journal of Applied Ecology* 9, 747–766.

Literatura recomendada

- Monsi, M. y Saeki, T. (1953) Über der lichtfaktor in den pflanzenengesellschaft en und seine bedeutung für die stoffproduktion. *Japanese Journal of Botany* 14, 22–52.
- Monteith, J.L. (1994) Validity of the correlation between intercepted radiation and biomass. *Agricultural and Forest Meteorology* 68, 213–220.
- Reynolds, M.P., van Ginkel, M. y Ribaut, J.M. (2000) Avenues for genetic modification of radiation use efficiency in wheat. *Journal of Experimental Botany* 51, 459–473.

Capítulo 12: Área foliar, área verde del cultivo y senescencia

Alistar Pask y Julián Pietragalla

El área de la lámina foliar o de todas las superficies verdes (lámina de la hoja, vaina de la hoja, tallo y espiga) del cultivo, se relaciona con la interceptación de luz y el potencial fotosintético, las superficies para transpiración/pérdida de agua, y la biomasa aérea del cultivo. El índice de área foliar (LAI, acrónimo del inglés leaf area index) es el área de superficie de la lámina verde de la hoja por unidad de área de suelo, y el índice de área verde (IAV o también llamado GAI, acrónimo del inglés green area index) es el área verde total de la superficie de la planta por unidad de superficie del suelo. Los cultivos con doseles grandes tienen el potencial de interceptar más luz y ser más productivos, pero podrían hacerlo ineficientemente en relación con el agua y nutrientes necesarios para producirlos y mantenerlos. Sin embargo, cuanto más rápido se realice el cierre del dosel durante las primeras etapas de desarrollo (es decir, hasta el embuche), podría aumentar significativamente la cantidad total de interceptación de luz durante esta fase, lo cual está fuertemente relacionado con el aumento de la biomasa en floración y del rendimiento final de grano en condiciones óptimas.

La fase de senescencia en el desarrollo de las plantas es un proceso altamente organizado y bien regulado. Las enzimas del estroma (como la Rubisco) se degradan a principios de la senescencia, lo que conduce a una disminución de la capacidad fotosintética. Por lo general, bajo condiciones favorables, las hojas altas del dosel envejecen a partir de mediados del llenado de grano en adelante. Sin embargo, la senescencia de las hojas inferiores puede iniciarse antes de la floración, siendo el N removilizado a las hojas superiores en expansión. En el trigo, las hojas más viejas envejecen primero, y las tres hojas superiores - en particular, la hoja bandera (la cual contribuye con la mayoría de los asimilados para el llenado de grano) - permanecen activas durante un período más largo. Las raíces son la parte vegetativa que fenecer al final y se mantienen activas durante el llenado del grano. La duración prolongada del área foliar verde a través de la senescencia foliar retardada ("permanencia en verde") permite la continuación de la actividad fotosintética y con ello que la planta continúe produciendo asimilados. Los genotipos que mantienen el área del dosel verde y el verdor del dosel durante la fase de llenado de grano están asociados con un mayor rendimiento.

LAI y IAV pueden medirse: (A) directamente mediante el muestreo destructivo de un área conocida del suelo (por lo general al mismo tiempo que las mediciones de biomasa) y midiendo el área de todas las partes de la planta con un planímetro (por ejemplo, este nivel de detalle es necesario para calcular el coeficiente de dosel K a partir del IAV); o, (B) en forma indirecta y no destructiva utilizando técnicas

basadas en la interceptación de luz (por ejemplo, SunScan LAI-2000, aunque esto también incluye partes de tejido muerto de las plantas y aquellas que están feneciendo), o fotografías (véase en este volumen, Capítulo 10) o por evaluación visual (por ejemplo, estos dos métodos se pueden utilizar como técnicas de diagnóstico rápido para la comparación de genotipos). Para la evaluación de la senescencia del cultivo, la evaluación periódica de la proporción verde y no verde del dosel (tejido muerto o senescente) es importante y puede determinarse mediante la evaluación visual de un '% de área foliar verde' remanente (% IAV). Este tejido no verde de la planta puede interceptar la luz, afectando las mediciones de interceptación de luz, pero no contribuye a la fotosíntesis de los cultivos y por lo tanto, debe ser excluido de las medidas y cálculos (por ejemplo, para el cálculo de la eficiencia de uso de la radiación, RUE).

Ubicación y condiciones ambientales

Las muestras para el muestreo destructivo pueden tomarse bajo la mayoría de condiciones ambientales. Sin embargo, es importante que la superficie de las plantas no esté mojada por el rocío, riego o lluvia.

Las mediciones de muestreo no destructivo pueden tomarse en cualquier condición ambiental.

Hora del día

Las muestras para el muestreo destructivo se deben tomar por la mañana (para procesarlas el mismo día).

Las mediciones de muestreo no destructivo se pueden tomar a cualquier hora del día en los cultivos bajo riego, pero en los tratamientos bajo sequía deben tomarse a la hora más fresca del día (antes de que la marchitez de las hojas afecte el área foliar).

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo y/o a intervalos regulares desde la emergencia hasta mediados de llenado de grano para el LAI e IAV, y desde mediados de llenado de grano hasta la madurez fisiológica para la evaluación de la senescencia y la permanencia en verde, dependiendo de los objetivos experimentales y/o momento de máximo estrés:

- Vigor inicial: tome tres evaluaciones no destructivas (es decir, índice de vegetación de diferencia normalizada, fotografías o evaluación visual), en los días 5, 10 y 15 después de la emergencia (DAE, acrónimo de *days after emergence*), para clasificar a los genotipos. Se recomienda el uso de la misma fuente de semilla para

todos los genotipos, ya que las semillas de diferentes ambientes pueden presentar variaciones en el establecimiento, pudiendo confundir el análisis.

- Expansión del dosel: tome evaluaciones no destructivas cada 7-10 días entre el inicio de la elongación del tallo hasta el final del embuche.
- Área foliar/del cultivo verde máxima: tome una medida destructiva (por lo general con la muestra de la biomasa) en floración +7 días.
- Senescencia, permanencia en verde y duración de llenado de grano: tome evaluaciones no destructivas dos veces por semana entre mediados de floración (para cultivos bajo estrés)/mediados de llenado de grano (GS75; bajo condiciones favorables) y madurez fisiológica.

Número de muestras por parcela

Tome ya sea una muestra de 20 tallos fértiles, o una observación por parcela (ver mediciones individuales más adelante).

A. Mediciones destructivas con un planímetro automático.

El siguiente procedimiento describe cómo determinar el LAI e IAV a partir de muestras de biomasa del cultivo de estación tomadas en floración +7 días usando un planímetro automático. Vea el esquema 12.1.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la determinación del área foliar y área verde usando una sub-muestra a partir de la muestra de biomasa tomada durante la estación (como se detalla en este volumen, Capítulo 15).

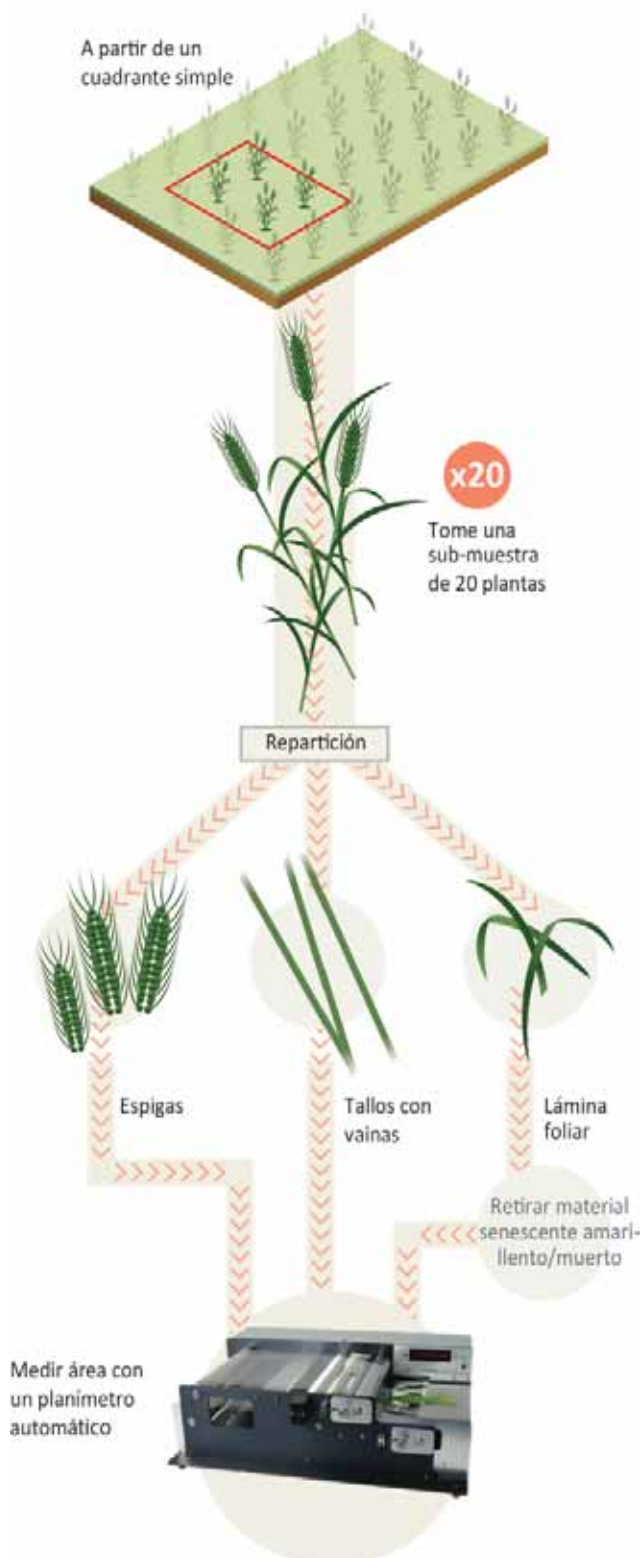
El siguiente equipo es necesario:

- Tijeras/ cuchillo
- Planímetro automático
- Discos de calibración

Consejos para la toma de mediciones

Cuando utilice el planímetro automático, tenga cuidado de asegurar que el material pase a través de los sensores de la máquina y que el material esté aplanado (es decir, no doblado ni retorcido). Para superficies no planas (tales como tallos y espigas), tome el área plana en lugar de la superficie verde total (esto se correlaciona mejor con la interceptación de luz).

Si no se dispone de un planímetro automático, puede utilizarse un escáner estándar con un programa de computación apropiado, o bien, el componente de la planta individual puede medirse para ambos, longitud y ancho (los cuales están fuertemente asociados con el área).



Esquema 12.1. Determinación del área foliar y área verde a partir de una sub-muestra tomada de una muestra de biomasa de la temporada usando un planímetro automático.

Si es necesario almacenar las muestras antes de la medición, esto puede hacerse manteniendo el material vegetal en una atmósfera fría y húmeda durante un máximo de cuatro días (por ejemplo, sellado en una bolsa de plástico y entre papel de seda humedecido).

Preparaciones

1. Después de encender el planímetro automático, el instrumento debe calentarse por alrededor de 10 minutos (durante este tiempo el 'conteo de área' debe permanecer en cero).
2. Utilice los discos de calibración proporcionados o elabore figuras de papel de área conocida (de preferencia que se asemejen a la forma del material a medir).

Mediciones de laboratorio

3. De un cuadrante de muestra, seleccionar al azar una sub-muestra de 20 tallos fértiles, asegurándose de que todos los tallos tengan una espiga bien formada.
4. Corte la espiga del tallo al nivel del cuello de la espiga.
5. Retire toda la lámina foliar de cada tallo y colóquelas todas juntas, o bien sepárelas por capas de hojas (es decir, hoja bandera, segunda hoja, tercera hoja, etc.).
6. Retire el material amarillento/muerto del tejido verde (no desechar este material).
7. Mida el área verde de cada componente (es decir, todas las láminas foliares/todas las capas, el tallo con la vaina unida al tallo; y, la espiga) con el planímetro automático.

Después de la medición de área, el material puede ser procesado (por ejemplo, para peso seco, contenido de nutrientes, etc.) tal como se detalla en este volumen, Capítulo 15. Recuerde regresar a la muestra todo el material amarillento/muerto que se había retirado.

B. Mediciones no destructivas.

El siguiente procedimiento describe la evaluación visual del LAI y/o IAV del cultivo y su senescencia. Para mediciones utilizando técnicas basadas en interceptación de luz, ver en este volumen, los Capítulos 8 (NDVI) y 11 (Interceptación de luz).

Procedimiento

Tome el siguiente equipo al campo:

- Escala de LAI/IAV (Figura 12.1) o la escala de puntuación de senescencia de hoja (Figura 12.2)
- Formato de campo y tabla portapapeles.

Consejos al tomar las mediciones

Como las medidas de las observaciones son subjetivas, es importante que las calificaciones sean consistentes:

- Asegúrese de que los niveles de calificación de los nuevos observadores estén calibrados con los de aquellos observadores experimentados (quienes están familiarizados con la evaluación de la cobertura del suelo), de modo que los valores estén estandarizados.
- Si varias personas dentro del grupo van a realizar observaciones, se recomienda que todos los observadores se reúnan para calibrar sus lecturas antes de empezar, y regularmente a partir de ese momento.
- Asegúrese de que sólo una persona haga las observaciones dentro de una réplica.

Mediciones del ensayo para LAI y/o IAV

Con la experiencia, es posible estimar el LAI/IAV de una parcela a partir de la observación.

Puntuación:

- i. Colocar un cuadrado en la parcela (para definir un área).

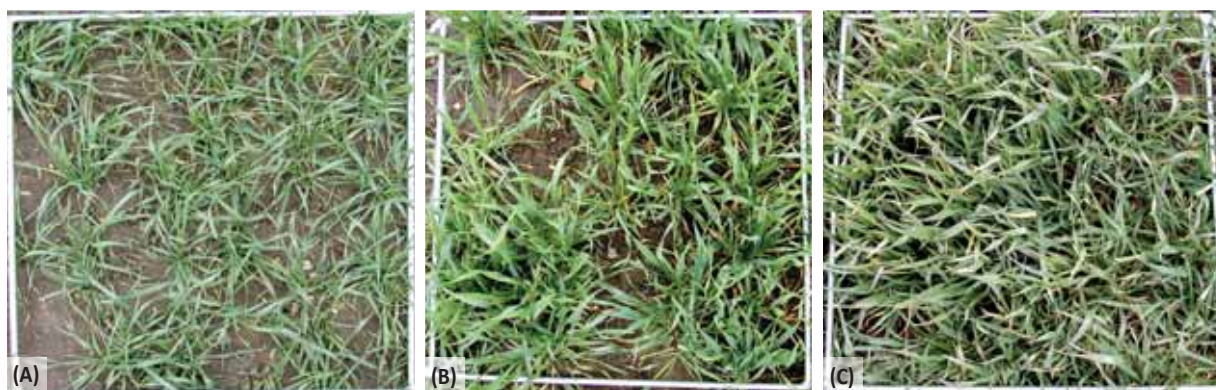


Figura 12.1 Estimación visual del índice de área verde (IAV), mostrando IAVs de: (A) 0.9; (B) 2.0; y (C) 4.0. Imágenes reproducidas de Sylvester-Bradley *et al.*, 2008. Créditos: The Home-Grown Cereals Authority.

- ii. Párese a un lado de la parcela de manera que el observador pueda mirar hacia abajo y directamente sobre el cultivo.
- iii. Observe el área definida del cultivo.
- iv. Evalúe la LAI/IAV - estimando incrementos de 0.1 (véase la Figura 12.1).

Tome repeticiones/mediciones secuenciales, con aproximadamente una semana de diferencia. Para mediciones de post-floración también es útil realizar una inspección minuciosa de varios tallos individuales para contar con la senescencia en las partes bajas del dosel.

Mediciones del ensayo para la evaluación de la senescencia

La senescencia se manifiesta mediante un color amarillento en las hojas, que se vuelve marrón con el pasar del tiempo. La senescencia del dosel comienza con las hojas inferiores y avanza hacia arriba hasta la hoja bandera. La senescencia de una hoja individual, en general, comienza en la punta y avanza hacia la base, llegando finalmente a la vaina de la hoja. Pueden realizarse observaciones repetidas (por ejemplo, cada 10 días a partir de mediados de llenado de grano hasta la madurez fisiológica) para evaluar las tasas de senescencia.

Para estudios de senescencia o permanencia en verde, en los que las mediciones repetidas se deben tomar en hojas seleccionadas, es altamente recomendable marcar cada tallo con cinta de colores alrededor del pedúnculo para facilitar su re-ubicación.

Observe la senescencia del dosel completo, ya sea:

- Realizando una observación general permaneciendo de pie en un ángulo de 45 ° a lo largo de la parcela; o
- Seleccionando al azar 10 tallos principales por parcela (el objetivo es de 30 por tratamiento), y, desde la hoja bandera hacia abajo, contar el número de hojas verdes/parcialmente verdes (por ejemplo, 3.5).

Puntuación:

- i. Observe la senescencia individual de las hojas (por lo general la hoja bandera), o en las diferentes capas de hojas dentro del dosel (es decir, la hoja bandera, segunda hoja, etc.)
- ii. Tase en incrementos del 10%, utilizando una escala de 0 (0% senescencia) a 10 (100% senescencia), utilizando la guía (Figura 12.2).

Datos y cálculos

$$\text{LAI} = (\text{superficie total de lámina foliar por 20 tallos}) \times (\text{número de tallos por m}^2/20) \quad \text{Ecuación 12.1}$$

$$\text{IAV} = (\text{área verde total de 20 tallos}) \times (\text{número de tallos por m}^2/20) \quad \text{Ecuación 12.2}$$

$$\text{SLA} = \text{peso seco de hoja} / \text{LAI} \quad \text{Ecuación 12.3}$$

Los valores típicos de LAI e IAV durante floración +7 días en condiciones libres de estrés son de 4.5 a 6.0, y en condiciones de estrés son de 2.0 a 2.5, respectivamente. El área foliar específica (SLA, acrónimo de *specific leaf area*; g m⁻²) es por lo general alrededor de 1 g de peso seco de hoja por m² de área foliar verde.



Figura 12.2 Escala de senescencia de la hoja bandera (indica el % aproximado de senescencia). Créditos: The John Innes Centre y The University of Nottingham.

Solución de problemas

Problema	Solución
El planímetro automático está 'contando el área' antes de que el material se coloque en el equipo	Asegúrese de que la banda transparente esté limpia, libre de suciedad y marcas, y de que el instrumento esté calibrado correctamente.
Cómo deben medirse los componentes (por ejemplo, tallos y espigas) en 3D?	Tome el área plana de cada componente
Las hojas están enrolladas haciendo difícil la medición del área	Enfríe y humedezca las muestras (por ejemplo, coloque las hojas entre hojas de papel húmedas de 3 a 4 horas)

Literatura recomendada

- Bréda, N.J. (2003) Ground-based measurements of leaf area index: a review of methods, instruments and current controversies. *Journal of Experimental Botany* 54, 2403–2417.
- Scott, R.K., Foulkes, M.J. y Sylvester-Bradley, R. (1994) Exploitation of varieties for UK cereal production: matching varieties to growing conditions. Chapter 3, pp.1-28. Home-Grown Cereals Authority, 1994 Conference on cereals R&D, HGCA, London, UK.
- Sylvester-Bradley, R., Berry, P., Blake, J., Kindred, D., Spink, J., Bingham, I., McVittie, J. y Foulkes, J. (2008) *The Wheat Growth Guide*. Pp. 30, Home-Grown Cereals Authority, 2nd Edition. HGCA, London. Disponible en: <http://www.hgca.com/> (acceso: 6 Enero 2011).

Capítulo 13. Intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila

Gemma Molero y Marta Lopes

Con los recientes avances tecnológicos en el desarrollo de instrumentos portátiles, las mediciones de intercambio de gases y de fluorescencia de la clorofila han llegado a ser cada vez más valiosas en estudios fenotípicos de precisión. Las mediciones directas de fotosíntesis mediante intercambio de gases se realizan con un analizador de gases por infrarrojos (IRGA, acrónimo del inglés *infrared gas analyzer*), el cual mide el flujo de dióxido de carbono dentro de una cámara sellada que contienen una muestra de hoja. Las mediciones de fluorescencia de la clorofila, utilizando un fluorómetro, proporcionan una estimación indirecta de los diferentes niveles funcionales de la fotosíntesis: procesos a nivel de pigmento, reacciones primarias a la luz, reacciones de transporte de electrones en el tilacoide, reacciones enzimáticas en el estroma en la oscuridad y procesos lentos de regulación (Fracheboud, 2006). Ambas mediciones se hacen a nivel de una sola hoja para la caracterización fenotípica precisa de poblaciones pequeñas (ej., <100 genotipos) cuando otro tipo de mediciones no son lo suficientemente precisas para detectar diferencias genéticas (por ejemplo, para detectar etapas iniciales de estrés en el metabolismo fotosintético) o cuando no proporcionan suficiente información.

Las mediciones de fotosíntesis han sido empleadas de manera exitosa para demostrar la diversidad genética en el desempeño y explicación de la respuesta fisiológica de las plantas a los efectos del medio ambiente (por ejemplo, luz, temperatura, concentración de dióxido de carbono, humedad relativa, ozono, etc.) y a los insumos agrícolas (por ejemplo, herbicidas). Sin embargo, las mediciones de intercambio de gases en el campo son laboriosas y costosas, requieren de personal cualificado, y proporcionan datos complejos de sólo un determinado número de plantas. En comparación, las mediciones de fluorescencia de la clorofila pueden tomarse con mayor rapidez (<30 segundos por planta vs al menos 2 minutos por planta), además de que el instrumento por sí mismo es más ligero y económico. Es, por lo tanto, una buena opción para medir la mayoría de tipos de estrés y monitorear la sanidad de las plantas. Sin embargo, la fluorescencia de la clorofila no es de protocolo sencillo – las hojas deben adaptarse a la oscuridad, la señal de la fluorescencia muestra una cinética altamente dinámica – y sus relaciones con el desempeño no han demostrado ser especialmente dependientes. El diagrama de decisión mostrado en la Figura 13.1 ayudará a seleccionar la(s) técnica(s) apropiada(s) para el ambiente de interés.

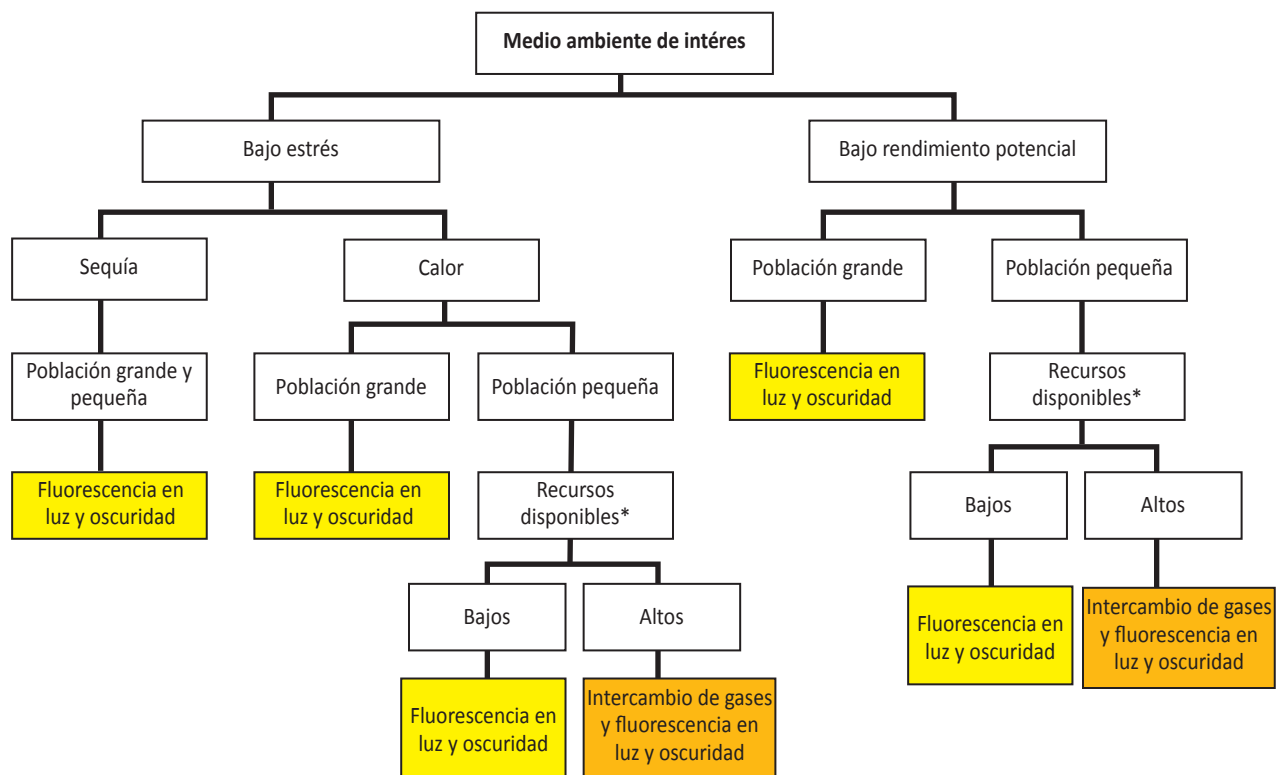


Figura 13.1. Diagrama de decisión para elegir entre mediciones de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila, o sólo mediciones de fluorescencia de la clorofila, para cada ambiente en particular. Nótese que utilizando fluorescencia en la oscuridad, sólo se han encontrado variaciones en condiciones de estrés muy severo, y por lo tanto no debería utilizarse bajo estrés por sequía moderada o calor. *'Recursos disponibles' se refiere en particular al tiempo y recursos financieros.

Sin embargo, el intercambio de gases y la fluorescencia de la clorofila generalmente no se utilizan para examinar y evaluar grandes número de genotipos en los programas de fitomejoramiento. En su lugar, los fitomejoradores utilizan medidas más rápidas y económicas correlacionadas con el desempeño fotosintético, tales como se describen en este volumen: temperatura del dosel y conductancia estomática (correlacionadas con la tasa fotosintética, Capítulos 1 y 2); discriminación isotópica del carbono (para integrar la apertura estomática durante el ciclo de vida del cultivo; Capítulo 6), índices vegetativos (los mismos que correlacionan con el tamaño del dosel fotosintéticamente activo; Capítulo 7); contenido de clorofila (para potencial fotosintético; Capítulo 9); senescencia/permanencia en verde (pérdida/mantenimiento de la capacidad fotosintética; Capítulo 12); biomasa (por la actividad fotosintética acumulativa durante el ciclo de vida del cultivo; Capítulo 15); y, carbohidratos solubles en agua (por la acumulación de fotosintatos; Capítulo 16).

Ubicación y condiciones ambientales

Realice las mediciones cuando el cielo esté claro y las hojas estén bien iluminadas. Las mediciones pueden efectuarse aún en días nublados (con instrumentos con luz propia), y cuando hay viento; sin embargo, los parámetros de fotosíntesis requieren más tiempo para lograr estabilizarse.

Es importante que la superficie de las plantas esté seca y no húmeda debido al rocío, riego o lluvia.

Hora del día

Realice la mayoría de las mediciones lo más cercano posible al medio día; normalmente de 11:00 a 14:00 h.

Para las mediciones en oscuridad (fluorescencia de la clorofila y respiración en la oscuridad), realice las mediciones en la noche o durante el día con hojas adaptadas a la oscuridad (ver detalles más adelante).

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden realizarse en cualquier etapa fenológica desde mediados de desarrollo de la plántula hasta mediados de llenado de grano, dependiendo de los objetivos experimentales/momentos de máximo estrés:

- Evaluación temprana de una población: tome mediciones simultáneas de intercambio de gases y/o fluorescencia de la clorofila para todos los genotipos en el estadio de 3 a 4 hojas.
- Máxima capacidad fotosintética en un ensayo de rendimiento potencial: tome mediciones simultáneas de intercambio de gases y/o fluorescencia de la clorofila para todos los genotipos en antesis +7 a 14 días.

Tolerancia al estrés:

- i. Tolerancia al estrés por calor – tome mediciones de intercambio de gases y/o fluorescencia de la clorofila en, o un poco después, del pico de temperatura.
- ii. Tolerancia al estrés por sequía – tome mediciones de fluorescencia de la clorofila sólo durante el periodo de estrés (no se recomienda el intercambio de gases debido al cierre de estomas).

Número de muestras por parcela

Para la fluorescencia de la clorofila: tome mediciones de 3 a 5 hojas por parcela.

Para el intercambio de gases: tome mediciones de al menos de 2 a 4 hojas por parcela.

Procedimiento

Consejos generales para realizar las mediciones

Tenga en cuenta que estos instrumentos son muy sensibles, por lo que debe tomarse el tiempo necesario para leer el manual de usuario cuidadosamente. Los procedimientos que se presentan a continuación describen la toma de mediciones de manera separada; sin embargo, muchos sistemas de intercambio de gases y fotosíntesis permiten medir de manera simultánea el intercambio de gases y la fluorescencia de la clorofila de las hojas (por ejemplo, LI-COR 6400-XT, GFS-3000, CIRAS-2 and LCpro-SD) lo cual es lo más recomendable para evitar la variación espacial dentro de una hoja.

Para ambas medidas: seleccionar la hoja más joven completamente expandida (normalmente la hoja bandera en cuanto haya emergido) que recibe la luz solar sobre la superficie superior. Las hojas deben estar limpias, secas, verdes, sin signos de enfermedad o daño, y deben seleccionarse de aquellas plantas representativas de la parcela. Asegúrese de seleccionar hojas de la misma edad, historia de vida, posición y orientación ya que los parámetros de fotosíntesis son sensibles a la intensidad lumínica y a la variación de la temperatura. Manipule la hoja lo menos posible, y evite sombrearlas durante las mediciones.

Es necesario controlar la fenología en poblaciones con fechas de floración diversas, ya que las plantas bajo diferentes estadios de desarrollo presentan diferencias fisiológicas en fotosíntesis (debido al estadio de desarrollo de la hoja, de la planta y de la arquitectura de las hojas (por ejemplo, ángulo de la hoja) y las relaciones fuente de asimilados - sumidero), los cuales pueden confundir el análisis. Esto es especialmente importante en ambientes donde la temperatura incrementa de manera lineal (por ejemplo, durante la fase de llenado de grano). Esto puede corregirse al dividir la población en líneas precoces y líneas tardías, teniendo entonces diferentes sub-poblaciones para evaluarse. Un rango de hasta 10 días en floración se considera razonable.

A. Mediciones de fluorescencia de la clorofila

El siguiente procedimiento describe las mediciones mediante la utilización de un Fluorpen FP 100, medidor de mano de la fluorescencia de la clorofila (Figura 13.2).

Los parámetros más utilizados para medir la fluorescencia de la clorofila son:

adaptación a la luz: Φ_{PSII} (rendimiento cuántico de la fotoquímica del fotosistema (PS) II – es decir, el número de eventos fluorescentes para cada fotón absorbido); F_0' (fluorescencia mínima); F_m' (fluorescencia máxima); F_v' (fluorescencia variable); F_v'/F_m' (máxima eficiencia del PS II); y,

adaptación a la oscuridad: F_0 (fluorescencia mínima); F_m (fluorescencia máxima); F_v (fluorescencia variable) y F_v/F_m (máxima eficiencia cuántica de la fotoquímica del PS II – es decir, la eficiencia máxima en la cual la luz absorbida por el PSII es utilizada para la reducción de la Plastoquinona-A (Q_A)). Para más detalles, ver Lopes, Molero y Nogues, Volumen 1.

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Fluorómetro de clorofila de mano
- Coberturas para la adaptación a la oscuridad de las hojas.

Consejos al realizar las mediciones

Es importante que ambas mediciones en luz y en adaptación a la oscuridad sean tomadas en la misma hoja.

Es altamente recomendable utilizar fluorómetros capaces de generar un pulso de saturación mayor a $4,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

Recomendaciones para la adaptación a la oscuridad:

- La adaptación a la oscuridad en plantas de trigo toma al menos 20 minutos durante las horas del día. Alternativamente, pueden tomarse mediciones antes del amanecer (antes de que salga el sol) para valores de F_0 , F_m , los cuales pueden utilizarse para calcular otros parámetros de adaptación a la oscuridad.
- Utilice las coberturas (clips) que vienen con el instrumento o que se pueden fabricar (usando hojas de aluminio, Figura 13.3; o con cartón laminado y un clip).
- No permita la iluminación de la hoja adaptada a la oscuridad durante las mediciones – si se utiliza una cobertura/clip de hoja hecha por uno mismo, entonces asegúrese de utilizar adicionalmente una cubierta de tela oscura para cubrir toda la planta, el instrumento y a la persona que esté midiendo.



Figura 13.3. Cobertura de hoja hecha por uno mismo utilizando una hoja de aluminio.



Figura 13.2. Fluorómetro de clorofilas de mano Fluorpen FP-100: (A) mostrando (i) sensor PAR, y (ii) una hoja en la cámara del sensor; (B) mediciones de campo en condiciones de luz natural.

- Es altamente recomendable utilizar un instrumento que proporcione una pre-iluminación rojo lejano para las mediciones de adaptación a la oscuridad (para una transferencia rápida de electrones al PS I permitiendo una rápida re-oxidación del PS II).
- Asegúrese de que la luz de medida no es actínica (es decir, que no haya luz que estimule la fotosíntesis).

Preparaciones

Asegúrese de que las baterías estén completamente cargadas, y de que hay suficiente memoria para almacenar las mediciones.

En caso de ser necesario, pre-programe el instrumento con los parámetros de medida, protocolo y ajustes de acuerdo al manual de usuario (por ejemplo, para el modo de protocolo de adaptación a la luz: especificar la intensidad, duración, frecuencia y ganancia de la medición, ludes actínica, saturante y rojo lejano). Utilice el sub-menú 'Settings' para programar el color de luz, la intensidad de luz, en número y frecuencia de las mediciones, fecha, hora y tipo de sonido.

Mediciones del ensayo

1. Mantenga apretada la tecla 'SET' durante 1 segundo para encender el fluorómetro, luego dejar que el instrumento se estabilice a temperatura ambiente alrededor de 10 minutos.
2. Seleccione el menú 'MEASURE' y presione la tecla 'SET' una vez. Presione 'MENU' para bajar en el menú principal y presione la tecla 'SET' para seleccionar la opción. Para mediciones de luz, seleccionar el modo 'QY', 'NPQ', 'LC1' o 'LC2' de acuerdo a las mediciones que desee realizar.

3. Coloque la hoja dentro de la cabeza del sensor en el punto medio de la hoja y asegúrese de que el área seleccionada de la hoja cubra completamente la apertura del sensor.
4. Presione 'SET' para iniciar la medición con la luz de fluorescencia.
5. Retire la hoja de la cabeza del sensor, y coloque la cobertura (clip) de hoja para adaptación a la oscuridad en este mismo punto.
6. Repita las mediciones de luz de fluorescencia en 3 a 5 hojas por parcela.
7. Deje que las hojas se adapten a la oscuridad al menos por 20 minutos.
8. Después de ese tiempo, retorne a las hojas medidas previamente.
9. Presione 'MENU' y seleccione 'FT' o 'OJIP' para las mediciones de oscuridad.
10. Realice las mediciones de fluorescencia en la oscuridad cuidadosamente, asegurándose de evitar la iluminación de la hoja adaptada a la oscuridad.

Mediciones finales

11. Después de medir todo el ensayo, vaya a 'RETURN', presione la tecla 'SET'. Presione la tecla 'MENU' para bajar y seleccione 'TURN OFF DEVICE' presionando la tecla 'SET'.
12. Los datos almacenados pueden descargarse con el programa de computación proporcionado con el instrumento. Normalmente, los datos se descargan como un archivo de texto 'delimitado por comas' y es importado a MS Excel.

B. Mediciones de intercambio de gases

El siguiente procedimiento describe las mediciones utilizando el sistema de medición de fotosíntesis e intercambio de gases LICOR LI-6400 XT (Figuras 13.4 y 13.5).

Los parámetros más utilizados para el intercambio de gases son: A_{net} (tasa neta de asimilación de CO_2); A_{max} (tasa de asimilación de CO_2 neta bajo luz de saturación); g_s (conductancia estomática); C_i (concentración intracelular de CO_2) y E (tasa de transpiración).

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Equipo de medición de intercambio de gases y fotosíntesis
- Baterías (utilizar una batería de automóvil para trabajar largos periodos en el campo)

Consejos al tomar las mediciones

- Es importante hacer todas las mediciones con los mismos ajustes de los parámetros, y lo más cercano posible a las condiciones ambientales reales del cultivo y del ambiente deseado:
 - *Humedad relativa*: ajuste los valores a 50-80%
 - *Temperatura*: ajuste la temperatura del bloque (del aparato) a la misma temperatura del aire. Para medir la temperatura de la hoja, no cambie los ajustes de temperatura de hoja ya que esta llegará a ser constante entre sus medidas.
 - *Concentración de CO_2* : ajuste los valores a 350-400 ppm.
 - *Flujo de aire*: ajústelo a $400 \mu\text{mol s}^{-1}$.
 - *Luz*: Realice una curva de luz antes de iniciar cualquier medición de intercambio de gases para determinar

el punto de saturación. El trigo crece normalmente bajo ambientes de alta radiación y muestra tasas de saturación de fotosíntesis por debajo de $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

- *Ventilador de la hoja*: elijar el modo rápido 'fast'
- *Proporción estomática*: ajústela a 1 (si la proporción estomática es desconocida), o determinar la proporción estomática real (aunque esto requiere de tiempo).
- Es altamente recomendable utilizar un cilindro de CO_2 comprimido para reducir cualquier problema asociado con ligeras fluctuaciones de concentraciones de CO_2 entrante.
- Evite la condensación dentro de la cubeta o tubos, ya que la humedad puede dañar el instrumento.
- Es altamente recomendable realizar una curva de $A/$ PAR antes de empezar las mediciones de intercambio de gases para determinar la intensidad de la radiación fotosintéticamente activa (PAR) dentro de la cámara, con el fin de obtener la tasa fotosintética de saturación (A_{max}).
- Para hacer las curvas de A/C_i , es importante considerar las fugas de la cámara donde se mide la hoja dentro la cabeza del sensor (para detalles sobre cómo minimizar el error generado por estas fugas, ver Long y Bernacchi, 2003; Flexas *et al.*, 2007; Rodegheiro *et al.*, 2007).

Preparaciones

- Asegúrese de que las baterías estén completamente cargadas.
- Asegúrese de que la cámara y el sensor estén libres de polvo, polen, etc., y que los sellos de la cámara estén en su lugar y sin daños.

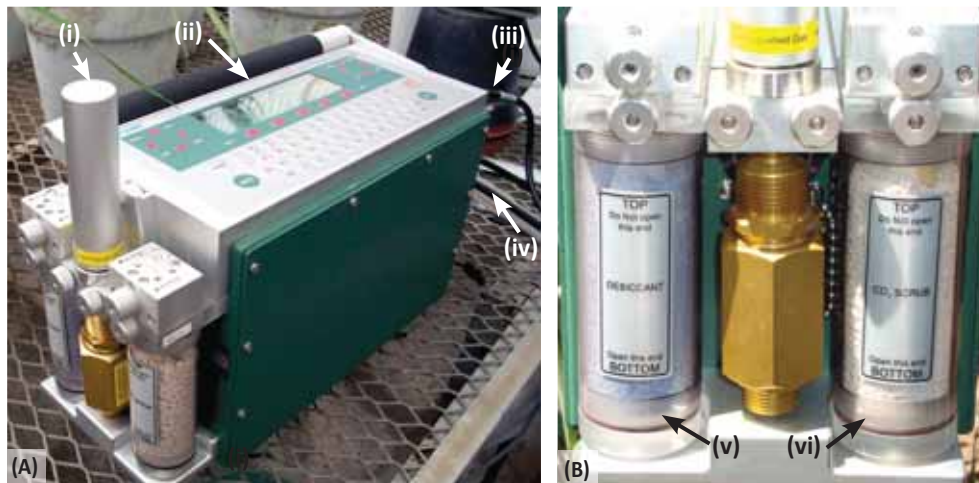


Figura 13.4. Consola de un sistema portable de fotosíntesis LICOR LI-6400XT, mostrando: (A)(i) Recipiente del cartucho de CO_2 y regulador; (ii) pantalla y teclado; (iii) conexión a la cámara del fluorómetro; y (iv) tubos y conectores hacia la cabeza del sensor; y (B)(v) tubo del desecante de H_2O ; y (vi) tubo para la depuración de CO_2 .

- Verifique las conexiones entre la cámara y la consola, asegúrese de que estén bien conectadas y de que no exista fuga.
 - Verifique que los instrumentos tienen suficiente memoria para guardar la información de todas las mediciones.
 - Asegúrese de que la 'drierita' (desecante de agua) y la cal sodada (soda lime, 'depurador' absorbente de CO₂) estén frescos y reactivos. Estos químicos por lo general tienen un color indicador para mostrar su condición: la drierita cambia de azul a rosa y la cal sodada de blanco a lila cuando ya no son útiles.
 - Retire el cilindro de dióxido de carbono usado anteriormente y coloque uno nuevo. Verifique el estado del anillo de empaque ('O ring') – replácelo por uno nuevo si está hinchado. Tenga cuidado de no retirar nunca un cilindro lleno de la consola, ya que el gas saldrá a alta presión y podría ser peligroso. Es recomendable y más seguro dejar que el cilindro se descargue lentamente y quitarlo cuando este vacío con total seguridad.
1. Después de encender el sistema de medición de fotosíntesis e intercambio de gases, el instrumento debe calentarse por alrededor de 20 minutos.
Verificar los siguientes parámetros:
 - *Presión*: ajústela a 100 kPa (la presión exacta varía de acuerdo a la altitud – revisar el manual de usuario).
 - *Luz*: verifique que funcione y que los LEDs no estén dañados.
 - *Termopar*: verifique que funcione tocando el sensor con el dedo. Luego desconecte el termopar para cerciorarse de que la temperatura de la hoja sea igual a la temperatura del bloque ($T^{\text{Hoja}}=T^{\text{bloque}}$), si no, ajústelas apropiadamente.
 - *Tasa de flujo*: increméntelo al máximo, ponga los desecantes del CO₂ y H₂O cerrados a desviación total, y verifique que la tasa de flujo no cambie; entonces, coloque los desecantes del CO₂ y H₂O en depuración total, y verifique nuevamente que el flujo no cambie. Si la tasa de flujo cambia más de 1-2 unidades, entonces cerciórese de que los amortiguadores de aire en los tubos de los químicos no estén bloqueados o rotos. Ahora, ajuste el flujo a cero y apague el ventilador. Si el valor del flujo en este momento no es cercano a cero, vaya al menú de calibración y ajuste nuevamente a cero el medidor de flujo.
 - *Verifique que no existan fugas*: respire cerca de la cámara, el desecante del CO₂ y H₂O, tubos de conexión y consola. Cerciórese de que los valores de CO₂ no incrementen más de 2 ppm. Si es así, tratar de localizar la fuga respirando a través de una pajilla plástica.
 2. Calibrar el IRGA a cero:
 - La cámara debe estar vacía y cerrada.
 - Los desecantes de CO₂ y H₂O deben estar en desvío total ('full bypass').
 - Espere hasta que la referencia de CO₂ esté cercana a 5 $\mu\text{mol mol}^{-1}$, y la referencia de H₂O esté cerca de 0.3 mmol mol^{-1} .

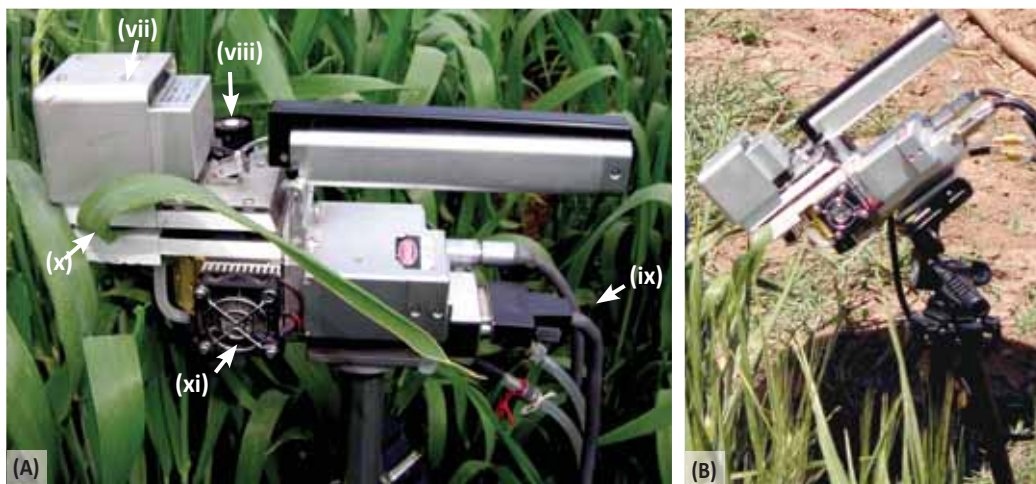


Figura 13.5. Cabeza del sensor de un sistema portable para medir fotosíntesis LICOR LI-6400XT, mostrando: (A) (vii) fluorómetro de clorofila en hojas (LCF; opcional y adicional); (viii) sensor de radiación fotosintéticamente activa (PAR, acrónimo del inglés *photosynthetic active radiation*); (ix) tubos y conectores hacia la consola; (x) hoja dentro de la cabeza del sensor; (xi) ventilador de la cámara; y (B) utilización en campo.

- o Si el CO₂_R (CO₂ de referencia) o el CO₂_S (CO₂ de la muestra) son >5, o el H₂O_R (H₂O de referencia) o H₂O_S (H₂O de la muestra) es > 0.3, vaya a 'CALIBRATION MENU' >'ZERO IRGA' y siga las instrucciones. Espere hasta que los valores sean estables: primero ponga en ceros el H₂O, espere 1 minuto para que se estabilice, y luego ponga en ceros al CO₂ y espere nuevamente 1 minuto a que se estabilice.
- o Regrese a 'MAIN MENU' y seleccione 'MATCH IRGA', de esta manera los dos sensores IRGAs (de la muestra y de referencia) estarán calibrados con los mismos valores.

Mediciones en el ensayo

- Abra un archivo nuevo: en el modo de 'New Measurements', presione '1' y luego 'F1' (para abrir 'LogFile'). Escriba el nombre del archivo y presione 'ENTER'.
- Defina los parámetros: 'PAR' (radiación fotosintéticamente activa), el FLUJO, el CO₂, la TEMP (temperatura), HR (humedad relativa), de acuerdo al experimento. Recuerde, ponga el tubo de la 'drierita' en desvío total (full bypass) y verifique las lecturas de humedad correspondientes. Ajuste la humedad al valor deseado girando el tornillo de paso de la drierita (observe los cambios de humedad mientras se ajusta). Si se trabaja con un cilindro de CO₂ comprimido, mantenga todo el paso de CO₂ en la posición de depuración total (full scrub).
- Empareje los IRGAs cuando la humedad sea estable.
- Coloque la hoja en la cabeza del sensor y ajuste: es importante que la hoja cubra toda el área de la cámara o cubeta. Si esto no es posible (por ejemplo, hojas pequeñas o sometidas a estrés por sequía, etc.), se requiere medir el área de la hoja que se encuentra dentro de la cámara y hacer los ajustes pertinentes para los valores calculados por el aparato.
- Espere a que los valores sean estables (generalmente alrededor de 2 minutos) y registre el valor (presione '1' y luego 'F1'), o active el flash de saturación (presionar '0' y luego 'F3' o 'F4') para obtener la medición simultánea de fluorescencia de la clorofila (recomendado) y registre los valores.
- Repita las mediciones de intercambio de gases para 2 a 4 hojas por parcela.

- Una vez que todas las mediciones han sido tomadas, cierre el archivo. Presione 'ESCAPE' para regresar al modo de nuevas mediciones ('New Measurements') y luego presione '1' y seleccione 'CLOSE_FILE' (F3).

Mediciones finales y terminación

- Con la cámara vacía y cerrada y el equipo aún encendido, gire el tornillo de la drierita hasta la posición de depuración total ('full scrub') e incremente el flujo al máximo, luego espere hasta que la humedad relativa disminuya por debajo del 10%.
- Apague el equipo. Deje colocado el cilindro del CO₂, de esta manera el CO₂ remanente se liberará lentamente. Asegúrese de que los tornillos de la cámara y de paso de los desecantes estén sueltos cuando el equipo no se esté utilizando para evitar dañar los tubos de los químicos.
- Los datos registrados pueden descargarse con el programa de computación proporcionado con el instrumento. Los datos se descargan normalmente como un archivo de texto 'delimitado por comas' y se importan a MS Excel.

Datos y cálculos

Para la mayoría de las mediciones, los cálculos son realizados directamente por los instrumentos. Los valores típicos para la mayoría de los parámetros de intercambio de gases y de fluorescencia de la clorofila para el cultivo de trigo en ambientes bajo riego y estrés se muestran en la Tabla 13.1.

Tabla 13.1 Datos típicos para mediciones de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila en ambientes bajo riego y estrés.

Intercambio de gases:

	Riego	Estrés
A _{net}	15-30 μmol m ⁻² s ⁻¹	5-20 μmol m ⁻² s ⁻¹
g _s	300-700 μmol m ⁻² s ⁻¹	<300 μmol m ⁻² s ⁻¹

Fluorescencia de la clorofila:

	Riego	Estrés
F _v /F _m	Cercano a 0.83	<0.75
Φ _{PSII}	0.4-0.5	<0.4
NPQ*	0.5-3.5	>3.5

* La disipación o extinción no fotoquímica (NPQ, acrónimo del inglés *non-photochemical quenching*) estima la disipación no fotoquímica de F_m a F_m', para monitorear la tasa constante aparente por pérdida de calor del PSII.

Solución de problemas

Problema	Solución
Fluorímetro de clorofila (también llamado fluorómetro)	
Variable F_v'/F_m'	Asegúrese de que las hojas a medir estén expuestas a la luz de manera homogénea, y recuerde medir la parte de la hoja que está expuesta a la luz. Verifique que el haz de luz de saturación sea lo suficientemente intenso. Algunos instrumentos tienen haces de saturación muy suaves que no permiten buenas mediciones de luz. Verifique que la fibra óptica funcione adecuadamente. Verifique que el sensor de PAR esté midiendo correctamente. Si las lecturas de PAR no son correctas, entonces no hay manera de asegurar de que las mediciones de fluorescencia de la luz se estén realizando a la misma intensidad de luz.
F_v/F_m variable	Las hojas no se adaptaron completamente a la oscuridad. Las hojas deben permanecer en total oscuridad por al menos 20 minutos. Si la cobertura para adaptación a la oscuridad ha sido realizada por usted mismo, asegúrese de usar una tela negra para cubrir a la planta cuando retire la cubierta de aluminio para medir la hoja. Las hojas están dañadas y/o se manipularon excesivamente antes de realizar las mediciones.
Analizador de gases por infrarrojo	
Se escucha un ruido de 'bip' en el equipo.	Verifique las baterías.
Los valores del flujo no son estables.	Los amortiguadores del aire en los tubos de los químicos pueden estar obstruidos o rotos. Cámbielos o limpie los tubos.
Al respirar en la cámara o consola el CO ₂ se incrementa más de 2 ppm.	Hay una fuga – respire con una pajilla plástica cerca de la cámara, los desecantes de CO ₂ y H ₂ O, los tubos de conexión y la consola para localizar la fuga.
Los valores no son estables.	Verifique las fugas. El IRGA está 'caliente' y listo para usarse? Espere 20 minutos y verifíquelo otra vez.
Valores anormales de fotosíntesis.	Probablemente el equipo no está bien calibrado. Repita el proceso de calibración para poner en cero y emparejar a los IRGAS.
El CO ₂ no es estable.	Utilice un cilindro de CO ₂ comprimido.
La PAR está por debajo del valor definido.	Verifique que los LEDs estén funcionando y que no estén rotos/dañados.
Los valores de g_s no son estables	Verifique que el sensor funciona – tóquelo con el dedo, si la temperatura no cambia, entonces replácelo.
La humedad ambiental es muy baja y la humedad relativa necesita ser >50% cuando la 'drierite' está cerrada en desvío total (full bypass).	Añada 10 mL de agua en la cal sodada (soda lime) y espere 30 minutos para que el H ₂ O_S y H ₂ O_R lleguen a estabilizarse.
El CO ₂ de la referencia y de la muestra es muy bajo.	Cambie el cilindro de CO ₂ comprimido.

Referencias

- Fracheboud, Y. (2006) *Using chlorophyll fluorescence to study photosynthesis*. Institute of Plant Sciences ETH, Universitatstrass, CH-8092 Zurich.
- Long, SP. y Bernacchi, CJ. (2003) Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? *Procedures and sources of error. Techniques* 54(392), 2393–2401.
- Flexas, J., Díaz-Espejo, A, Berry, JA., Cifre, J., Galmés, J., Kaldenhoff, R., Medrano, H. y Ribas-Carbó, M. (2007) Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal of Experimental Botany* 58(6), 1533–1543.

- Rodeghiero, M., Niinemets, U. y Cesca, A. (2007) Major diffusion leaks of clamp-on leaf cuvettes still unaccounted: how erroneous are the estimates of Farquhar *et al.* model parameters? *Plant, Cell and Environment* 30(8), 1006–1022.

Literatura recomendada

- Evans, JR. y Santiago, L. (CSIRO Publishing) *A guide to measuring gas exchange and performing A/PAR and A/C_i curves with the LI-COR 6400*. Disponible en: <http://prometheuswiki.publish.csiro.au/> (acceso: 30 Agosto 2011).
- Sharkey, TD., Bernacchi, CJ., Farquhar, GD. y Singaas, EL. (2007) In Practice: Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* 30(9), 1035–1040.
- Maxwell, K. y Johnson, GN. (2000) Chlorophyll fluorescence – a practical guide. *Journal of Experimental Botany* 51(345), 659–668.

TRIGO

Análisis directo del crecimiento



Capítulo 14. Determinación de etapas claves de desarrollo

Alistair Pask

Una buena comprensión del crecimiento y desarrollo de la planta de trigo es esencial para un programa experimental exitoso. Existen muchas escalas diferentes para la evaluación de las etapas de desarrollo de una planta ('etapas de crecimiento' o GS, acrónimo del inglés *growth scale*), siendo la escala Zadoks 'código decimal' –basada sobre las diez etapas más importantes– la más comúnmente usada por ser rápida y no destructiva (Tabla 14.1) (Zadoks *et al.*, 1974; Tottman y Broad, 1987). La determinación precisa de la etapa de desarrollo del cultivo es importante en estudios fisiológicos ya que las etapas claves del desarrollo (emergencia, GS10; espiguilla terminal, GS30 / primer nudo (o nodo) a 1 cm por encima del nudo de la base del tallo, GS31; espigamiento, GS51; antesis (floración), GS61, y; madurez, GS87) marcan cambios importantes en el ciclo de vida del cultivo. Las aplicaciones de fertilizantes, riego, pesticidas, insecticidas y fungicidas, y el impacto de las enfermedades, insectos y estreses (por ejemplo, heladas, calor y sequía) también se relacionan mejor con la etapa de crecimiento del cultivo en vez de la fecha (días calendario).

El momento óptimo para el muestreo en estudios fisiológicos se determina mejor con la etapa de crecimiento del cultivo, y los datos se expresan en relación al tiempo térmico o termal ($^{\circ}\text{Cd}$; = días x temperatura media diaria) el cual (en adición a la duración del día y la cantidad de frío vernalizante) impulsa la tasa de crecimiento y desarrollo. La respuesta del desarrollo a las unidades de calor es aproximadamente lineal sobre una temperatura mínima de base (usualmente tomada como 0°C) hasta una temperatura media máxima diaria de alrededor de 25°C . Típicamente, el tiempo térmico necesario para completar un periodo determinado de desarrollo es constante para un genotipo determinado. En promedio, el tiempo térmico para producir un cultivo maduro es de 1550°Cd (por ejemplo, 15°C por encima de la temperatura base por 103 días) para trigos de primavera, y 2200°Cd para trigos de invierno.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones pueden tomarse bajo cualquier condición ambiental.

Hora del día

Las mediciones pueden tomarse a cualquier hora del día.

Etapas de desarrollo de la planta

Etapas clave de desarrollo: emergencia, espiguilla terminal / primer nudo a 1 cm por encima del nudo de la base del tallo, espigamiento, floración, mediados de llenado de grano y madurez, son las más informativas. El muestreo en floración

+7 días es considerado estratégicamente importante para estudios de fisiología, ya que es el momento donde la estructura de la espiga alcanza su peso seco máximo, el peso del grano es insignificante y la reserva de carbohidratos solubles (CHOs) en el tallo está en su máximo nivel.

Etapas sensibles clave: La fecha de espigamiento es particularmente útil bajo condiciones de estrés, ya que es claramente observable. Bajo sequía extrema, la floración puede ocurrir antes de que la espiga emerja, y la polinización puede ocurrir cuando la espiga está aún en bota (embuche); y, bajo calor, la espiga emergerá pero la extrusión de anteras podría no ocurrir. En estos casos, para determinar la fecha de antesis, puede abrirse la vaina de la hoja bandera para revelar la espiga, de la cual a su vez pueden abrirse los floretes para observar las anteras, o también, la fecha de antesis puede determinarse retrospectivamente basándose en la longitud del grano en desarrollo, el cual toma de 7 a 10 días después de la polinización para alcanzar su longitud total, en función del ambiente.

Número de muestras por parcela

Tomar una observación y/o una valoración de 10 plantas o 50 ó 100 tallos por parcela (ver abajo mediciones individuales).

Procedimiento

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- La escala Zadoks (Tabla 14.1).
- Formato de campo y tabla portapapeles.

Consejos para la toma de mediciones

Las evaluaciones continuas del desarrollo del cultivo durante el ciclo de crecimiento son importantes. Es necesario evaluar y registrar las etapas de desarrollo de las parcelas individuales cada 2 ó 3 días durante el periodo previo que conduce a la etapa de desarrollo deseada para el muestreo.

La tasa de desarrollo del cultivo es afectada por el genotipo; por lo tanto las parcelas de un ensayo pueden alcanzar etapas de desarrollo clave en diferentes fechas. Por lo tanto, podría ser necesario tomar muestras durante un periodo de varios días para asegurar la comparación entre genotipos. Los fitomejoradores y científicos pueden desear dividir las poblaciones en líneas 'tempranas' y 'tardías' para evitar efectos de confusión en el análisis de los datos (por ejemplo - ver Temperatura del dosel en este volumen, Capítulo 1).

Se asigna una etapa de desarrollo cuando un 50% de los tallos principales en una parcela están en una etapa, incluyendo GS31, y el 50% de todos los tallos

posteriormente. Los datos son presentados usualmente como ‘días después de siembra’ (DAS; 1 DAS es el día de siembra) para emergencia, y ‘días después de emergencia’ (DAE; 1 DAE es el día de emergencia) para seguir las etapas de desarrollo.

Emergencia de plántulas (GS10): Esto es cuando el 50% de las plántulas ha emergido – la emergencia es la aparición de la primera lámina foliar que sobresale sobre la superficie del suelo (la primera hoja puede reconocerse por su punta redondeada). Por lo general, una estimación visual es adecuada ya que la emergencia es típicamente uniforme. El conteo diario de plantas emergidas puede hacerse por parcelas hasta que el número llegue a ser constante, y la fecha del 50% de emergencia puede determinarse retrospectivamente. Toma aproximadamente 105°Cd para que una planta de trigo germine y emerja de una profundidad de 3 cm (Figura 14.1).

Espiguilla terminal (GS30) / Primer nudo a 1 cm del nudo de la base del tallo (GS31): GS30 es estimada como la fecha en la cual la espiguilla terminal puede observarse en la espiga en formación que se encuentra aún dentro del vástago del tallo principal, típicamente se mide en un aproximado de 10 plantas por genotipo (por ejemplo, 5 plantas en cada una de las 2 réplicas). Sin embargo, la determinación de GS30 puede ser laboriosa y generalmente se requiere de un microscopio para una mayor precisión. Alternativamente, GS31 es estimada en campo como la fecha en la cual el primer nudo puede ser detectado en aproximadamente 1 cm por encima del nudo de la base del tallo, y es más fácil de ver con los ojos descubiertos. Esto es comúnmente medido como para GS30. La mayoría de los cultivares requieren aproximadamente 80-100°Cd para producir cada tallo o hoja en el tallo principal. (Figura 14.2).



Figura 14.1. Emergencia de plántulas: (A) emergencia de plántulas en el campo (Crédito: wheatbp.net); y, (B) emergencia completa, mostrando GS12 (dos hojas desplegadas).

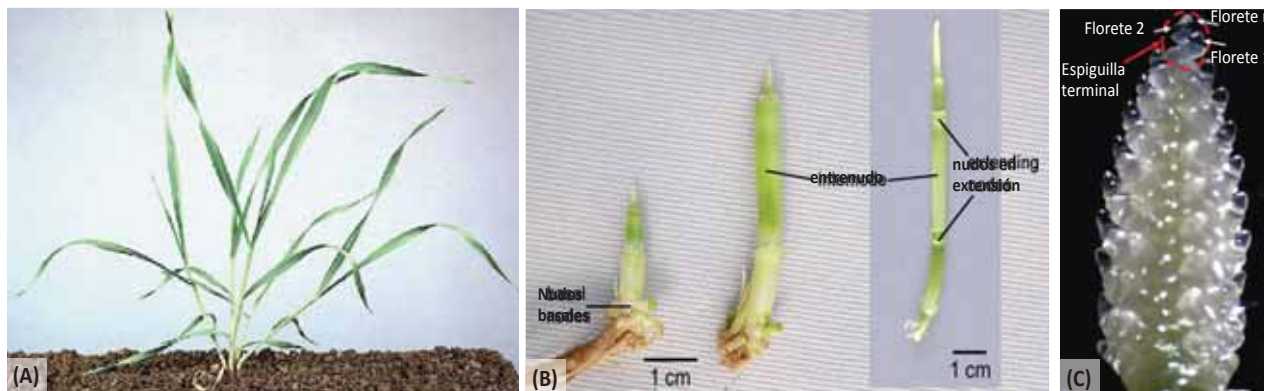


Figura 14.2. Reconociendo el inicio del crecimiento del tallo: (A) planta en GS31; (B) espiga en desarrollo con el tejido del tallo removido, mostrando GS30, GS31 y GS32 (Crédito: wheatbp.net), y (C) ampliación de una espiga en desarrollo en GS30, mostrando la espiguilla terminal (ampliación x 40; fotografía: Ariel Ferrante, Universidad de Lleida).

Espigamiento (emergencia de la espiga)

(GS55/59): Es cuando el 50% de la espiga ha emergido (por ejemplo, la mitad de la espiga está a nivel de la lígula de la hoja bandera) sobre un 50% de los tallos totales de la parcela (GS55); sin embargo, a menudo se registra como el momento cuando la base del 50% de las espigas ha emergido de la vaina de la hoja bandera (equivalente a “espigamiento completo o total”; GS59). La medición es generalmente realizada mediante observación visual de la parcela completa por la persona que observa y juzga todos los tratamientos de todos los ensayos. Alternativamente, la valoración puede hacerse mediante la evaluación de 50 ó 100 tallos por parcela (Figura 14.3).

Antesis (floración) (GS61/65): Esta etapa lleva alrededor de 3-5 días desde la aparición de la primera antera hasta la finalización para cada espiga individual, dependiendo de la temperatura del ambiente. El inicio de antesis (GS61) es definido como la fecha en la cual el 50% de las espigas han extruido por lo menos una antera; nótese que las anteras aparecen primero en los floretes de la mitad de la espiga y son luego extruidas

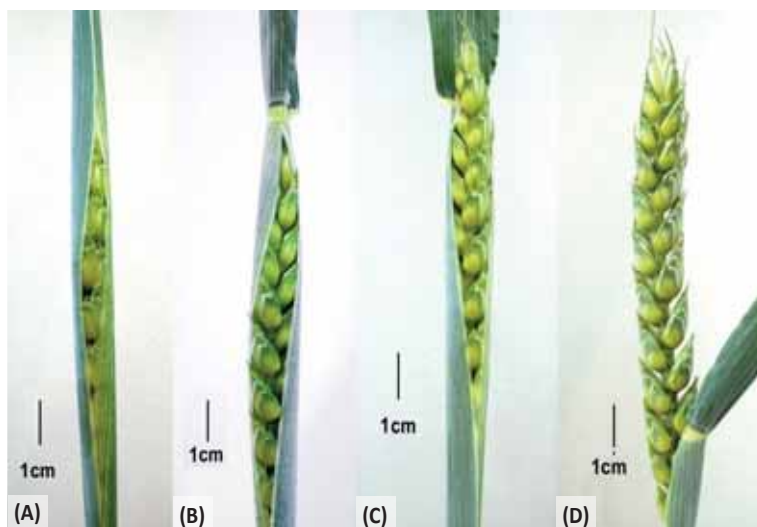


Figura 14.3. Secuencia de la emergencia de la espiga: final de embuche, (A) GS47 y (B) GS49; y, el inicio de espigamiento, (C) GS51 y (D) GS57 (crédito: wheatbp.net).

tanto hacia arriba y como por debajo del centro (Figura 14.4C). Comúnmente se registra la fecha de mediados de antesis (GS65), la cual se define como la fecha en la cual el 50% de las espigas han extruido el 50% de sus anteras. Las anteras son inicialmente de color amarillo y cambian a blanco con el tiempo (Figura 14.4).

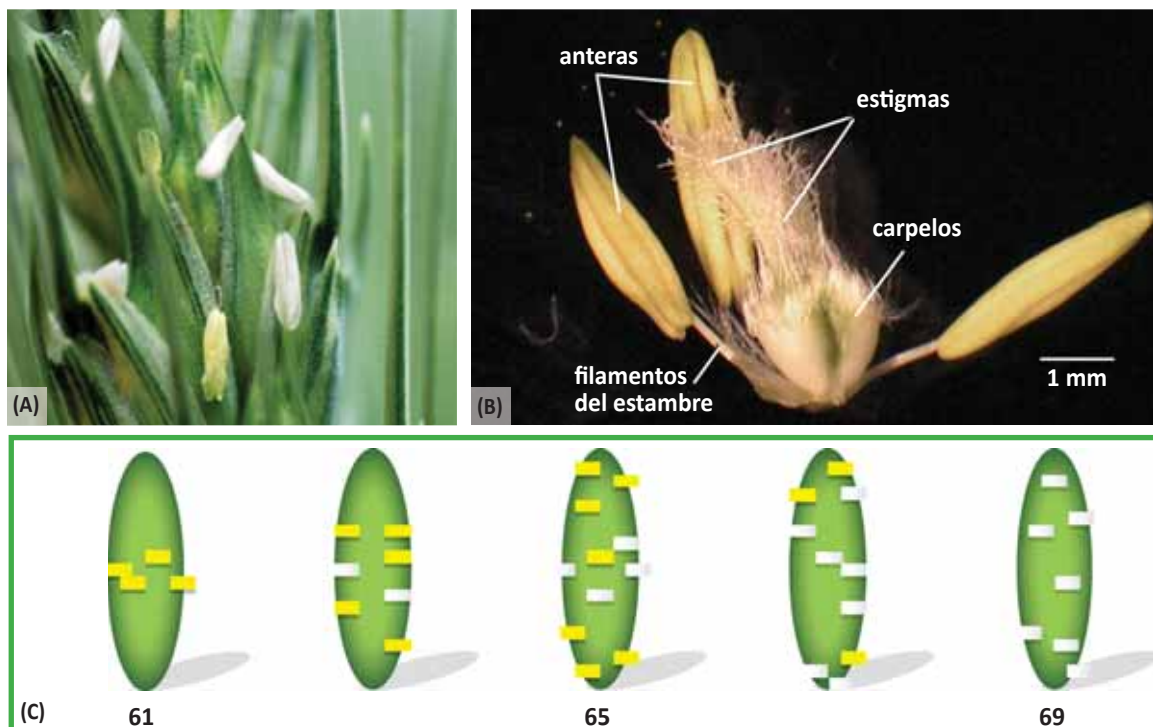


Figura 14.4. Antesis: (A) mediados de antesis (GS65) mostrando tanto las anteras recientemente extruidas en color amarillo, y las anteras maduras en color blanco (fotografía: Xochiquetzal Fonseca, CIMMYT); (B) un carpelo con su asociación de anteras (crédito: wheatbp.net); y, (C) esquema de la antesis mostrando GS61, GS65 y GS69.

Llenado de grano (GS71-85): El desarrollo del grano pasa a través de las etapas de acuoso, lechoso, masa blanda y masa dura. El crecimiento del grano para los días desde 7 a 14 después de la fertilización es principalmente a partir del material del pericarpio – la pared del ovario que contiene un fluido acuoso (GS71). Sólo entonces empieza la deposición de almidón (GS73-GS77). El desarrollo de la etapa de masa empieza cuando no hay líquido remanente y el contenido de humedad del grano disminuye (desde 45% en GS83, 30% en GS85, hasta <20% en GS92). La masa dura representa la ganancia del peso seco máximo del grano.

Las mediciones se toman generalmente a mediados de llenado de grano (GS75), determinada cuando el 50% de los granos en 50% de las espigas ha alcanzado el estado ‘lechoso medio’. La valoración se realiza típicamente presionando los granos entre el dedo índice y el dedo pulgar

para extraer el endospermo en desarrollo. Este se inicia como un fluido lechoso que incrementa en solidez conforme el grano progresa a través de la etapa lechosa y de masa, y llega a ser sólido cuando el contenido de agua disminuye (Figura 14.5).

Madurez fisiológica (GS87): Esta ocurre cuando el grano alcanza su máximo peso seco y llega a ser viable. Es determinado más fácilmente en campo cuando el 50% de los pedúnculos están maduros (es decir, de color amarillo), y en este punto las glumas (las cuales son frecuentemente la última parte de la planta en fenecer) también estarán perdiendo su color. La medición es típicamente realizada mediante evaluación visual de la parcela completa, la persona que observa y evalúa todos los tratamientos en un ensayo debe de ser siempre la misma; alternativamente la valoración puede ser hecha por la evaluación de 50 ó 100 tallos por parcela (Figura 14.6).



Figura 14.5. Granos aplastados durante el llenado de grano en: (A) medio lechoso (GS75); (B) lechoso tardío (GS77); (C) estado de masa inicial (GS83); (D) estado de masa suave (GS85); (E) estado de masa dura – mostrando una impresión de la uña del dedo pulgar – (GS87) etapas de desarrollo.



Figura 14.6. Determinación de la madurez fisiológica: (A) cultivo en madurez fisiológica (GS87); (B) comparación de pedúnculos en GS83, GS87 y GS92; y (C) esquema de madurez mostrando GS83, GS87 y GS92.

Etapas de crecimiento del trigo

La escala Zadoks 'código decimal' está basada en 10 etapas importantes, con cada etapa dividida en 10 sub-etapas (Tabla 14.1).

Tabla 14.1. La escala Zadoks (Zadoks *et al.*, 1974).

GS Descripción	GS Descripción
Germinación	
00 Semilla seca	Embuche
01 Inicio de consumo de agua (imbibición)	41 Extensión de la vaina de la hoja bandera
03 Imbibición completa	43 Embuche - hinchazón del tallo apenas visible
05 Radícula emergida desde la semilla	45 Embuche - tallo completamente hinchado
07 Coleoptilo emergido desde la semilla	47 Apertura de la vaina de la hoja bandera
09 Hoja visible en el ápice del coleoptilo	49 Primeras aristas visibles
Desarrollo de la plántula	
10 Primera hoja emergida	Espigamiento
11 Primera hoja desplegada	51 Primera espiguilla de la espiga visible
12 Dos hojas desplegadas	53 ¼ de la espiga ha emergido
13 Tres hojas desplegadas	55 ½ de la espiga ha emergido
14 Cuatro hojas desplegadas	57 ¾ de la espiga ha emergido
15 Cinco hojas desplegadas	59 Emergencia total de la espiga
16 Seis hojas desplegadas	Floración o antesis
17 Siete hojas desplegadas	61 Inicio de floración
18 Ocho hojas desplegadas	65 Mitad de floración
19 Nueve o más hojas desplegadas	69 Floración completa
Macollaje	
20 Únicamente el tallo principal	Grano y desarrollo lechoso
21 Tallo principal y primer macollo (hijuelo)	71 Maduración acuosa del grano (líquido claro)
22 Tallo principal y dos macollos	73 Lechoso inicial (líquido blanquizco)
23 Tallo principal y tres macollos	75 Lechoso medio (líquido lechoso)
24 Tallo principal y cuatro macollos	77 Lechoso final (lechoso pastoso, más sólidos en el líquido lechoso)
25 Tallo principal y cinco macollos	Desarrollo de la masa
26 Tallo principal y seis macollos	81 Masa muy temprana (resbala al presionar)
27 Tallo principal y siete macollos	83 Masa temprana (elástica, seca y brillante)
28 Tallo principal y ocho macollos	85 Masa suave (firme, marca de la uña no impresa)
29 Tallo principal y nueve o más macollos	87 Masa dura (marca de la uña impresa)
Elongación del tallo o producción de nudos (encañado)	
30 Erección del pseudo tallo	89 Masa dura tardía (difícil de mellar)
31 Primer nudo detectable	Maduración
32 Segundo nudo detectable	91 Grano duro (difícil de dividir; 16% de humedad)
33 Tercer nudo detectable	92 Grano duro (imposible de mellar con la uña)
34 Cuarto nudo detectable	93 Aflojamiento del grano durante el día
35 Quinto nudo detectable	94 Sobre-maduro, paja muerta y en colapso
36 Sexto nudo detectable	95 Semilla inactiva, latente
37 Hoja bandera apenas visible	96 50% de la semilla viable germina
39 Lígula/collar de la hoja bandera apenas visible	97 Semilla no inactiva, no latente
	98 Latencia secundaria
	99 Pérdida de latencia secundaria

Solución de problemas

Problema	Solución
¿Cómo debería identificarse el tallo principal después del macollaje?	El tallo principal puede ser identificado como el más largo y más avanzado (es decir, con mayor número de hojas desarrolladas). Para hacer esto, organice todos los tallos de una sola planta con sus nudos basales juntos y seleccione el vástago más largo desde la base del tallo hasta al ápice de la hoja más reciente y totalmente expandida.
Identificación en campo de la espiguilla terminal (para determinación de GS30) es difícil y/o lenta.	Para la identificación en campo de parcelas múltiples, es más útil identificar el primer nudo detectable a 1 cm por encima del nudo del tallo (GS31).
En los ensayos de estrés por sequía la espiga no ha emergido desde el embuche anterior a la floración (antes)	Para identificar la fecha de antesis para tales ensayos, puede ser necesario abrir la vaina de la hoja bandera para revelar la espiga o para determinar la fecha de antesis retrospectivamente en base a la longitud de desarrollo del grano.
La comparación de los datos de desarrollo entre diferentes genotipos y lugares no muestra clara relación con el tiempo en días calendario.	Es más significativo usar el tiempo térmico, ya que la temperatura dirige la tasa de desarrollo.

Referencias

- Tottman, DR. y Broad, H. (1987) The decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Annals of Applied Biology* 110, 441–454.
- University of Bristol. (2011) Wheat: The big picture. Bristol Wheat Genomics. Disponible en: <http://www.wheatbp.net/> (acceso: 11 Enero 2012).
- Zadoks, JC., Chang, TT. y Konzak, CF. (1974) A decimal code for growth stages of cereals. *Weed Research* 14, 415–421.

Literatura recomendada

- Stapper, M. (2007) *Crop Monitoring and Zadoks Growth Stages for Wheat*. CSIRO Plant Industry, Canberra, ACT.
- Disponible en: <http://www.biologicagfood.com.au/wheatmanagement/crop-monitoring-and-zadoks-growth-stages/> (acceso: 10 Enero 2012).
- Sylvester-Bradley, R., Berry, P., Blake, J., Kindred, D., Spink, J., Bingham, I., McVie, J. y Foulkes, J. (2008) *The Wheat Growth Guide*. Pp. 30, Home-Grown Cereals Authority, 2nd Edition. HGCA, London. Disponible en: <http://www.hgca.com/> (acceso: 6 Enero 2011).

Capítulo 15: Biomasa de temporada

Julián Pietragalla, Debra Mullan y Eugenio Pérez Dorame

El muestreo de biomasa proporciona información sobre el crecimiento y la tasa de crecimiento del cultivo, tamaño de órganos, área foliar y repartición de la materia seca entre los componentes del dosel, sirve para el cálculo de la eficiencia de uso de la radiación, y es también un punto de partida para las mediciones morfológicas y los análisis de nutrientes o metabolitos (por ejemplo, N, P, proteínas, carbohidratos solubles en agua (CHOs o WSC, acrónimo del inglés *water soluble carbohydrates*), etc.). Las condiciones ambientales adversas, como sequía o estrés por calor, pueden reducir considerablemente la producción de biomasa, lo que a su vez reduce la habilidad del cultivo para interceptar la radiación solar, y por consiguiente ralentiza la fotosíntesis y/o la eficiencia de uso de la radiación. Una baja producción de biomasa también provoca la disminución de la cantidad de fotosintatos (como los CHOs) disponibles para ser removilizados durante el llenado de grano. La identificación de genotipos capaces de mantener la producción de biomasa durante condiciones de estrés, es un medio importante en la selección de líneas con mejor adaptación.

Ubicación y condiciones ambientales

Las muestras pueden tomarse bajo casi la mayoría de condiciones ambientales. Sin embargo, es importante que la superficie de las plantas no esté mojada por rocío, riego o lluvia.

Hora del día

El muestreo puede realizarse en cualquier momento, aunque, de ser posible, las muestras deben tomarse en la mañana para tener tiempo suficiente de procesarlas el mismo día.

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden realizarse en cualquier etapa de desarrollo y/o a intervalos regulares desde el inicio del macollaje hasta la madurez fisiológica, dependiendo de los objetivos del experimento/momento de mayor estrés. El muestreo se hace usualmente en etapas de desarrollo/ intervalos consecutivos a través del crecimiento del cultivo. Las etapas más importantes son: inicio de elongación del tallo (GS30/31); inicio de embuche (GS41); antesis + 7 días (GS61+7d); mediados de llenado de grano (GS75); y madurez fisiológica (GS87). Para muestreos en intervalos de tiempo, use un número definido de días después de la emergencia (DDE o DAE, acrónimo del inglés *days after emergence*) (por ejemplo, 20, 40, 60 DDE) hasta que la etapa de desarrollo se torne más evidente.

En etapas tempranas de desarrollo (antes de que el primer nudo se sitúe 1cm por encima del nudo de macollaje) la biomasa es más fácil de muestrear desraizando las plantas del suelo y retirando luego las raíces (las plantas podrían también necesitar lavarse y secarse cuidadosamente, ya que las partículas de suelo pueden adherirse a las hojas inferiores). Estos datos pueden usarse también para calcular la densidad de plantas. Entre las etapas de elongación del tallo y de llenado de grano (GS32-77), la biomasa se muestrea tal como se describe en el presente capítulo. Durante la madurez fisiológica, el muestreo de biomasa se realiza como se describe en el Capítulo 18 de este volumen.

Número de muestras por parcela

Tome un cuadrante simple de muestra por parcela; usualmente se toma un área mayor a 0.25m² en una parte representativa de la parcela.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe el muestreo de biomasa en antesis + 7 días, incluyendo la extracción de sub-muestras para el cálculo del área foliar total o de la hoja bandera, repartición de la biomasa, densidad de tallos, índice de espiga y determinación de CHOs y/o contenido de nutrientes. Ver el Esquema 15.1.

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Bolsas previamente etiquetadas
- Marco (terminación abierta – con forma de ‘U’ – para facilidad de uso)
- Hoz o algún instrumento de corte amplio

Consejos para la toma de mediciones

Cuando se tome la muestra para la medición de biomasa, es importante cortar los tallos lo más cerca posible del suelo, evitando incluir suelo y raíces. En condiciones de sequía el corte de plantas puede ser difícil, ya que se desraizan muy fácilmente. En este caso, es más fácil cortarlas usando tijeras, asegurándose de remover las raíces antes de colocar la muestra en la bolsa.

Las muestras de biomasa deberán mantenerse frías y en la sombra hasta que sean procesadas. Las muestras tomadas para el análisis de CHOs deben mantenerse frías de igual manera y procesarse/secarse rápidamente (dentro de las siguientes 2 horas después del corte) para evitar pérdidas de carbohidratos por respiración. No corte los tallos en pedazos, sólo dóblelos si es necesario (ver Capítulo 16 de este volumen).

Los estudios fisiológicos detallados requieren con frecuencia la repartición del dosel en sus diferentes órganos individuales (es decir, láminas de hojas (todas las hojas/ capas de hojas individuales), vaina, tallo (largo de entrenudos, y pedúnculo) y espiga) para la medición de biomasa y/o contenido de nutrientes. El análisis de repartición se basa generalmente en una muestra mayor a 20 tallos fértiles. Cuando se seleccionan los tallos de la sub-muestra debe tenerse mucho cuidado para asegurar que todo el material vegetativo asociado con los tallos sea incluido. Nótese que los análisis de nutrientes requieren de consideraciones adicionales.

En la mayoría de los casos, las determinaciones de materia seca se realizan en sub-muestras representativas para reducir los requerimientos de espacio necesarios en el horno, tomar mediciones adicionales (por ejemplo, conteo de tallos fértiles), etc.

Organice el/los muestreo(s) para optimizar el uso del horno, y en particular para evitar mezclar muestras frescas con muestras secas.

Preparaciones

1. Prepare las bolsas de muestreo de campo con etiquetas claramente visibles detallando el nombre del experimento, día de muestreo y número de parcela (por ejemplo, bolsas de plástico negras mostradas en la Figura 15.1C). Use dos etiquetas por bolsa – una unida a la bolsa por fuera y otra en el interior de la misma.
2. Prepare bolsas de papel rotuladas para el secado en el horno: bolsas grandes para la sub-muestra de 50 tallos, bolsas medianas para las sub-muestras de 20 tallos/ espigas y bolsas chicas para la repartición de asimilados. Perfore las bolsas para incrementar la eficiencia de secado del horno (por ejemplo, usando una perforadora, asegurándose de seguir un patrón de hoyos similar en cada bolsa; Figura 15.1D).

Mediciones en campo

3. Seleccione una longitud representativa de la parcela, evitando los bordes (ver Figuras 15.1A y B).



Figura 15.1. Muestreo de biomasa de temporada: (A) cortando una muestra cuadrante de 50 cm en antesis + 7 días; (B) usando un marco para cortar una muestra a mediados de la etapa llenado de grano en un tratamiento de sequía; (C) las muestras son colocadas inmediatamente dentro de la bolsa negra de plástico previamente etiquetada, (D) bolsas de papel con hoyos para incrementar la eficiencia del secado en el horno.

4. Use el marco para cortar el área exacta de biomasa en la parcela.
5. Inmediatamente, coloque los tallos cortados en la bolsa negra (verificar etiqueta con número de parcela) – asegúrese de que toda la biomasa sea recolectada cuidadosamente y de que no se incluye suelo o raíces en la muestra.
6. Inmediatamente, coloque las bolsas conteniendo las muestras en la sombra, no permita a las muestras ‘sudar’ bajo el sol (esto podría causar que el agua se condense dentro de la bolsa de plástico, y las plantas pierdan humedad de forma desigual).
7. En cuanto haya terminado de muestrear las parcelas correspondientes, inicie el procesamiento de laboratorio lo más rápido posible.

Mediciones de laboratorio

8. Tare la balanza (colocando una bolsa grande de plástico vacía con 2 etiquetas; ver en este volumen, Capítulo 22).
9. Inmediatamente, pese el peso fresco total del cuadrante de muestra cortada con el marco (PF_M)

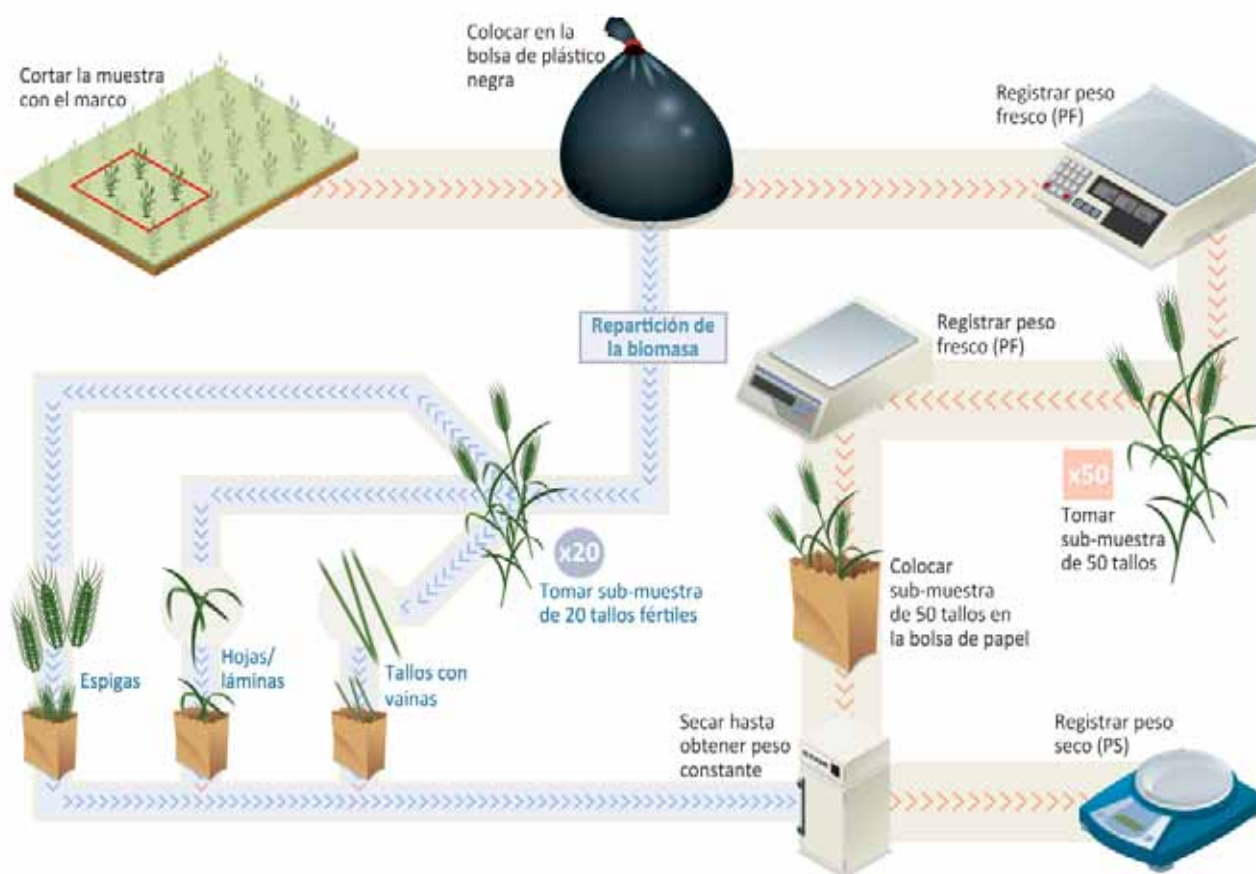
de todas las muestras. Asegúrese de que todas las bolsas que contienen muestras son colocadas adecuadamente en la balanza.

Determinación de tallos fértiles:

10. De la muestra tomada con el marco, seleccione al azar una sub-muestra de 50 tallos verdes (es decir, que la hoja más joven sea verde) y pésela (PF_SM50). No es importante que estos tallos sean fértiles (es decir, con espigas), pero sí lo es tener una mezcla representativa de todas las distintas clases de tallos.
11. Dentro de la sub-muestra de 50 tallos verdes, cuente el número de aquellos que se encuentren en embuche o que tengan espigas visibles.
12. Coloque el PF_SM50 dentro de la bolsa grande de papel rotulada para su secado en el horno y la determinación del peso seco (verifique el número de parcela).

Repartición de biomasa:

13. De la muestra total tomada con el marco, seleccione al azar una sub-muestra de 20 tallos fértiles, asegurándose de que todos los tallos tengan una espiga bien formada.



Esquema 15.1. Medición de la biomasa de la temporada, con la repartición opcional del tallo en sus componentes individuales.

14. Corte la espiga del tallo a nivel del cuello de la misma.
15. Cuente de nuevo los tallos para garantizar que hay 20 tallos y 20 espigas.
16. De los 20 tallos, remueva las láminas foliares (y sepárelas por capas: hoja bandera, hoja 2, etc.; o amontone todas las láminas foliares), corte los tallos en entrenudos (como se requiera) o sólo doble los tallos para la determinación de CHOs (para evitar pérdidas de CHOs desde las terminaciones de los cortes). Note que la vaina se remueve más fácilmente del tallo una vez que éste está seco.

Determinación del área de la hoja bandera o del área total de hojas:

17. De una lámina foliar, separe el tejido verde del material amarillento/muerto y determine el área verde usando un planímetro automático (ver en este volumen, Capítulo 12). Asegúrese de regresar todo el material vegetal a la bolsa etiquetada con la sub-muestra de 20 tallos para la determinación de materia seca.

Determinación del peso seco:

18. Coloque los tallos, espigas y otros componentes separados de la planta dentro de bolsas de papel pequeñas o medianas, separadas y etiquetadas (verifique el número de parcela). No es necesario pesar el PF de estas sub-muestras de componentes de las plantas.
19. Introduzca todas las sub-muestras en un horno bien ventilado/de aire forzado a 60-75°C hasta que alcancen un peso constante (usualmente por al menos 48 horas). Incluya bolsas de papel limpias y vacías para usarlas como 'TARA'.

20. Retire las sub-muestras del horno y permita que se enfríen a la temperatura ambiental (pero no espere demasiado, ya que pueden absorber humedad del aire). Mantenga las muestras en las bolsas (para impedir pérdidas de biomasa).
21. Coloque la bolsa de papel apropiada vacía en la balanza y póngala nuevamente en ceros ('TARAR').
22. Registre el peso seco (PS_SM50; y/o PS_SM20_tallo, PS_SM20_espiga, PS_SM20_lámina foliar (hojas), etc.).

Determinación de carbohidratos solubles en agua (CHOs):

Retire las hojas y las vainas del tallo en la sub-muestra de 20 tallos. Pese los tallos y tritúrelos (usando un molino para material vegetal o un molino normal), y envíelos para análisis de CHOs para calcular la concentración de carbohidratos solubles (ver en este volumen, Capítulo 16).

Determinación del contenido de nutrientes:

El análisis de nutrientes (por ejemplo, para el porcentaje total de nitrógeno (N)) de toda la planta o de sus órganos de manera individual (es decir, todas las láminas/capas de hojas individuales, vainas, tallos, espigas, etc.) requiere una sub-muestra de 20 tallos. El material vegetal es secado, triturado y convertido en un polvo fino, y sellado en un contenedor hermético (para prevenir re-absorción de humedad). Sólo una pequeña sub-muestra es sometida al análisis (usualmente se requiere ≤1 gramo). Esta cantidad debe considerarse especialmente para muestras pequeñas, ya que las pérdidas de material ocurren durante el procesamiento de las muestras. Asegúrese de verificar los requerimientos del proceso específico del laboratorio.

Datos y cálculos

Tabla 15.1. Fórmulas y ejemplo para el cálculo de la biomasa y sus componentes a partir de la muestra de biomasa de la temporada.

Componente	Fórmula por cuadrante o marco	Cálculo por cuadrante*	Por área del cuadrante	Por m ² **
PS de la biomasa	PF_Q x (PS_SM50 / PF_SM50)	3000 x (120 / 500)	720 g	900 g
Número de tallos	PF_Q / (PF_SM50 / 50)	3000 / (500 / 50)	300 tallos	375 tallos m ²
Número de tallos fértiles	(No. de tallos fértiles en PF_SM50 / 50) x No. de tallos por Q	(35 / 50) x 300	210 tallos fértiles	263 tallos fértiles m ²
Índice de espiga	PS_SM20_espiga / (PS_SM20)	15 / (40 + 15)	0.27	0.27
PS de hojas	(PS_SM20_hojas / PS_SM20) x PS_Q	(10 / 55) x 720	131 g	164 g m ²
Contenido de N en hojas	PS_hojas x Contenido de N	131 x 3%	3.93 g N	4.91 g N m ²

Donde: PF = peso fresco; PS = peso seco; Q = marco; SM = sub-muestra; 50 = número de tallos verdes en la sub-muestra; 20 = número de tallos fértiles en la sub-muestra de repartición de biomasa en el tallo.

* Supuestos: área cuadrática = 0.80 m²; PF_Q = 3000 g; PF_SM50 = 500 g; PS_SM50 = 120 g; PS_SM20 = 40 g; y PS_SM20_espiga = 15 g; PS_SM20_hojas = 10 g; %N en hojas = 3%. Hay 35 tallos fértiles en la sub-muestra de tallos verdes.

** Los datos generalmente son expresados en m², calculados multiplicando el valor cuadrático por el área muestreada por el marco (es decir, largo del marco (0.5 m) x ancho (1.6 m) = 0.8 m²; por lo tanto 1/0.80 = 1.25 x por marco).

Concentraciones frecuentes de nitrógeno para trigo en floración cultivado en campo son: lámina foliar (hoja), 2-4 %N; vaina de hoja, 1-2 %N; tallo, 1-2% de N; y espiga, 1-3 %N. Los estudios de removilización de nutrientes requieren de dos o más puntos de muestreo (es decir, floración + 7 días y madurez). Es muy ventajoso marcar los tallos uniformes en cuanto a morfología y fenología antes del muestreo inicial para incrementar la comparabilidad de los datos.

La tasa de crecimiento relativa, (TCR o RGR, acrónimo del inglés '*relative growth rate*'; g PS día⁻¹) es el cambio en el peso seco total del cultivo por unidad de área por

unidad de tiempo. La determinación de la TCR requiere de mediciones secuenciales de la biomasa a lo largo del ciclo de crecimiento del cultivo. Pueden usarse valores logarítmicos transformados (ln) para PS para incrementar el ajuste de la curva. La TCR varía principalmente con la radiación interceptada (ver Monteith, 1994):

$$RGR = \frac{PS_2 - PS_1}{t_2 - t_1} \quad \text{Ecuación 15.1}$$

Donde: PS = peso seco del cultivo (g m⁻²); y t = tiempo (días) del primero (1) y segundo (2) muestreo.

Solución de problemas

Problema	Solución
La superficie de las hojas está húmeda por el rocío, riego y/o lluvia.	Espera a que la superficie de las plantas esté seca (por ejemplo, debido al rocío por la mañana) ya que el agua en la superficie causará inexactitud en las mediciones de biomasa debido a la toma de sub-muestras.
Hay variación en fenología entre las parcelas dentro del experimento.	Tal vez sea necesario cortar las muestras de biomasa sobre un mismo periodo de tiempo para permitir la comparación de los datos en una etapa de desarrollo definida. Es importante planear de antemano los muestreos para prever estas variaciones.
¿Qué tallos deben ser incluidos en la sub-muestra de 50 tallos?	Esta sub-muestra debe reflejar la consistencia de la muestra de biomasa. Los tallos deben tener un tallo, pero no necesariamente una espiga.
¿Qué hacer cuando se pierde material al cortar y/o al sacar la sub-muestra de tallos?	Es muy importante que todo el material asociado a los tallos se mantenga mientras se corta y/o se toma la sub-muestra. En el campo, asegúrese de revisar cuidadosamente el área del cuadrante muestreada y recoger cualquier material que se haya caído después de cortar.
Todas las muestras de biomasa no pueden ser procesadas en el laboratorio el mismo día.	El material vegetal cortado puede mantenerse guardado a 4°C hasta por 4 días antes de procesarse (no guarde muestras para análisis de CHOs).
Cuando se separan los componentes de los tallos frescos es muy difícil separar la vaina del tallo verdadero.	Es mucho más fácil y rápido remover la vaina de los tallos después de secarlos.

Referencias

- Atwell, B.J., Kriedemann, P.E. y Turnbull, G.N. (1999) Plant biomass. In: *Plants in action: adaptation in nature, performance in cultivation*. Macmillan Publishers, Australia. Disponible en: <http://plantsinaction.science.uq.edu.au/editon1/?q=content/6-1-2-plant-biomass> (acceso 20 Diciembre 2011).
- Monteith, J.L. (1994) Validity of the correlation between intercepted radiation and biomass. *Agricultural and Forest Meteorology* 68, 213–220.

Capítulo 16: Contenido de carbohidratos solubles en agua

Julián Pietragalla y Alistair Pask

Los carbohidratos solubles en agua (CHOs o WSC, acrónimo del inglés *water soluble carbohydrates*) son azúcares como fructano, sucrosa, glucosa y fructosa, que se acumulan en los tallos como reservas. Los CHOs se acumulan hasta alrededor de la antesis y se reparten hacia los tallos, desde donde estarán disponibles más adelante como un reservorio para su re-movilización hacia los granos en desarrollo. Estas reservas son una fuente importante de carbono para el llenado de grano, ya que la demanda de los granos con frecuencia es superior a la asimilación común, contribuyendo potencialmente con el 10-20% del rendimiento de grano bajo condiciones favorables. En particular, se ha demostrado que esta característica es adaptativa para condiciones de sequía, calor y/o tolerancia al estrés por enfermedades cuando el suministro de carbohidratos por parte de la fotosíntesis durante el llenado del grano es inhibido/limitado, y los CHOs almacenados podrían contribuir hasta en un 50% del rendimiento del grano. Por ejemplo, bajo estrés por sequía terminal (como sucede en ambientes de Australia donde el agua no se haya disponible en suelos profundos), los CHOs han demostrado amortiguar la producción de biomasa, rendimiento de grano y el índice de cosecha (HI, acrónimo del inglés *harvest index*), lo cual se asocia con el aumento de la absorción de agua (WU, acrónimo del inglés *water use*) y el uso eficiente del agua (WUE, acrónimo del inglés *water use efficiency*). El mejoramiento de genotipos basado en la característica de mayor almacenamiento en el tallo y a la vez mayor re-movilización de CHOs, podría resultar en un mejor llenado de grano y aumento del rendimiento.

La acumulación de CHOs es una función de las características genéticas - específicamente de la capacidad de almacenamiento del tallo - y del medio ambiente que influirá en las mismas, así como en la posterior disponibilidad de asimilados para su almacenamiento. La cantidad total de CHOs puede ser de 40% o más del total de la masa seca del tallo cuando los niveles de CHOs llegan al máximo durante el inicio de llenado de grano (Kiniry, 1993; Reynolds et al., 2009).

El almacenamiento de CHOs puede mostrar una compensación de la inversión de recursos en otros sumideros de destino tales como el crecimiento de raíces más profundas (Lopes y Reynolds, 2010), supervivencia de macollos o el desarrollo de espigas. La mayor proporción de CHOs se encuentra en el pedúnculo y en el penúltimo entrenudo, por lo cual, las líneas con mayor altura de planta con pedúnculos largos tienden a tener una mayor capacidad. Los CHOs pueden ser expresados como una concentración en masa seca (ya sea como un porcentaje

(%CHOs) o como mg g^{-1}) para demostrar el potencial de la capacidad de almacenamiento del tallo del genotipo; o como el contenido por tallo (g tallo^{-1}) o por unidad de área (g m^{-2}) para dar una medida absoluta de los carbohidratos disponibles para el grano.

Ubicación y condiciones ambientales

Las muestras pueden tomarse bajo la mayoría de condiciones ambientales. Sin embargo, es importante que la superficie de la planta no esté mojada por el rocío, riego o la lluvia.

Hora del día

Las muestras deben tomarse por la mañana, ya que es la hora más fresca del día para reducir la pérdida de los carbohidratos por respiración, y permite contar con el tiempo necesario para procesar las muestras el mismo día.

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden tomarse en cualquier etapa de desarrollo a partir del final de la elongación del tallo, y/o a intervalos regulares desde mediados de antesis hasta la madurez fisiológica, dependiendo de los objetivos experimentales/momento de máximo estrés:

- Para el máximo contenido de CHOs: tome muestras en antesis + 7 (bajo sequía) a 14 días (bajo condiciones favorables). Note que en condiciones de estrés severo, el pico máximo de CHOs puede ocurrir antes de la antesis.
- Para la medición de los cambios en la acumulación y removilización de CHOs y la: tome muestras secuenciales desde antesis hasta la madurez fisiológica; cada 7-14 días.

Número de muestras por parcela

Tome una muestra de 20 tallos por parcela.

Procedimiento

El siguiente procedimiento describe la determinación de la concentración de CHOs de tallos principales fértiles seleccionados al azar, alternativamente los tallos pueden seleccionarse a partir de las muestras de biomasa de la temporada tomadas en antesis +7 días (véase en este volumen, Capítulo 15). Vea el esquema 16.1.

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Bolsas de papel pre-etiquetadas
- Tijeras de podar o cuchillo

Consejos para la toma de mediciones

Colecte la muestra de tallos en bolsas de papel que tengan una ventilación adecuada para permitir un secado uniforme (por ejemplo, con agujeros perforados en la bolsa). Es importante que las muestras se mantengan frescas y procesadas, y luego secadas lo más rápido posible para reducir la pérdida de carbohidratos por respiración— por lo general dentro de las 2 horas a partir del corte.

La toma de muestras para CHOs se realiza a menudo en combinación con el muestreo de biomasa y de la partición durante el cultivo (véase en este volumen, en el Capítulo 15). Asegúrese de planear cuidadosamente el método de muestreo para permitir la recolección máxima de datos y un muestreo económico (por ejemplo, los datos de pesos de los fraccionamientos pueden colectarse en la misma muestra de 20 tallos). La lámina de la hoja y/o la vaina de la hoja también pueden analizarse para CHOs por separado, o sin eliminarse del tallo para el análisis del tallo completo.

Preparaciones

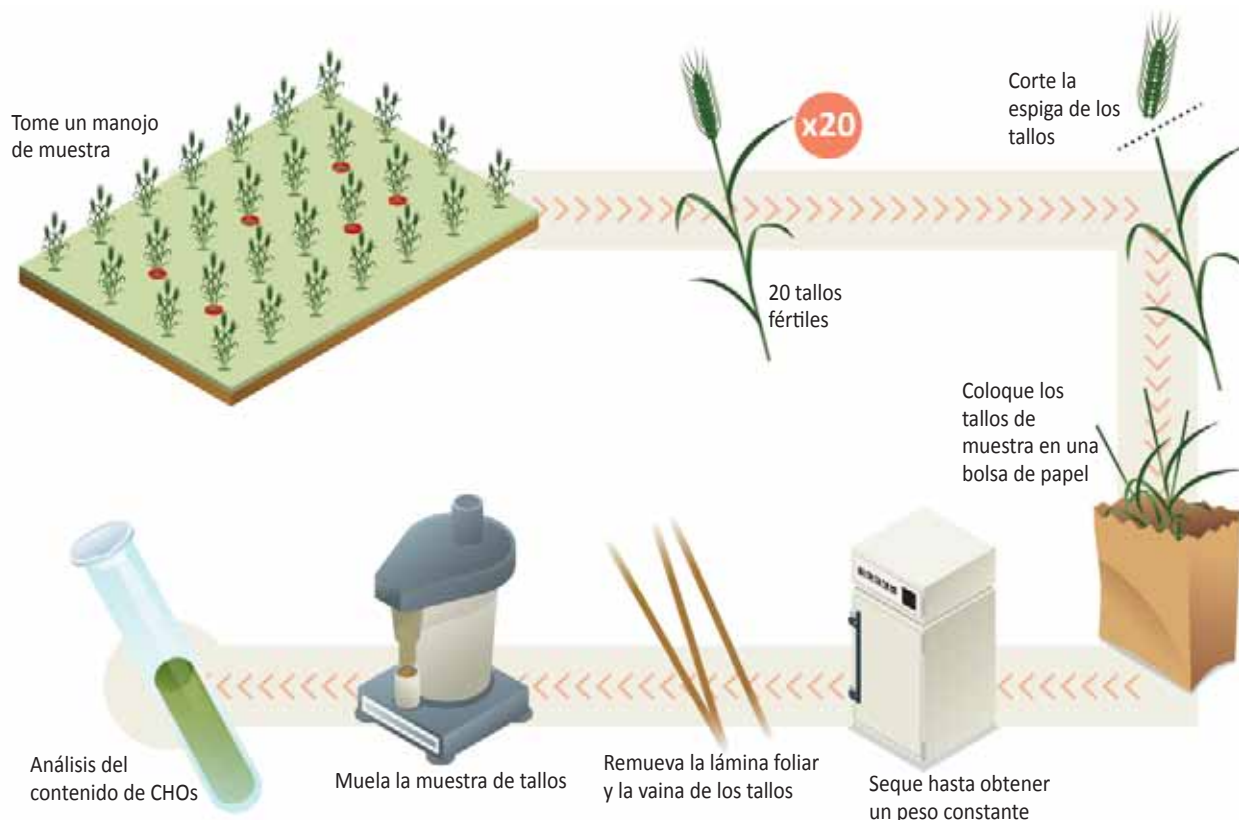
1. Prepare bolsas de papel etiquetadas para secado en el horno: use bolsas de tamaño mediano con agujeros perforados para aumentar la eficiencia de secado en el horno (use un perforador, y asegúrese de que tenga un patrón de agujeros similar en cada bolsa).

Mediciones de campo

2. Seleccione al azar 20 tallos principales fértiles de cada parcela, asegurándose de que todos los tallos tengan una espiga bien formada. (Figura 16.1A).
3. Colóquelos en una bolsa de papel pre-etiquetada.
O bien, seleccione al azar una sub-muestra de 20 tallos de la muestra de biomasa de la temporada (como se detalla en este volumen, Capítulo 15).

Mediciones de laboratorio

4. Corte la espiga del tallo a nivel del cuello de la espiga.
5. Introduzca en el horno todas las muestras de tallos a 60-75 °C hasta que alcancen un peso constante (es decir, durante al menos 48 horas).
6. Retire la lámina foliar y la vaina de los tallos (Figura 16.1B).
7. Pese la muestra de tallos secos (para el cálculo del contenido de CHOs por tallo o por unidad de área) (PS_20 tallos).
8. Triture la muestra de tallos (por ejemplo, usando un molino con una criba de 0.5 mm). Asegúrese de limpiar el molino cuidadosamente entre muestra y muestra (Figura 16.1C).
9. Coloque la muestra molida en un sobre etiquetado.



Esquema 16.1 Determinación de la concentración de CHOs en tallos de trigo.

Análisis

El análisis de las muestras preparadas suele ser realizado en un laboratorio especializado externo: (A) por el método Antrona (costo US\$ 5.00 por muestra), o (B) por escaneado por espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS), utilizando una curva de calibración (costo US\$ 0.5 por muestra). NIRS es un método indirecto, pero tiene la ventaja de proporcionar también el % de N cuando se utiliza una curva de calibración con un % N (véase la Figura 16.2).

Método Antrona para la concentración de CHOs

Esta es una estimación colorimétrica cuantitativa para el contenido de carbohidratos de una solución. Cuando los carbohidratos se calientan con antrona en medio ácido, se produce un color verde (para más detalles véase Yemm y Willis, 1954).

Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano mediante curvas de calibración

La espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) puede utilizarse para estimar la concentración de



Figura 16.1. Muestreo para el contenido de CHOs: (A) toma de 20 tallos en campo, (B) eliminación a mano de láminas foliares y vainas de los tallos secos, y (C) molienda de las muestras de tallo seco con un molino de ciclón.

CHOs utilizando ecuaciones de predicción desarrolladas y validadas mediante los resultados de los análisis químicos por el método Antrona. Las muestras se escanean a 1585-1595 y 1900-2498 nm. Una curva de calibración diferente se requiere para las diferentes etapas de desarrollo y medio ambiente. Nótese que cuando se utiliza NIRS, se recomienda repetir el análisis del 5% de las muestras analizadas por el método Antrona para verificar la calibración (véase la Figura 16.2).

Datos y cálculos

Los datos generalmente se entregan como % de CHOs en materia seca, los mismos que pueden utilizarse para calcular el contenido de CHOs por tallo (g tallo^{-1}) o por unidad de área (g m^{-2}):

$$\text{CHOs (g tallo}^{-1}\text{)} = \% \text{CHOs} \times ((\text{PS}_{20\text{tallos}}) / 20)$$

Ecuación 16.1

$$\text{CHOs (g m}^{-2}\text{)} = \text{CHOs (g tallo}^{-1}\text{)} \times \text{tallos m}^{-2}$$

Ecuación 16.2

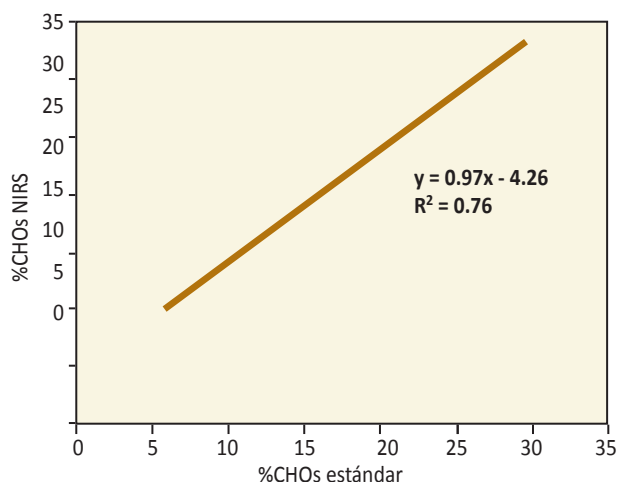


Figura 16.2. Curva de calibración para estimar la concentración de CHOs (%) a partir de los valores de espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano en antesis (adaptado de Pinto *et al.*, 2006).

En condiciones óptimas, los rangos de concentración máxima de CHOs oscilan entre 10-25%; el contenido de CHOs por cada 2 g de tallo es de 0.2-0.5 g tallo⁻¹, y, el

contenido de CHOs por m⁻² a una densidad de tallos de 300 m⁻² es de 60-100 g m⁻².

Solución de problemas

Problema	Solución
Alto error de varianza en los datos	<p>Verifique que el molino esté rectificado a 0.5 mm y criba cuidadosamente para asegurar una buena distribución de las partículas de la muestra.</p> <p>Cuando muele las muestras, es importante que el molino sea cuidadosamente limpiado entre muestra y muestra para evitar una contaminación cruzada.</p> <p>Asegúrese de re-secar las muestras antes del análisis con NIRS para eliminar cualquier humedad reabsorbida que pueda afectar las lecturas.</p>

Referencias

- Kiniry, JR. (1993) Nonstructural carbohydrate utilisation by wheat shaded during grain growth. *Agronomy Journal* 85, 844–849.
- Lopes, MS. y Reynolds, MP. (2010) Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biology* 37, 147–156.
- Pinto, S., González, H., Saint Pierre, C., Peña, J. y Reynolds, MP. (2006) Obtención de un modelo matemático para la estimación de carbohidratos solubles en paja de trigo (*Triticum aestivum*) mediante reflectancia espectral cercana al infrarrojo (NIRS 6500). *VI Congreso Nacional de la Asociación Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal (ANABAF A.C.)*, ITSON, Cd Obregón, Sonora, 22-25 Octubre 2006.
- Reynolds, MP, Manes, Y., Izanloo, A. y Langridge, P. (2009) Phenotyping approaches for physiological breeding and gene discovery in wheat. *Annals of Applied Biology* 155, 309–320.
- Yemm, EW. y Willis, AJ. (1954) The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. *The Biochemical Journal* 57, 508–514.

Literatura recomendada

- Blum, A. (1998) Improving wheat grain filling under stress by stem reserve mobilization. *Euphytica* 100, 77–83.
- Dreccer, MF., van Herwaarden, AF. y Chapman, SC. (2009) Grain number and grain weight in wheat lines contrasting for stem water soluble carbohydrate concentration. *Field Crops Research* 112, 43–54.
- Pollock, CJ. (1986) Fructans and the metabolism of sucrose in vascular plants. *New Phytologist* 104, 1–24.
- Rebetzke, GJ., Van Herwaarden, AF., Jenkins, C., Weiss, M., Lewis, D., Ruuska, S., Tabe, L., Fett ell, NA. y Richards, RA. (2008) Quantitative trait loci for water soluble carbohydrates and associations with agronomic traits in wheat. *Australian Journal of Agricultural Research* 59, 891–905.
- Ruuska, S., Rebetzke, GJ., Van Herwaarden, AF., Richards, RA., Fett ell, N., Tabe, L. y Jenkins, C. (2006) Genotypic variation for water soluble carbohydrate accumulation in wheat. *Functional Plant Biology* 33, 799–809.
- Van Herwaarden, AF., Farquhar, GD., Angus, JF., Richards, RA. y Howe, GN. (1998) 'Haying-off', the negative grain yield response of dryland wheat to nitrogen fertilizer. I. Biomass, grain yield, and water use. *Australian Journal of Agricultural Research* 49, 1067–1081.
- Xue, GP., McIntyre, CL., Jenkins, CLD., Glassop, D., Van Herwaarden, AF. y Shorter, R. (2008) Molecular dissection of variation in carbohydrate metabolism related to water-soluble carbohydrate accumulation in stems of wheat. *Plant Physiology* 146, 441–454.

Capítulo 17. Muestreo de suelo para la determinación de contenido de humedad, nutrientes y raíces

Marta Lopes, J. Israel Peraza Olivas y Manuel López Arce

El muestreo de suelo proporciona información sobre la disponibilidad y uso de los recursos (es decir, agua y nutrientes), así como de la interacción entre la planta y suelo (es decir, raíces). Los datos sobre el contenido de agua y nutrientes en el suelo permiten la estimación de la cantidad disponible para la planta y su distribución en los perfiles de suelo; permitiendo realizar el cálculo de la cantidad utilizada por el cultivo; la eficiencia de consumo y la estimación de la eficiencia de uso para la producción de biomasa y rendimiento. Los datos de raíces proporcionan información sobre características específicas del sistema de raíces del cultivo: profundidad, densidad de enraizamiento y distribución. Estas consideraciones son importantes en el mejoramiento para calor y sequía, y para explicar las interacciones entre estos datos con las variables del clima y el ambiente. Los sistemas de raíces son conocidos por ser un componente importante de la adaptación a la sequía (Drecker *et al.*, 2007; Lopes y Reynolds, 2010).

Aunque hay muchos instrumentos disponibles enfocados en el dosel para la estimación indirecta del consumo de agua, nutrientes y arquitectura de raíces; el muestreo de suelo permanece como una de las mediciones más precisas para obtener esta información. Las muestras de suelo a una profundidad de 120 cm pueden obtenerse ya sea de forma manual (con una barrena manual) o hidráulicamente (con una barrena hidráulica montada en un tractor), y luego pueden secarse y analizarse y/o lavarse para medir el contenido de agua, nutrientes o raíces, respectivamente. De cualquier forma, se debe tener en cuenta que el muestreo y procesamiento de muestras de suelo es una labor intensiva y que toma tiempo, especialmente en suelos secos y/o compactados, por lo que no es un método adecuado para realizar una evaluación rápida en ensayos grandes.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones pueden realizarse en la mayoría de las condiciones ambientales. Sin embargo, es muy importante que el suelo no esté extremadamente húmedo, ya que esto restringe y hace extremadamente difícil el movimiento del equipo en el campo.

Hora del día

Las mediciones pueden tomarse a cualquier hora del día, aunque cuando sea posible, las muestras deben tomarse por la mañana para permitir que sean procesadas el mismo día.

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones pueden realizarse en cualquier estadio de desarrollo o a intervalos regulares desde el inicio del

macollaje hasta la madurez fisiológica, dependiendo de los objetivos del experimento/momento de máximo estrés. El muestreo se lleva a cabo regularmente justo después del muestreo de biomasa (lo cual también evita efectos adversos del daño de las raíces sobre la productividad de la planta, véase en este volumen, Capítulo 15). Para biomasa total de raíces, tome muestras desde anthesis + 7 días hasta mediados de llenado de grano.

Número de muestras por parcela

Tome de 4-6 muestras de suelo por parcela. Sin embargo, como el suelo es extremadamente heterogéneo, los datos de humedad de suelo y raíces pueden ser muy variables dentro de una parcela, por lo que es aconsejable incrementar las repeticiones donde sea posible.

Procedimiento

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Barrena de suelo manual (por ejemplo, de 25 mm de diámetro)/ tractor con barrena hidráulica (por ejemplo, de 42 mm de diámetro; Figura 17.1) x 120 cm y herramientas necesarias.
- Lubricante (por ejemplo, aceite de motor usado)
- Bolsas de plástico previamente etiquetadas.
- Cinta de medir (para medir secciones de 30 cm del centro)
- Bolsas de plástico de repuesto y marcadores indelebles

Y, en el laboratorio se requiere de:

- Balanza de 2 decimales
- Botes de aluminio con tapa (u hojas de aluminio), enumerados
- Pinzas
- Horno (de 105 °C, sin ventilación forzada, para que el suelo no se pierda por la corriente de aire creada al interior del horno).

Consejos para la toma de mediciones

Usualmente, las muestras de suelo se toman después del muestreo de biomasa para evitar daño/disturbios en el cultivo, y para relacionar los datos con el crecimiento del cultivo; o para seleccionar los lugares donde muestrear de manera aleatoria (para evitar parcialidad) de todas las hileras experimentales de la parcela. Para la determinación del consumo de agua por el cultivo, las muestras de suelo deben tomarse después de cada riego para medir el contenido de agua en t_0 (es decir, tiempo = cero). Cuando sea posible, evite hacer muestreos cerca de las grietas de suelo (ya que éstas afectan a la dinámica del suelo), y de cualquier otro objeto obvio que pueda obstruir la medición (tales como piedras grandes).

Tomar y procesar muestras de suelo es un proceso que requiere de tiempo, especialmente en suelos secos y compactados. El tiempo aproximado para hacer un muestreo individual a mano requiere de 5 (suelos bajo riego) a 15 (suelos secos) minutos, y con una barrena hidráulica de 2 a 5 minutos. El tiempo de procesamiento en laboratorio es por lo menos otros 10 minutos. Distribuya el tiempo cuidadosamente; es importante que las muestras se obtengan de todas las parcelas dentro del mismo día o en dos días para evitar efectos de confusión debidos a cambios ambientales en el tiempo.

El muestreo manual del suelo es ventajoso para un número pequeño de muestras, para minimizar disturbios en la parcela (por ejemplo, mientras las plantas están en una etapa temprana de desarrollo), cuando las condiciones del campo son poco accesibles, y porque es considerablemente más económico. El muestreo con barrena hidráulica es ventajoso para muestras numerosas, para perfiles de suelo más profundos y para tomar muestras más amplias para analizar el contenido de raíces. Sin embargo, el uso de un tractor dentro del campo durante el ciclo del cultivo puede causar daños en las parcelas. Asegúrese de incorporar estas consideraciones dentro del diseño experimental/ diseño de muestreo y (si es posible) coloque ruedas altas y delgadas al tractor (véase la Figura 17.1A).

Evite aplicar demasiada presión sobre la barrena (es decir, no permita que el tractor se levante). Esto podría dañar permanentemente el taladro, provocando compactación del

suelo, y puede ser muy peligroso para el operador si la barrena se llegara a romper. En ciertos tipos de suelo, la compactación puede ser un serio problema cuando se realiza el muestreo. Si esto ocurriese durante la obtención de una muestra, se requerirá tomar la muestra de nuevo.

Cuando use la barrena hidráulica para muestreos de suelo profundo (regularmente >90cm) el pasador en el pistón hidráulico deberá ajustarse durante el muestreo con el fin de alcanzar estas profundidades.

Preparaciones

Revise el tractor y el brazo hidráulico: conexiones de mangueras y aceite hidráulico, y engrase la barra guía y el pistón hidráulico. Asegúrese de que la barrena esté a nivel y que la perforación se realice en el plano vertical.

1. Pese los botes de aluminio con tapa - los cuales deberán estar limpios y secos - para sub muestras de suelo, con una báscula de hasta 2 decimales (“peso del bote vacío”).
2. Prepare bolsas de plástico etiquetadas con el número de parcela y la profundidad de suelo (es útil para abreviar las profundidades 0-30 cm, 30-60 cm, 60-90 cm y 90-120 cm con A, B, C y D respectivamente).

Mediciones en campo

3. Inserte la barrena manualmente o hidráulicamente en el suelo a una profundidad de 120 cm (para trigos de primavera) o hasta 200 cm (para trigos de invierno). Se debe tener cuidado para evitar la compactación del suelo de la muestra.



Figura 17.1. Muestreo de suelo utilizando (A) un tractor con una barrena de suelo hidráulica “Giddings”; y, (B) una barrena manual.

4. Extraiga cuidadosamente la barrena que contiene la muestra.
5. Corte la muestra de suelo en secciones de tamaño específico (por ejemplo, 30 cm) y coloque cada una en sus respectivas bolsas de plástico, y luego amarre ajustadamente para evitar pérdida de humedad (Figura 17.2B).
6. Las muestras de suelo deberán ser procesadas inmediatamente, o manténgalas refrigeradas a 6-8 °C.

Mediciones de laboratorio

Determinación del contenido de humedad del suelo

(Véase el esquema 17.1):

1. Complete el formato de muestreo de suelo; incluyendo el número de parcela, profundidad (ejemplo, 0-30 cm, 30-60 cm, etc.) y el número del bote de aluminio, con espacios para peso fresco y seco de las muestras.
2. Organice las bolsas con las muestras de suelo por número de parcela y profundidad.
3. ANTES de abrir la bolsa de plástico, rompa y mezcle la muestra de suelo tanto como sea posible y reincorpore cualquier humedad/condensación.
4. Ahora abra la bolsa de plástico y llene un bote de aluminio numerado con una sub muestra de suelo lo suficientemente bien mezclada.
5. Remplace cuidadosamente la tapa del bote de aluminio y limpie la parte exterior.
6. Pese el bote de aluminio con la tapa y sub muestra de suelo con una báscula de 2 decimales (“bote + suelo fresco”).
7. Seque las sub muestras de suelo en un horno a 105°C por 48 horas, con las tapas entreabiertas para permitir la evaporación (Figura 17.2 C).
8. Retire las muestras del horno y permita que se enfríen a temperatura ambiente (pero no por mucho tiempo, ya que podrían absorber humedad del ambiente).
9. Vuelva a pesar las muestras con una báscula de 2 decimales (“bote + suelo seco”).

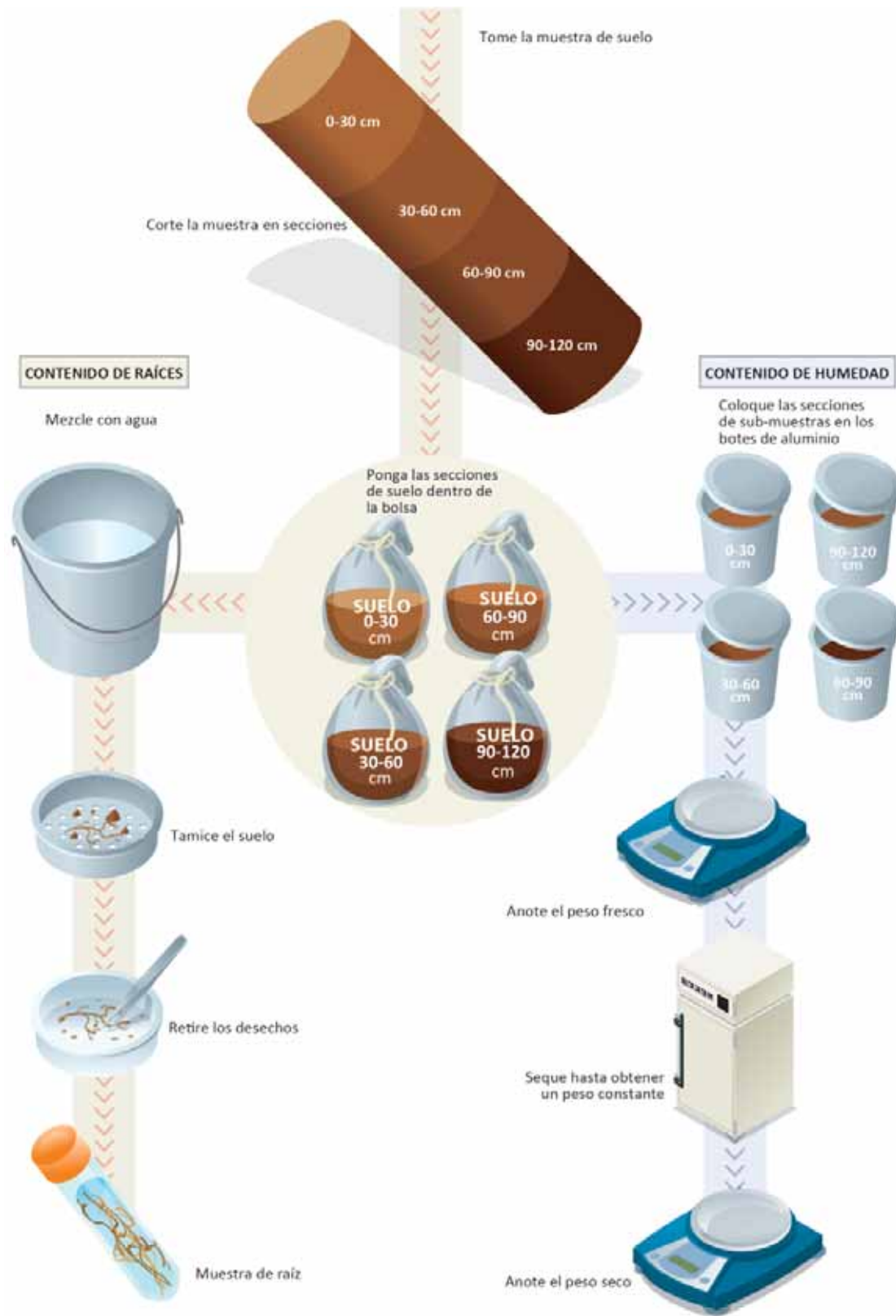
Determinación del contenido de raíces

(Véase el esquema 17.1):

1. **Lavado, limpiado y pesado de raíces:** Este método es laborioso y toma mucho tiempo (Figura 17.3). Cuidadosamente, use agua para separar el tejido radicular del suelo y otros desechos dentro de la muestra de suelo. Lave y limpie cada muestra por el mismo tiempo y de la misma manera para hacer un comparativo de muestras. Cada muestra puede tomar hasta 1 hora para procesar y pesar. Puede utilizarse un lavador de raíces automático (por ejemplo, RWC-UM-2, de Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK).
 - i. Agregue agua a las muestras de suelo mientras están aún en la bolsa de plástico, mezcle suavemente, amárrela y déjela reposar durante la noche.
 - ii. Transfiera el suelo y el agua mezclada a una bandeja, agite suavemente a mano, espere unos minutos y decante el agua a través de un tamiz de 500 µm para recuperar las raíces. Remueva el material y desechos vegetales grandes a mano.
 - iii. Recolecte las raíces y colóquelas en un tubo de plástico a prueba de calor.
 - iv. Repita el proceso de lavado por lo menos tres veces, ya que las raíces pueden permanecer en el suelo decantado en el fondo de la bandeja.
 - v. Añada una solución del 15% de alcohol al tubo (para preservar la muestra de raíces).
 - vi. Almacene las raíces a 4-6 °C.



Figura 17.2 Muestreo de suelo: (A) muestreo en el corte de biomasa con múltiples muestreos por parcela; (B) muestra de suelo colocada en una bolsa plástica etiquetada; y (C) sub-muestras de suelo secándose (tapas ligeramente entreabiertas para permitir que la humedad se evapore).



Esquema 17.1. Determinación del contenido de humedad del suelo y de contenido de raíces de una muestra de suelo de campo.

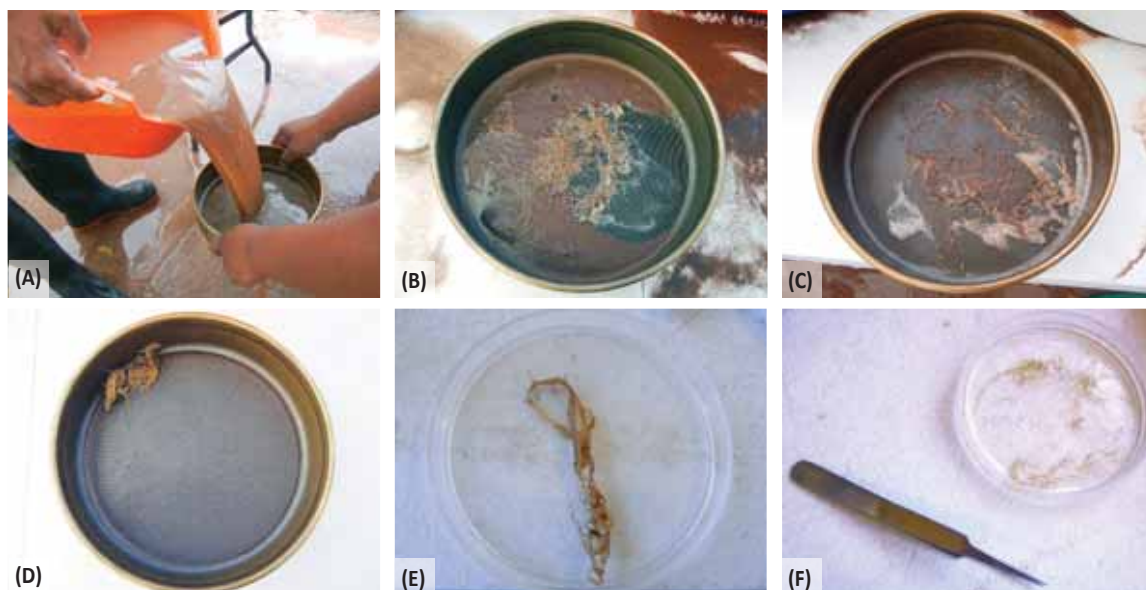


Figura 17.3. Lavado y limpieza de raíces: (A) la mezcla de suelo y agua es decantada a través de un tamiz; (B) se usa agua limpia para limpiar la muestra repetidamente; (C) mezcla final de raíces y desechos orgánicos; (D) muestra de raíces limpiada a vista; (E) muestra de raíz lista para limpiarse a mano utilizando pinzas de precisión; y (F) una muestra completa.

- vii. Limpie a mano las muestras de raíces utilizando pinzas de precisión. Nótese que las raíces son frágiles y deben limpiarse con mucho cuidado. Retire todo el material que no sean raíces vivas, especialmente raíces muertas, las cuales pueden ser identificadas por su color oscuro y su falta de elasticidad y flexibilidad, lo cual es característico de raíces vivas.
 - viii. Seque las muestras de raíces en tubos a 60-75 °C por 24 horas.
 - ix. Permita que se enfríen y péselas en una báscula de hasta 3 decimales.
- 2. Análisis rápido de raíces:** Este método es muy rápido y proporciona información sobre el contenido de raíces para la comparación de genotipos. Se emplea mejor cuando se espera que haya una gran diferencia entre cultivares y cuando el tiempo de medición es limitado. El método utiliza la observación visual de las muestras de suelo y requiere poco tiempo de procesamiento.
- Puede hacerse ya sea en el campo o en el laboratorio, sin embargo, asegúrese que la humedad del suelo no se pierda en caso de que las muestras vayan a ser utilizadas también para contenido de humedad. Una muestra puede procesarse cada 5 – 10 minutos.
 - i. Corte o rompa la muestra de suelo a la mitad (en el plano horizontal) para exponer el perfil lateral.
 - ii. Cuente/califique (0-10) el número de raíces que puede verse en cada uno de los lados (Figura 17.4), y anote el promedio de estos dos valores.
 - iii. Repita la medición 5 veces por sección de suelo (es decir, 0-30 cm, 30-60 cm, etc.).
- Note que como las observaciones son subjetivas, es importante que las calificaciones sean consistentes:
- Asegúrese de que las calificaciones de los nuevos observadores estén calibradas con las de un observador experimentado (quien esté familiarizado con la evaluación de la cobertura del suelo) para que los valores sean estandarizados.

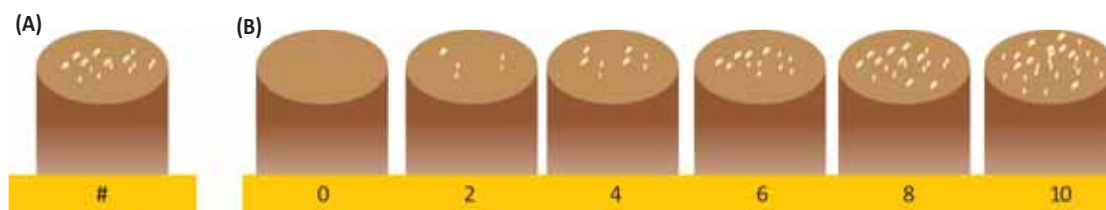


Figura 17.4. Contenido de raíces de las muestras de suelo expuesto para un análisis rápido de raíces (los círculos café representan la vista del corte de la muestra de suelo, y las marcas amarillas representan las raíces expuestas): (A) cuente el número de raíces expuestas (por ejemplo, 15 en el ejemplo mostrado); o (B) use una escala relativa (0-10).

- Si varias personas dentro del grupo estarán realizando observaciones, es recomendable que todos los observadores se reúnan para calibrar sus lecturas antes de empezar, y regularmente después del inicio.
- Asegúrese de que sólo una persona realice observaciones dentro de una repetición.

3. Análisis de raíces utilizando un escáner digital: La preparación de las raíces para el análisis con escáner requiere más tiempo que el método rápido, pero proporciona resultados más precisos (Figura 17.5). Use un programa de computación (por ejemplo, “Delta-T SCAN”, Delta-T Devices Ltd., Cambridge, UK; o “WinRHIZO”, Regents Instruments Inc., Quebec, Canadá) para analizar lo escaneado de las muestras de raíces y obtener datos de longitud, ancho y área de superficie de las raíces. La preparación de las muestras de raíces no es difícil, pero se requiere de cuidado, ya que hay pasos en los que se pueden cometer errores.

i. Pesado y limpieza

Lave las raíces - como se describió previamente (pasos 1.i y 1.ii)-, después (en vez de mezclar con alcohol) colóquelas sobre un papel negro (para que usted pueda ver las raíces), humedézcalas y manténgalas en el refrigerador hasta su limpieza. Limpie las raíces a mano - como se describió previamente (paso 1.vii)- y colóquelas sobre papel húmedo claramente etiquetado, envuelva con una película plástica y almacene en el refrigerador o congelador hasta su tinción.

ii. Tinción y preparación para escaneado

Preparación de la solución de tinción - (i) para hacer la solución concentrada: pese 1 gramo de polvo “metil violeta” (**TOXICO!**) y dilúyalo en 100 ml de etanol al 100%. Mantenga esto en una botella de vidrio oscuro hasta su uso (ya que el “metil violeta” es sensible a la

luz); (ii) diluya la solución concentrada antes de usar por: diluya 1 ml de la solución concentrada en 9 ml de etanol, después para mayor dilución adicione esta solución de 10 ml a 90 ml de agua destilada para tener una solución al 0.1% de metil violeta.

Para teñir la muestra de raíces, se requiere lo siguiente: solución de tinción al 0.1% de metil violeta; placas petri; pipetas; escurridor/colador; papel absorbente; 2 pinzas de precisión; cloro y etiquetas.

- Coloque la muestra de raíces en el centro de la placa petri etiquetada.
- Cubra la muestra con la solución diluida de la tinción y deje reposar por lo menos una hora o toda la noche.
- Enjuague las raíces con agua y escurra dos veces.
- Coloque las raíces sobre la placa petri y separe las raíces con las pinzas, utilice un poco de agua para hacer la separación más fácil. Estandarice el tiempo para cada muestra a 15 minutos.
- Seque cuidadosamente con papel absorbente para retirar todo el exceso de agua y asegúrese que no queden burbujas de aire o agua en las raíces.

iii. Escaneado

Para escanear las raíces, se requiere de lo siguiente: prepare las muestras de raíces; escáner; y el programa de computación “U lead Photo Express 3”.

- Cree y de nombre a un nuevo álbum (por ejemplo, “ensayo de raíces 1”, “ensayo de raíces 2”, etc.).
- Haga click en “GET” > “SCANNER” para abrir el escáner.
- Haga click en “ACQUIRE” y en la ventana de “SETTINGS”: seleccione “LINE ART” (las raíces aparecen como líneas), “AMPLIFICATION 100%” (para mostrar el tamaño real de las raíces), “600 dpi” y “HIGH QUALITY”.

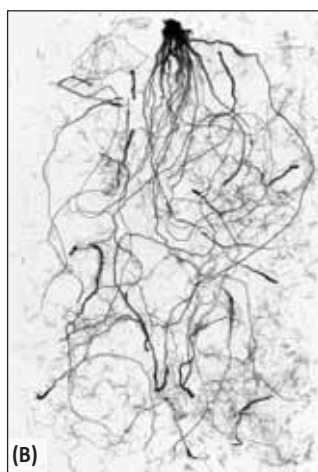


Figura 17.5. Escaneo de raíces: (A) escáner de raíces (WinRHIZO STD 1600+, Regent Instruments Inc., Quebec, Canadá); y (B) escaneo de una raíz de cebada (fotografía: Pedro Carvalho, Universidad de Nottingham).

- d. Haga click en "PREVIEW" para ver lo escaneado; haga ajustes de ser necesario (por ejemplo, cambiar el área de escaneo).
- e. Haga click en "SCAN".
- f. Haga click sobre el botón derecho del mouse y seleccione "RENAME" (por ejemplo, use el nombre de la parcela: 1B, 30-60 etc.).
- g. Haga click en "SAFE" como un archivo de tipo ".TIFF".
- iv. *Análisis del escaneo de raíces*
- Para analizar las imágenes producidas mediante el escaneo de raíces, se requiere de lo siguiente: un software "DELTA-T SCAN" y el archivo del escaneo de raíces con extensión TIFF.
- a. Abra la aplicación DT-SCAN ('Application').
- b. Abra 'FILE' y 'LOAD IMAGE FILE'.
- c. Abra 'SETUP' y asegúrese de que el 'IMAGE BACKGROUND' (fondo de pantalla) sea 'WHITE' (blanco) y 'MAGNIFICATION = 1' (100%).
- d. Abra 'ANALYSIS' y seleccione 'LENGHT SIN O'.
- e. El programa de computación analizará el archivo.
- f. Haga click en "ENTER" para ver una visión general de los resultados y presione <F6> para ver los resultados completos.
- g. El análisis del programa de computación para 'LENGHT SIN O' calcula la longitud, ancho, área y volumen de las raíces. Este programa también puede usarse para calcular el área de las hojas y tamaño de las partículas de suelo.

Datos y cálculos

Cálculos de humedad del suelo

Tabla 17.1. Ejemplo de datos para la determinación del contenido de humedad del suelo.

Parcela	Profundidad (cm)	Número del bote de referencia	Peso del bote vacío (g)	Bote + suelo fresco (g)	Bote + suelo seco (g)	Peso fresco (PF) suelo (g)	Peso seco (PS) suelo (g)
1	0-30	127	27.62	139.87	124.91	112.3	97.3
1	30-60	128	27.77	131.11	113.51	103.3	85.7
1	60-90	129	26.79	121.05	104.28	94.3	77.5
1	90-120	130	27.41	131.09	111.55	103.7	84.1

Parcela	Profundidad (cm)	Contenido de agua (g)	Contenido gravimétrico de agua (%)	Contenido volumétrico de agua (%)	Contenido de agua (mm)	Consumo total de agua (mm)	Consumo diario de agua (mm día ⁻¹)
1	0-30	15	15.4	20.0	60.0	53.5	3.57
1	30-60	17.6	20.5	26.7	80.1	33.4	2.23
1	60-90	16.8	21.6	28.1	84.4	29.1	1.94
1	90-120	19.5	23.2	30.2	90.6	22.9	1.53

Donde: Contenido de agua (g) = Peso fresco (PF) del suelo – peso seco (PS) del suelo
 Contenido gravimétrico de agua (%; CGA) = (contenido de agua / PS suelo) x 100
 Contenido volumétrico de agua (%; CVA) = contenido gravimétrico de agua x densidad de volumen del suelo (DVS)*
 Contenido de agua (mm) = 10 ((CGA/100) x DVS x longitud de la sección de muestra)
 Consumo de agua total (mm) = contenido de agua en suelo a t0† - contenido de agua en suelo a t1.
 Consumo de agua diario (mm día⁻¹) = consumo de agua total / número de días entre riego y muestreo ‡

Supuestos – verificación de suelos de experimentación para corregir valores:

* Densidad de volumen del suelo (DVS); asumiendo que es 1.3 para todas las profundidades en este ejemplo.

† Contenido de agua del suelo a t0; asumiendo que es 11.35 mm en todas las

profundidades en este ejemplo, pero que debería medirse después de cada riego.

‡ Número de días entre riego y muestreo: 15 días en este ejemplo.

§ Longitud de muestra en cm.

Cálculo de raíces de suelo

Profundidad de enraizamiento: La máxima profundidad alcanzada por las raíces. Esta es una característica importante, ya que determina la cantidad del perfil de suelo que la planta puede explorar. Depende del cultivar, tipo de suelo y de la disponibilidad de recursos bajo el suelo. Profundidades típicas de enraizamiento: trigo de primavera, 80-120 cm; y, trigo de invierno, 140-200 cm.

Proporción de raíz – brote (R:B): Este parámetro relaciona la biomasa de la planta sobre el suelo, con la biomasa por debajo del suelo.

Peso seco de raíces (PSR): Este es el PR total y su distribución a través del perfil. Se ha observado que el PR total aumenta

exponencialmente hasta la antesis que es cuando este alcanza su máximo, con una pequeña disminución a la cosecha debido a la disminución en el PR en las partes altas del perfil. Valores típicos para PR total: trigo de primavera 75-110 g m⁻².

Peso de la densidad de raíces (PDR): Este describe el PSR por unidad de volumen de suelo y su distribución a través del perfil del suelo. Valores típicos de PDR: en trigos de primavera varían de 2000 g m⁻³ en 0-30cm, 300 g m⁻³ en 30-60 cm, 100 g m⁻³ en 60-90 cm. y 30 g m⁻³ en 90-120 cm.

PDR (g m⁻³) = PSR/volumen del suelo Ecuación 17.1.

Densidad de longitud de raíces (DLR): Es la longitud de la raíz (LR; cm) por unidad de volumen de suelo (cm³), y su distribución a través del perfil. Comúnmente se utiliza para describir la calidad de las raíces y exploración de suelo. Regularmente disminuye exponencialmente con la profundidad; teóricamente la DLR por encima de 1 cm cm³ debería permitir la extracción de toda la humedad disponible en el suelo.

$$\text{DLR (cm cm}^{-3}\text{)} = \text{LR / volumen de suelo} \quad \text{Ecuación 17.2.}$$

Longitud específica de raíces (LER): describe la economía de producción de la longitud de raíces en relación con la tasa de inversión en biomasa de raíces. Teóricamente, una mayor LER debería ser ventajosa en ambientes con recursos limitados. Los valores típicos de LER para trigo de primavera varían de 100 a 300 mg⁻¹.

$$\text{LER (mg}^{-1}\text{)} = \text{LR/PSR} \quad \text{Ecuación 17.3}$$

Solución de problemas

Problema	Solución
Mediciones de campo / contenido de humedad	
Es necesario hacer mediciones repetidas durante el ciclo del cultivo	Incrementar el tamaño de la parcela donde se planea realizar mediciones destructivas, o realice mediciones utilizando sensores (por ejemplo, reflectometría de dominio-tiempo (TDR, acrónimo de <i>time - domain reflectometry</i>), sonda de neutrones, frecuencia de sensores de dominio, sonda de capacitancia, resistencia eléctrica, tomografía, radar de penetración de suelo, entre otros) - sin embargo, esto es limitado sólo para unas pocas parcelas, se requiere realizar una calibración para el contenido de humedad de suelo y el sondeo profundo es muy costoso. Véase Irrometer (2011).
Compactación de suelo durante el muestreo	Puede usarse aceite de motor como lubricante para ayudar a la penetración en el suelo, pero asegúrese de evitar la contaminación del suelo con el aceite (especialmente cuando se está determinando el contenido de la humedad del suelo). Si el operador siente mucha resistencia durante la penetración del suelo, entonces es mejor empezar el muestreo de nuevo en un lugar diferente de la parcela.
Mediciones con lecturas inesperadas	Si hay pérdida de humedad entre el muestreo y el pesaje, asegúrese de que las bolsas estén cerradas/dobladas herméticamente. Cuando haya condensación al interior de la bolsa, asegúrese de romper y mezclar el suelo adecuadamente antes de abrir la bolsa para evitar la pérdida de humedad. Temperatura de secado incorrecta - revise el horno utilizando un termómetro auxiliar. No use temperaturas muy altas para reducir el tiempo de secado, ya que esto podría destruir algunos de los constituyentes del suelo y afectar el resultado. Re-absorción de humedad después de secar - asegúrese de pesar las muestras secas una vez que estas se hayan enfriado lo suficiente, sin permitir que la muestra reabsorba humedad.
Contenido de raíces	
Contaminación con cultivos previos en campo.	Realice una prueba tomando muestras de suelo a lo largo del campo donde usted planea medir raíces para verificar la presencia de éstas a diferentes profundidades. Esto se puede hacer mediante observaciones visuales de las muestras.
Muchos restos de suelo con raíces durante el tamizado	Mezcle agua, suelo y raíces a mano muy suavemente, de modo que se destruya cualquier agregado de suelo existente. Espere por 10 min sin agitar la mezcla para permitir que el suelo baje al fondo de la bandeja, para luego decantarlo suavemente.
Análisis rápido de raíces	
Dificultades al cortar la sección de suelo transversalmente.	Use un instrumento filoso para cortar la sección (es decir, espátula, cuchillo o cuerda de guitarra y use aceite si es necesario para evitar que dos partes de peguen unas a otras después de cortar).
El suelo está muy seco y la muestra de suelo se desmorona.	Cortar la sección de suelo puede ser difícil, especialmente en suelos arenosos.
Análisis de suelo utilizando un escáner digital	
Las raíces de suelo se secan en el refrigerador	Asegúrese de que el papel envolvente en el que están las raíces se mantenga húmedo durante el procesamiento.

Referencias

Drecker, MF., Borgognone, MG., Ogonnaya, FC., Trethowan, RM. y Winter, B. (2007) CIMMYT-selected derived synthetic bread wheats for rainfed environments: Yield evaluation in Mexico and Australia. *Field Crops Research* 100, 218-228.

Irrometer (2011) *Soil moisture measurement*. Disponible en: <http://www.irrometer.com/sensors.html/> (acceso: 14 Agosto 2011).

Lopes, MS. y Reynolds, MP. (2010) Partitioning of assimilates to deeper roots is associated with cooler canopies and increased yield under drought in wheat. *Functional Plant Biology* 37, 147-156.

Literatura recomendada

Prior, SA., Runion, GB., Torbert, HA. y Erbach, DC. (2004) A hydraulic coring system for soil-root studies. *Agronomy Journal* 96, 1202-1205.

Reynolds, MP., Drecker, F. y Trethowan, R. (2007) Drought-adaptive traits derived from wheat wild relatives and landraces. *Journal of Experimental Botany* 58, 177-186.

Capítulo 18: Rendimiento de grano y componentes del rendimiento

Julián Pietragalla y Alistair Pask

El rendimiento de grano ('rendimiento') es la expresión final de muchos procesos fisiológicos individuales, los cuales han interactuado con el clima y el ambiente durante el ciclo de crecimiento del cultivo. Se requiere de su medición precisa para demostrar una asociación (significativa) entre las características fisiológicas y la productividad. La determinación del rendimiento de grano y sus componentes: número de espigas m^{-2} (SM2; número de plantas m^{-2} x tallos fértiles por planta), número de granos m^{-2} (GM2; número de espigas m^{-2} x granos por espiga (espiguillas por espiga (SPS) x granos por espiguilla)) y, peso de mil granos (PMG; g), es por lo tanto esencial para todos los ensayos de fisiología y de mejoramiento. Aunque la determinación es generalmente realizada sobre muestras cosechadas de manera destructiva, también es posible realizar algunas evaluaciones en campo; ambos enfoques son discutidos en este capítulo.

El entendimiento de los componentes del rendimiento y de las estrategias de compensación del rendimiento de un cultivo de trigo en un ambiente particular, es la clave para un programa de mejoramiento exitoso. Los tres componentes del rendimiento se desarrollan secuencialmente durante el desarrollo del cultivo: primero SM2, luego GM2, y por último, peso de grano. El número y peso potencial de los granos determina el tamaño de la fuente de asimilados del cultivo. Generalmente, se observa una relación negativa entre GM2 y PMG (por ejemplo, en Slafer *et al.*, 1996), ya que los granos adicionales se localizan en los floretes más distales y/o espiguillas con peso potencial de grano más bajo. El trigo tiene la capacidad de compensar mutuamente el rendimiento a través del desarrollo secuencial de los componentes, y a menudo se alcanzan altos rendimientos por rutas diametralmente opuestas. Por ejemplo, si el número de plantas m^{-2} es bajo (por ejemplo, debido a un establecimiento pobre), entonces un incremento en la supervivencia de tallos fértiles mantendrá el SM2.

Ubicación y condiciones ambientales

Las muestras pueden tomarse bajo la mayoría de las condiciones ambientales. Es importante que las superficies de las plantas estén secas y no húmedas por rocío, riego o lluvia.

Hora del día

Las muestras pueden tomarse a cualquier hora del día. La pérdida de granos puede reducirse mediante el muestreo por la mañana, cuando el contenido de humedad de la espiga es ligeramente mayor.

Etapa de desarrollo de la planta

Tome muestras después de la madurez fisiológica (GS87) tan pronto como sea posible. El contenido mayor de humedad del tallo/espiga (comparado con la etapa madura de cosecha; GS92) reducirá la pérdida de biomasa (por ejemplo, de la lámina foliar) o grano debido a la fragilidad y rompimiento.

Número de plantas por parcela

Coseche ya sea en un área extensa de la parcela (Método A y B), o en un área pequeña definida ($\geq 1 m^2$; Método C).

Procedimiento

Consejos para la toma de mediciones

Retire las hileras y los bordes de los extremos (50 cm) de la parcela antes de cosechar (Métodos A y B). Asegúrese de medir con precisión el área cosechada (largo y ancho / contar el número de filas de cosecha) para expresar los datos con exactitud en base al área (típicamente m^2). A menudo es útil marcar el área a ser cosechada (por ejemplo, usando pintura en aerosol de colores) para permitir mediciones post-cosecha.

Es importante manejar cuidadosamente los tallos fértiles para evitar pérdidas de grano de espigas que se rompen, y otros órganos de la planta (especialmente de la lámina foliar). La bolsa de cosecha debería de cubrir la muestra entera y los tallos tendrían que colocarse de forma invertida en la bolsa - con la espiga en el fondo - para evitar la pérdida de granos.

Cuando se cortan muestras para la medición de biomasa, es importante cortar los tallos tan cerca al suelo como sea posible, evitando al mismo tiempo la inclusión de suelo y raíces. En condiciones de sequía puede ser difícil cortar las plantas, ya que éstas se desraízan con facilidad; en este caso es más fácil cortar las plantas usando tijeras, asegurándose de remover cualquier raíz antes de colocar la muestra en la bolsa.

Los estudios fisiológicos detallados a menudo requieren de un fraccionamiento del dosel en órganos individuales (es decir, lámina foliar (toda la lámina foliar/ capas de hojas individuales), vaina de la hoja, tallo (longitud del internodo, y pedúnculo) y espiga)) para la medición de biomasa y/o contenido de nutrientes. Esta partición se basa típicamente sobre una muestra de ≥ 20 tallos fértiles. Cuando se realiza un sub-muestreo/selección de tallos, es necesario tener cuidado para asegurar que todo el material de la planta asociado con los tallos sea incluido. Nótese que los análisis de nutrientes requieren consideraciones adicionales (ver en este volumen, Capítulo 15).

Seque las muestras en un horno a 60-75°C (para análisis específicos se requieren temperaturas más bajas) hasta obtener un peso constante (por lo menos 48h). En la ausencia de un secador de alta capacidad, la biomasa, el rendimiento de grano y el índice de cosecha (HI) pueden basarse en peso seco 'secado en el campo'. En este caso, coseche todas las muestras y déjelas por unos pocos días para equilibrar su contenido de humedad con la humedad relativa del ambiente (para reducir la variación entre las parcelas debido a diferencias en las fechas de madurez), luego péselas. Seque en el horno unas pocas sub-muestras para determinar el contenido de humedad total.

Note que para mantener el potencial de germinación, la semilla de trigo debe de ser conservada por debajo del 12% de humedad en un cuarto helado. Secar la semilla a temperaturas > 40°C y/o por largos periodos de tiempo reduce su viabilidad. Por ello, es importante evitar tratamientos adversos sobre la semilla que potencialmente puede ser usada para futuros ensayos; en tal caso, seque una sub-muestra de grano para determinar la humedad del grano y a partir de allí calcule el peso seco del rendimiento total.

Mediciones de campo

Se describen tres métodos para cosechar: la selección del método depende de la disponibilidad de tiempo en campo, maquinaria y mano de obra (ver Tabla 18.1; Figura 18.1). Las metodologías de sub-muestreo y de recolección de muestras permiten procesar y pesar en laboratorio con mayor precisión.

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Bolsas de papel ó bolsas de tela pre-etiquetadas.
- Marco o cuadrante (para dar un área de muestreo total de $\geq 1\text{m}^2$) (sólo para el Método C).
- Hoz pequeña, o cuchillo grande (por ejemplo, un cuchillo para cortar pan) y/o tijeras.
- Balanza de campo (cuando se requiera).
- Cosechadora/trilladora combinada (Método A y B solamente).
- Formato de campo y tabla portapapeles (cuando se requiera).

Tabla 18.1. Muestras para medirse cuando se usan los tres métodos de cosecha alternativos para estimar el rendimiento, biomasa y componentes de rendimiento de las parcelas experimentales de rendimiento.

Muestras a medir	Abreviación	Método		
		A	B	C
PF de biomasa del área cosechada	PF_AC	✓		✓
PF de la sub-muestra de biomasa del área cosechada	PF_SM	✓		✓
PF de grano del área cosechada	PF_AC_G*	✓	✓	
PF de la sub-muestra de grano del área cosechada	PF_AC_SM_G	✓	✓	
PS de la sub-muestra de grano del área cosechada	PS_AC_SM_G	✓	✓	
PS de la sub-muestra / muestra colectada de biomasa	PS_SM / PS_MC	✓	✓	✓
PS de grano de la sub-muestra / muestra colectada de biomasa	PS_SM_G / PS_MC_G	✓	✓	✓
PF de 200 granos	PF_200_G	✓	✓	✓
PS de 200 granos	PS_200_G	✓	✓	✓

Donde: PF = peso fresco; PS = peso seco; AC = área cosechada; SM = sub-muestra; MC = muestra colectada; G = grano. *El grano de la SM / MC de biomasa se separa del PF del grano del área cosechada.

Método A: Cosecha de biomasa total.

Este método es recomendado para datos de alta precisión, pero requiere de más tiempo en campo y mano de obra que los Métodos B y C. La biomasa total del área de cosecha es cortada, secada y trillada en campo para medir independientemente el peso fresco (PF) de la biomasa y rendimiento. Una sub-muestra de tallos fértiles es colectada y secada para permitir el cálculo del peso seco de la biomasa (PS) y el índice de cosecha (HI), y para permitir la expresión de los datos por tallo ó por espiga. Una sub-muestra de granos se toma y se procede a secar para permitir el cálculo del peso seco del grano (DW), y del peso de mil granos (PMG). Ver el esquema 18.1.

En el campo:

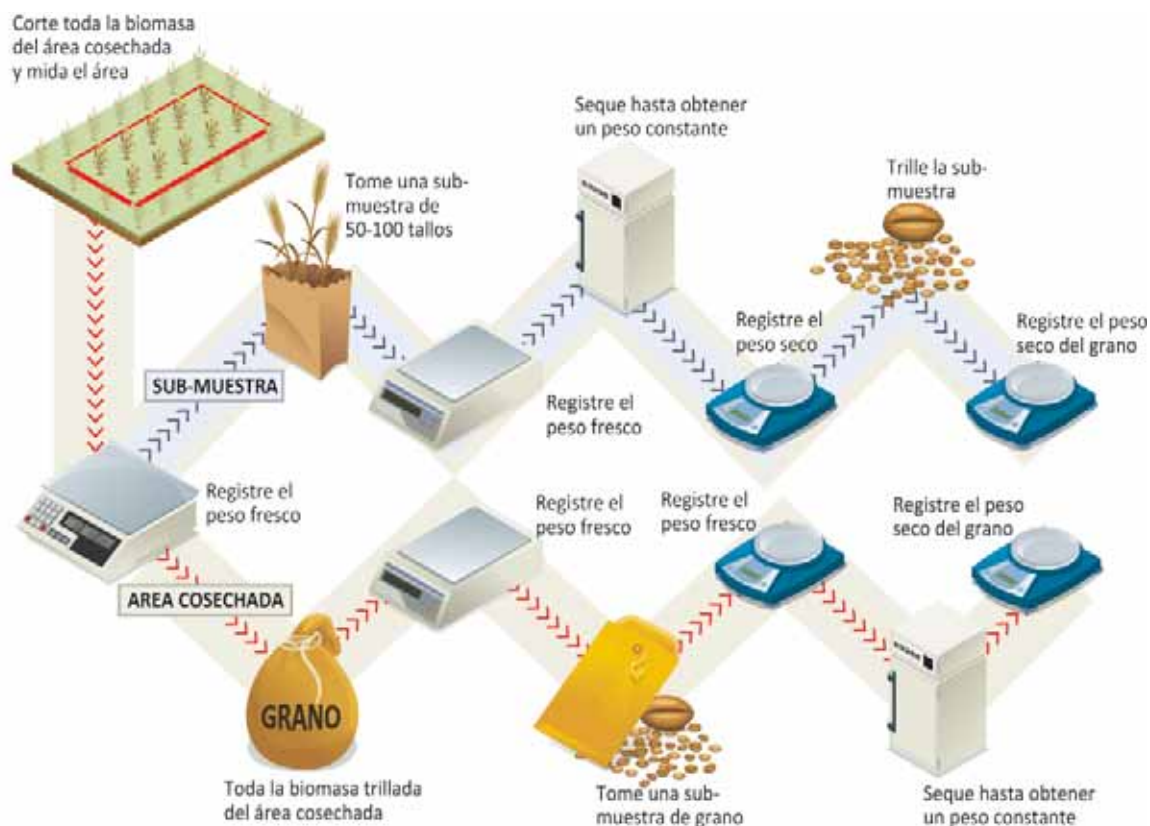
1. Mida cuidadosamente el área a ser cosechada, excluyendo las filas de borde y los extremos de la parcela.
2. Corte toda la biomasa aérea (por encima del suelo) del área de cosecha, y pésela (PS_AC).
3. Colecte sub-muestras de biomasa del área cosechada (es decir, seleccione las muestras de biomasa en lugares representativos de la parcela elegidos al azar,

obteniendo una mezcla representativa de diferentes clases de tallos de la misma parcela), y cuente el número de tallos fértiles – continúe hasta que la sub-muestra contenga 50 ó 100 tallos fértiles, y péselos (PF_SM).

4. Trille toda la biomasa del área cosechada cuando esté seca (use una trilladora estacionaria grande; Figura 18.1A), retire la paja y pese el grano (PF_AC_G). Recuerde que el grano de la sub-muestra de biomasa cosechada va por separado.
5. Tome una sub-muestra de grano del área cosechada y pese (aproximadamente 50 g), y colóquela en un sobre de papel etiquetado para su identificación (PF_AC_SM_G).

En el laboratorio:

6. Lleve a secar la sub-muestra de grano del área cosechada y luego pésela (PS_AC_SM_G).
7. Lleve a secar la sub-muestra de la biomasa cosechada y luego pésela (PS_SM).
8. Trille la sub-muestra de la biomasa cosechada (use una trilladora estacionaria pequeña ó trille a mano; Figuras 18.1C, D y E), retire la paja y pese el grano (PS_SM_G).



Esquema 18.1. Cosecha de biomasa total.

Método B: Cosecha de la sub-muestra.

Este método se recomienda cuando el tiempo en campo y/o mano de obra es limitado; el muestreo es más rápido que el Método A (generalmente a una persona le toma menos de 5 minutos por parcela), pero se necesita tener cuidado para asegurar que las muestras colectadas sean representativas.

Se toman varias muestras del área a ser cosechada, hasta que la sub-muestra colectada contenga un número específico de tallos fértiles. Luego, la sub-muestra es secada, pesada y trillada, para calcular el índice de cosecha (HI, acrónimo del inglés *harvest index*) y permitir la expresión de los datos en base al cálculo por tallo ó por espiga. El área cosechada es entonces cosechada a máquina ó mediante corte manual, y luego trillada para medir el peso fresco del grano (PF); además, se toma una sub-muestra y se procede a secarla para calcular el peso seco del grano (PS), y para medir el peso de mil granos (PMG). El rendimiento y el índice de cosecha (HI) se miden independientemente, pero el peso seco de la biomasa total se calcula a partir del rendimiento/ índice de cosecha. Véase el esquema 18.2.

En el campo:

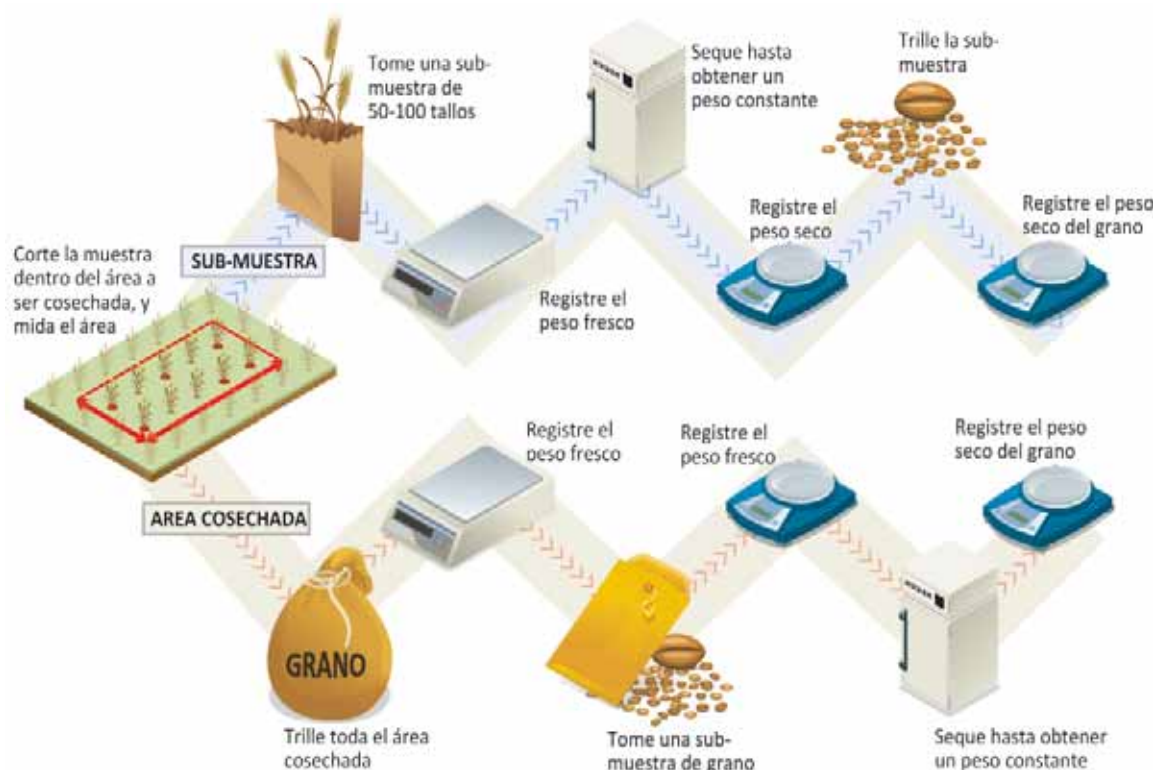
1. Mida el área a ser cosechada cuidadosamente, excluyendo los bordes y los extremos de la parcela.
2. Realice una recolección de sub-muestras de biomasa del área a ser cosechada (es decir, colecte manojos

ó puñados de tallos de lugares elegidos al azar y representativos dentro de esta área, incluyendo todas las filas a ser cosechadas, para elaborar una mezcla representativa de clases de tallos) y cuente el número de tallos fértiles – continúe hasta que la muestra colectada contenga 50 ó 100 tallos fértiles en total.

3. Coloque la totalidad de la muestra colectada en una bolsa de tela ó de papel debidamente etiquetada (asegúrese de no perder biomasa).
4. Trille toda el área cosechada cuando esté seca (utilice una trilladora estacionaria grande ó una cosechadora combinada (cosechadora/trilladora) pequeña; Figuras 18.1A y B), retire la paja y pese el grano (PF_AC_G). Recuerde que el grano de las muestras de biomasa colectadas va por separado.
5. Tome una sub-muestra de grano del área cosechada y pésela (aproximadamente 50 g) y colóquela en un sobre de papel etiquetado para su identificación (PF_AC_SM_G).

En el laboratorio:

6. Seque la sub-muestra de grano del área cosechada y pésela (PS_AC_SM_G).
7. Seque la muestra colectada de biomasa y pésela (PS_MC).
8. Trille la muestra colectada de biomasa, retire la paja y pese el grano (PS_MC_G).



Esquema 18.2. Cosecha de la sub-muestra.

Método C: Cosecha con trilla reducida.

Este método se recomienda cuando no se dispone de una máquina trilladora de gran escala, ó cuando se trabaja con materiales difíciles de trillar (por ejemplo, con parientes silvestres del trigo ó con trigos sintéticos) ya que sólo se trilla la sub-muestra. Tanto el muestreo como el procesamiento son más rápidos que los de los Métodos A y B, pero se necesita tener cuidado para asegurar que se corta una muestra representativa. El área cosechada es más pequeña, generalmente con un área $\geq 1 \text{ m}^2$, que se define usando un marco cuadrante, ó de un número específico y largo de filas.

Se toma una muestra de la parcela, y una sub-muestra de un número específico de tallos fértiles, la cual es secada para permitir el cálculo de biomasa, así como la expresión de datos 'por tallo' ó 'por espiga'. Se trilla la sub-muestra y se pesa el grano para calcular el índice de cosecha (HI) y medir el peso de mil granos (PMG). El rendimiento de la parcela se calcula mediante la biomasa x HI. Véase el esquema 18.3.

En el campo:

1. Seleccione y mida cuidadosamente un área representativa para cosecharse (con un área $\geq 1 \text{ m}^2$), evitando las filas de borde y los extremos de la parcela.
2. Corte toda la biomasa aérea (por encima del suelo) del área definida y pésela (PF_AC).
3. Coloque la biomasa del área cosechada en una bolsa de papel ó de tela debidamente etiquetada (asegúrese de no perder biomasa).

En el laboratorio:

4. Colecte sub-muestras de la biomasa del área cosechada (es decir, colecte biomasa de manera aleatoria y representativa de la muestra de biomasa, tomando una mezcla representativa de clases de tallos), y cuente el número de tallos fértiles - continúe hasta que la sub-muestra contenga 50 ó 100 tallos fértiles -, y péselos (PF_SM).
5. Seque la sub-muestra de biomasa y pésela (PS_SM).
6. Trille la sub-muestra de biomasa, retire la paja y pese el grano (PS_SM_G).



Esquema 18.3. Cosecha con trilla reducida.

Ejemplos prácticos para el cálculo del rendimiento, biomasa e índice de cosecha (HI).

Asunciones: densidad de tallos = 300 por m²; peso fresco (PF) por tallo = 5 g; índice de cosecha (HI) = 0.4; biomasa / contenido de humedad del grano = 5 %

En estos ejemplos, cada parcela consiste de dos camas elevadas, cada una con dos filas; hay parcelas de borde rodeando el ensayo. Cada parcela es de 5 m de largo y 1.6 m de ancho. Después de retirar 0.5 m de borde de cada extremo de la parcela, la longitud total de cosecha es de 4.0 m.

Área cosechada: Métodos A y B = 4.0 m x 1.6 m = 6.4 m²
Método C = 1.0 m²

Las fórmulas y cálculos se presentan en las Tablas 18.2 y 18.3, respectivamente.

Medición de los componentes individuales de rendimiento.

Los componentes individuales del rendimiento se miden ya sea directamente en campo antes de la cosecha (por ejemplo, número de espiguillas por espiga), ó bien de las muestras de cosecha (por ejemplo, PMG), ó se calculan

a partir del rendimiento, biomasa y/ó de los datos de HI obtenidos a partir de los tres métodos de cosecha (por ejemplo, granos m⁻²; esto se resume en la Tabla 18.4).

Mediciones previas a la cosecha.

Determinación del número de plantas m⁻²:

Debe realizarse un conteo del número de plantas m⁻² después de que el número máximo de plantas ha emergido y antes de que ocurra el macollaje (típicamente 5 días después del final de emergencia). Ocasionalmente, el número de plantas m⁻² puede disminuir a lo largo de la temporada (por ejemplo, debido a muerte por frío de invierno), en cuyo caso se recomienda un segundo conteo en GS31. El número de plantas m⁻², típicamente varía entre 50 y 300 plantas m⁻². Este tiene un óptimo amplio que varía con la variedad, condiciones y ambiente.

En el campo:

1. De manera aleatoria, seleccione dos áreas representativas de la parcela.
2. Establezca un cuadrante de 0.25 m² en cada área, y cuente el número de plantas dentro del cuadrante.

Tabla 18.2. Fórmulas para calcular el rendimiento, biomasa e índice de cosecha, utilizando los tres diferentes métodos de cosecha.

Método	A: Cosecha de biomasa total	B: Cosecha de sub-muestra	C: Cosecha con trilla reducida.
Rendimiento (g m ⁻²)	$(PF_AC_G \times (PS_AC_SM_G / PF_AC_SM_G) + PS_SM_G) / AC$	$(PF_AC_G \times (PS_AC_SM_G / PF_AC_SM_G) + PS_MC_G) / AC$	Biomasa x HI
Biomasa (g m ⁻²)	$PF_AC \times (PS_SM / PF_SM) / AC$	Rendimiento / HI	$PF_AC \times (PF_SM / PF_SM) / AC$
Índice de cosecha	Rendimiento / Biomasa	PS_MC_G / PS_B	PS_SM_G / PS_SM

Donde: PF = peso fresco; PS = peso seco; SM = sub-muestra; MC = muestra colectada; G = grano; AC = área cosechada (m²). Las fórmulas asumen que el grano ha sido secado y contiene 0% de humedad.

Tabla 18.3. Datos de ejemplo para los tres métodos presentados para la determinación de rendimiento, biomasa e índice de cosecha.

Método	A: Cosecha de biomasa total	B: Cosecha de sub-muestra	C: Cosecha de trilla reducida
PF_AC (g)	9600		1500
PF_SM (g)	500.0		500.0
PF_AC_G* (g)	3640	3640	
PF_AC_SM_G/PF_AC_MC_G (g)	50.00	50.00	
PS_AC_SM_G/PS_AC_MC_G (g)	47.50	47.50	
PS_SM / PS_MC (g)	475.0	475.0	475.0
PS_SM_G / PS_MC_G (g)	190.0	190.0	190.0
Rendimiento (g m ⁻²)	$= (3640 \times (47.50 / 50.00) + 190.0) / 6.4$ = 570		$= 1425 \times 0.40$ = 570
Biomasa (g m ⁻²)	$= 9600 \times (475.0/500.0) / 6.4$ = 1425	$= 570 / 0.40$ = 1425	$= 1500 \times (475.0 / 500.0) / 1$ = 1425
Índice de cosecha	$= 570 / 1425$ = 0.40	$= 190.0 / 475.0$ = 0.40	$= 190.0 / 475.0$ = 0.40

Donde: PF = peso fresco; PS = peso seco; AC = área cosechada; SM = sub-muestra; MC = muestra colectada; G = grano. En este ejemplo hay 100 tallos fértiles en la sub-muestra / muestra colectada de biomasa. Las fórmulas asumen que el grano está seco y contiene 0% de humedad. El rendimiento de grano a x% de humedad (g m⁻²) = rendimiento x (100 / 100 - x). *El grano de la SM / MC de biomasa va por separado del peso fresco del grano del área cosechada.

Determinación del número de espigas m⁻²:

El número de espigas m⁻² (es decir, número de tallos fértiles m⁻²) es determinado por los eventos que ocurren entre siembra y floración, y depende de la variedad, manejo y ambiente. Cuando se combina con el número de plantas m⁻², puede usarse para evaluar el número de tallos fértiles por planta (generalmente de 1 a 10).

Esto puede medirse de manera más fácil y no-destructiva durante el llenado de grano (es decir, antes de la madurez fisiológica), ya que reduce una pérdida de rendimiento debido al rompimiento causado por los movimientos a través de la parcela. Bajo condiciones óptimas, podrían esperarse 200 – 500 espigas m⁻² para maximizar el rendimiento potencial.

Tabla 18.4. Fórmulas para calcular los componentes individuales del rendimiento a partir de los datos de cosecha para los tres diferentes métodos de cosecha.

Componente de rendimiento	Fórmula
Peso de mil granos (PMG; g)	PS_200_G x 5
Granos m ⁻² (GM2)	Rendimiento (g m ⁻²) / PMG x 1000
PS de un tallo fértil (g)	PS_SM / número de tallos fértiles
Espigas m ⁻² (SM2)	Biomasa (g m ⁻²) / PS_ tallos fértiles (g)
Granos por espiga (GSP)	Granos m ⁻² / espigas m ⁻²

Donde: PS = peso seco; SM = sub-muestra; G = grano.

En el campo:

1. De manera aleatoria, seleccione cuatro áreas representativas de la parcela.
2. Coloque un cuadrante de 0.10 m² en cada área, y cuente el número de tallos que tienen espigas dentro del cuadrante.

Véase también “Mediciones calculadas a partir de los datos de cosecha” en los párrafos siguientes.

Determinación del número de espiguillas por espiga:

Ambos datos, el número total de espiguillas y el número de espiguillas fértiles (es decir, aquellas que contienen grano) por espiga, deberían de ser contabilizados hacia el final del llenado de grano, pero antes de la madurez fisiológica (nuevamente para evitar pérdidas debido al movimiento a través de las parcelas). El número total de espiguillas por espiga es altamente heredable, y varía ligeramente entre ambientes; mientras que el número de espiguillas fértiles por espiga es extremadamente afectado, con espiguillas abortadas en la base ó en el ápice de la espiga. Los valores típicos son de alrededor de 10 – 25 espiguillas por espiga; de las cuales >90% pueden ser fértiles en condiciones óptimas, ó <50% en condiciones de estrés (por ejemplo, sequía, calor,



Figura 18.1. Cosecha para rendimiento y componentes de rendimiento: (A) cosechadora combinada para parcela; (B) trilladora estacionaria grande; (C) trilladora estacionaria pequeña; (D) trilla manual de una muestra; (E) muestra trillada que requiere limpieza final; y (F) contador de semillas (Pfeuffer GmbH, Kitzengen, Germany).

etc.). La planta reduce el número de espiguillas fértiles como un mecanismo de escape al estrés (para asegurar que se produzca al menos algún grano viable). Sin embargo, ya que esta reducción en la fertilidad de la espiga es irreversible, la planta es incapaz de restaurar la fertilidad perdida si el evento de estrés cesa.

En el campo:

1. De manera aleatoria, tome muestras de 6 – 10 espigas por parcela, seleccionándolas desde la base del tallo (el objetivo es de 20 – 30 espigas por tratamiento).
2. Cuente el número total de espiguillas (de par en par desde la base hasta el ápice de la espiga).
3. Del número total de espiguillas, cuente el número de espiguillas infértiles (es decir, las que no contienen grano).

Mediciones a partir de las muestras de cosecha.

Determinación del peso de mil granos (PMG):

Los valores son típicamente de 20 – 50 g (es decir, 20-50 mg por grano) y tienden a ser característicos de una variedad – hay grandes diferencias entre variedades incluso bajo buenas condiciones. La reducción del peso de mil granos puede ser causada por el clima (por ejemplo, temperaturas muy elevadas durante el llenado de grano) ó por estrés biológico (por ejemplo, patógenos) durante el llenado de grano, ó por efectos de campo (por ejemplo, alta población de plantas) debido a la plasticidad de los componentes del rendimiento, y viceversa.

En el laboratorio:

1. Tome una muestra aleatoria de granos enteros – limpie cuidadosamente retirando todos los granos quebrado y abortados, así como la paja, pero no descarte los granos pequeños.
2. Cuente los granos a mano ó usando una máquina contadora de semillas (vea la Figura 18.1F).

Ya sea, cuente 200 granos, póngalos a secar nuevamente, y péselos (PS_200_G):

$$PMG = PS_{200_G} \times 5 \quad \text{Ecuación 18.1}$$

Ó, vuelva a secarlos, pese 10 gramos y cuente el número de granos (PS10g_#granos):

$$PMG = (10 / PS10g_#granos) \times 1000 \quad \text{Ecuación 18.2}$$

En cada caso, deben de tomarse dos muestras por parcela. Si los valores difieren por más de 10%, debe de tomarse una tercera muestra.

Mediciones calculadas a partir de los datos de cosecha.

Determinación del contenido de humedad de la biomasa y del grano para el cálculo del peso seco total.

Los valores del contenido de humedad (CH) de las muestras de biomasa verde a mediados de llenado de grano son típicamente 70 – 80%; éste decrece a <20% en la cosecha. Los decrementos en el contenido de humedad del grano surgen primero durante el llenado con materia seca (70% a 45%; GS73 – 77); los granos detienen la acumulación de materia seca cuando su contenido de humedad desciende por debajo de 45%, después de lo cual, continúan perdiendo humedad hasta 20% en la madurez fisiológica. El contenido de humedad del grano es típicamente de 5 – 15% en cosecha, dependiendo del ambiente.

En el campo y laboratorio:

1. Tome una sub-muestra en campo y pésela (PF_SM).
2. Seque la sub-muestra y pésela (PF_SM).

$$CH (\%) = \frac{(PF_SM - PS_SM)}{(PF_SM)} \times 100 \quad \text{Ecuación 18.3}$$

Por ejemplo, para el cálculo de la biomasa del área cosechada desde PF hasta PS:

$$PS_AC = (100 - \%CH) \times PF_AC \quad \text{Ecuación 18.4}$$

Expresión del rendimiento ó biomasa por tallo fértil:

Los estudios fisiológicos detallados a menudo expresan datos en base a mediciones “por tallo fértil”. Para calcular los valores por tallo, es importante que las sub-muestras sean seleccionadas de manera aleatoria, para obtener una mezcla representativa de diferentes clases de tallos, y que el número de tallos / espigas fértiles que contiene sea contabilizado cuidadosamente. Alternativamente, pueden usarse los datos de conteo de tallos fértiles en pre-cosecha.

Por ejemplo, el cálculo del peso seco de biomasa por tallo fértil:

$$PS_tallo\ fértil\ (g) = PS_SM / \text{número de tallos fértiles} \quad \text{Ecuación 18.5}$$

Determinación del peso seco de la paja:

Los valores se encuentran alrededor de 0.5 g para una espiga sin aristas; las aristas añaden alrededor de un 20% al peso seco de la paja. El peso seco de la paja es importante en estudios de rendimiento potencial, donde se le relaciona a la capacidad potencial de las plantas para formar granos. Un método alternativo es utilizar el peso seco de la espiga en anthesis como una aproximación del peso de la paja en cosecha.

En el laboratorio:

1. Corte las espigas de los tallos secos de la sub-muestra, al nivel del cuello de la espiga; cuéntelas y péselas (PS_SM_S).
2. Trille la sub-muestra de espigas y pese el grano (PS_SM_G).

$$\text{PS}_{\text{paja}} (\text{g espiga}^{-1}) = (\text{PS}_{\text{SM}_S}) - (\text{PS}_{\text{SM}_G}) / \text{número de espigas}$$

Ecuación 18.6

Determinación del número de granos m⁻²:

El número de granos m⁻² actúa como un resumen de todos los eventos hasta la antesis e incluso un poco más allá – combinando los efectos de manejo y clima sobre las plantas m⁻², espigas planta⁻¹, espiguillas espiga⁻¹ y granos espiguilla⁻¹, en un único término o valor. El número de granos m⁻² determina la magnitud de la demanda de asimilados del cultivo, y bajo muchas condiciones se haya fuertemente relacionado con el rendimiento. Bajo condiciones óptimas, podrían esperarse 15000 – 25000 granos m⁻² para maximizar el potencial de rendimiento.

$$\text{Granos m}^{-2} (\text{GM2}) = \text{rendimiento (g m}^{-2}) / \text{PMG (g)} \times 1000$$

Ecuación 18.7

Determinación del número de espigas m⁻²:

El número de espigas m⁻² (como se describe anteriormente) puede estimarse también a partir de los valores medidos.

$$\text{Espigas m}^{-2} (\text{SM2}) = \text{Biomasa (g m}^{-2}) / \text{PS}_{\text{tallos fértiles (g)}}$$

Ecuación 18.8

Determinación del número de granos por espiga:

La fertilidad de la espiga es una función de espiguillas fértiles por espiga y floretes fértiles por espiguilla. El rango de valores generalmente se sitúa entre 10 – 40 en ambientes bajo estrés (es decir, calor y sequía) y 40 – 100 en condiciones favorables. Este posee una amplitud óptima que varía con la variedad, condiciones y ambiente.

$$\text{Granos por espiga (GSP)} = \text{granos m}^{-2} / \text{espigas m}^{-2}$$

Ecuación 18.9

Alternativamente, el número de granos por espiga puede medirse independientemente al trillar un número conocido de espigas seleccionadas aleatoriamente por parcela (al menos 20 espigas por parcela, teniendo como objetivo 60 – 100 espigas por tratamiento).

Solución de problemas

Problema	Solución
El rompimiento de espigas durante la cosecha causa pérdidas de grano.	Tome muestras cuando el contenido de humedad de la espiga es mayor, ya sea tan pronto después de la madurez fisiológica y/ó por la mañana.
La máquina trilladora combinada pierde grano a través del conducto de la paja.	Ajuste el flujo de aire de la trilladora.
La máquina cosechadora combinada o la trilladora de parcelas pierde espigas intactas sin trillar a través del conducto de la paja.	Seque las espigas más exhaustivamente para reducir el contenido de humedad y hacerlas más fácil de trillar (ya sea cosechando en la etapa de madurez de grano, durante un día seco y/ó en la tarde). Ajuste el rotor y/o la velocidad del cilindro de trilla.

Referencias

Slafer, GA., Calderini, DF. y Miralles, DJ. (1996) Generation of yield components and compensation in wheat: Opportunities for further increasing yield potential. In: Reynolds, MP., Rajaram, S. y McNab, A. (Eds.) *Increasing Yield Potential in Wheat: Breaking the Barriers*, pp. 101–133. *CIMMYT International Symposium*. Mexico D.F.: CIMMYT.

Literatura recomendada

Slafer, GA. (2003) Genetic basis of yield as viewed from a crop physiologist's perspective. *Annals of Applied Biology* 142, 117–128.

Dolferus, R., Ji, X. y Richards, RA. (2011) Abiotic stress and control of grain number in cereals. *Plant Science* 181(4), 331-341.

TRIGO

Observaciones del cultivo



Capítulo 19: Características morfológicas del cultivo

Araceli Torres y Julián Pietragalla

Las características morfológicas del cultivo pueden observarse o medirse en el campo de manera rápida, fácil, económica y no-destructiva, para proporcionar datos cuantitativos que pueden ser relacionados con el rendimiento, potencial de rendimiento y tolerancia al estrés. Todas estas características son altamente heredables y normalmente muestran una gran variabilidad genética con una baja interacción ambiental. Los caracteres medibles incluyen: longitud y anchura de la hoja bandera, longitud del pedúnculo y las barbas, altura de planta y solidez del tallo. El área de las superficies de interceptación de luz y la arquitectura del dosel proporcionan información relacionada a la distribución y penetración de la luz dentro del propio dosel, la eficiencia de uso de la luz y el potencial fotosintético. La altura de planta y la solidez del tallo están relacionados con el índice de cosecha (HI, acrónimo del inglés *harvest index*), el riesgo de acame y la capacidad de almacenaje de la planta. Estas características son, por lo tanto, útiles para los fitomejoradores, para la evaluación rápida de grandes poblaciones. Estas características se discuten detallada e individualmente a continuación.

Dentro de las características fácilmente observables se incluyen: pubescencia de espiga u hoja (pilosidad o vellosidad), presencia de ceras en espiga u hoja, enrollamiento de la hoja, ángulo de inserción de la hoja, orientación y postura de la hoja. Estas características adaptativas confieren ventajas a las plantas bajo condiciones de estrés por calor o por falta de agua, proporcionando foto-protección y reduciendo la transpiración del dosel. Todas estas características reducen la carga térmica sobre el dosel ya sea incrementando la reflectancia de la radiación incidente (pubescencia y presencia de cera) o reduciendo el área de exposición de la lámina foliar (enrollamiento, ángulo, orientación y postura de la hoja). La pubescencia también atrapa una capa de aire alrededor de la hoja, mientras que el enrollamiento atrapa aire dentro de la hoja, ambos procesos funcionan para reducir las pérdidas por transpiración del dosel. El ángulo, la orientación y la postura de las hojas han sido relacionadas con la optimización del uso de la radiación en ambientes de alto rendimiento afectando la penetración de la luz dentro del dosel. Sin embargo, algunos de estos caracteres del dosel podrían no ser deseables bajo condiciones de alto rendimiento debido a la reducción en la interceptación de luz por los tejidos fotosintéticos: por ejemplo, el enrollamiento de la hoja está siempre asociado con una reducción del potencial de rendimiento en condiciones favorables.

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones pueden tomarse bajo cualquier condición ambiental. Sin embargo, es más fácil hacer las observaciones cuando las superficies de la planta están secas y no húmedas debido al rocío, riego o lluvia.

Hora del día

Las mediciones pueden tomarse a cualquier hora del día. Evalúe el enrollamiento de la hoja dos veces durante el día: por la mañana (antes de las 10:00 horas; cuando las plantas están menos estresadas) y en la tarde (entre las 13:00 y 16:00 horas; cuando las plantas están muy estresadas).

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones deben tomarse durante el inicio del llenado de grano en condiciones favorables. Las observaciones deben hacerse desde la etapa intermedia de la antesis hasta la etapa intermedia del llenado de grano. Tome ambas mediciones y observaciones con anterioridad en condiciones severas de estrés ya que las plantas fenecerán más rápidamente.

Número de muestras por parcela

Para una caracterización fenotípica de precisión, tome mediciones/observaciones de 10 plantas/tallos por parcela (30 por tratamiento); o para una rápida evaluación tome tres mediciones/observaciones y registre ya sea las tres mediciones o la media de ellas, o también puede realizar una observación general de la parcela.

Procedimiento

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Regla métrica
- Formato de campo y tabla portapapeles.

Consejos sobre la toma de mediciones y observaciones

Las mediciones y observaciones deben hacerse sobre tallos principales totalmente emergidos. Los tallos deben estar limpios, secos, intactos y verdes, sin signos de enfermedades o daños (note que la senescencia causa un poco de contracción del tejido). La mayoría de las mediciones pueden hacerse en el laboratorio sobre muestras de biomasa.

Para las mediciones, elija los tallos aleatoriamente seleccionándolos desde la base del mismo (para evitar parcialidad). Para las observaciones, puede hacerse una observación general parándose en un ángulo de 45° a un costado de la parcela, pero se recomienda también una cautelosa inspección de las hojas, tallos y espigas de algunos tallos individualmente. Tome dos repeticiones, con una semana de desfase aproximadamente.

Como las observaciones son subjetivas, es importante que las calificaciones sean consistentes:

- Asegúrese de que las calificaciones de los nuevos evaluadores estén calibradas con las de un evaluador experimentado (quien está familiarizado con las observaciones de cultivos) para lograr valores estandarizados.
- Si varias personas dentro del grupo harán las observaciones, se recomienda que todos los evaluadores se reúnan para calibrar sus lecturas antes de empezar, y regularmente después del inicio.
- Asegúrese de que solamente una persona realiza las observaciones dentro de una repetición.

Mediciones de los caracteres

Longitud y anchura de la hoja bandera

La hoja bandera (hoja superior) es el órgano fotosintético más importante desde la etapa intermedia de embuche hasta la finalización del estadio de llenado de grano. El área de la hoja bandera puede constituir hasta el 75% del área de interceptación de luz de la planta, es la que se mantiene por un periodo más largo, y consecuentemente contribuye con la mayoría de los asimilados durante el llenado de grano. Puede, por lo tanto, estar relacionada al peso potencial de grano y rendimiento total. La longitud y anchura de la hoja bandera están genéticamente controladas, y se correlacionan fuertemente con el área de la superficie de la hoja. Los rangos típicos de longitud de la hoja bandera están entre 100 a 300 mm y la anchura entre 10 a 25 mm. (Figura 19.1A)

Medición:

- Mida la longitud desde la base hasta la punta de la hoja bandera, registre el dato hasta el milímetro más cercano.
- Mida el ancho de la hoja bandera en la parte más ancha, registre el dato hasta el milímetro más cercano.

- Note que la hoja bandera está completamente expandida desde la etapa intermedia de embuche.

Longitud del pedúnculo

El pedúnculo (entrenudo superior del tallo) consiste de una parte inferior no expuesta (cubierto por la vaina de la hoja bandera) y una superior expuesta. Se puede considerar que este representa más de la mitad de la altura del tallo, y es la ubicación para el almacenamiento de una significativa cantidad de carbohidratos solubles y otros nutrientes para su movilización hacia el grano. La parte superior del pedúnculo también intercepta cantidades significativas de luz, y contribuye a la producción de asimilados durante el llenado de grano. Un pedúnculo largo puede facilitar la cosecha con la cosechadora combinada, aunque puede también incrementar el acame y reducir el HI. Los rangos típicos de longitud de pedúnculo van de 25 a 60 cm (Figura 19.1B)

Medición:

- Mida desde el nudo superior (el último hacia arriba) sobre el tallo hasta el collar de la espiga, registre el dato hasta el centímetro más cercano.
- Note que el pedúnculo continúa alargándose hasta el final de la antesis.

Longitud de las aristas de la espiga

La arista es una fina prolongación de la lema en el trigo. Es un importante órgano fotosintético y de transpiración en la espiga y también proporciona algo de protección al grano. Las aristas incrementan el área total de la espiga y están localizadas en la parte superior del dosel recibiendo una alta exposición a la luz. Las aristas pueden contribuir significativamente a la fotosíntesis de la espiga, se mantienen bien hasta los estadios tardíos del llenado de grano y con una alta eficiencia del uso del agua. El rango típico es de 0 a 75 mm (Figure 19.1C)



Figura 19.1. Mediciones morfológicas del cultivo: (A) longitud del pedúnculo; (B) longitud de la hoja bandera; (C) longitud de aristas; y, (D) altura de planta.

Medición:

- Mida desde la punta de la espiga hasta la punta de la arista más larga, registre el dato hasta el milímetro más cercano.
- El color de la arista (de verde a café) y la proporción de aristas (escala de 0-10) pueden registrarse también.

Altura de planta

La altura de planta es usualmente de 70-120 cm, con variedades élite de CIMMYT de 80-100 cm, aunque algunas variedades enanas pueden medir <50 cm. La altura de la planta está fuertemente controlada por los genes, particularmente los genes Rht (genes de reducción de altura), y es, por lo tanto, altamente heredable. La altura de planta muestra una fuerte correlación con la longitud del pedúnculo, capacidad de almacenaje de carbohidratos y HI. Un tallo más alto puede facilitar la cosecha con la cosechadora combinada, aunque también puede incrementar el acame y reducir el HI; mientras que un tallo más corto puede reducir la capacidad de almacenaje de carbohidratos y dificultar la cosecha. Por lo general, la altura de planta varía de <50 (enana), 50-70cm (corta), 70-120 cm (semi-enana) y >120 cm (alta). (Figura 19.1D).

Medición:

- Mida la longitud de los vástagos individuales desde la superficie del suelo hasta la punta de la espiga, registre hasta el centímetro más cercano.
- No incluya las aristas (barbas) en la medición.

- Asegúrese de que la regla se sitúa plana sobre la superficie del suelo, evitando cualquier montículo o grietas en el suelo.

Solidez del tallo

La mayoría de las variedades de trigo tienen tallos huecos (sin médula), mientras que algunas tienen tallos parcial o completamente rellenos de médula ('solidez'; la médula consiste de células parenquimatosas no diferenciadas). Se ha demostrado que este tejido almacena carbohidratos solubles como reservas del tallo para el llenado de grano (ver en este volumen, Capítulo 16). La solidez del tallo confiere resistencia contra la mosca del tallo del trigo (*Cephus cinctus* Norton) (Eckroth y McNeal, 1953). El nivel de expresión de la solidez del tallo es altamente heredable, pero se ve afectado por el ambiente y los tallos tienden a ser más sólidos cuando las plantas son expuestas a alta temperatura o sequía durante la etapa de elongación de los mismos (Figuras 19.2 y 19.3)

Medición:

- Tome mediciones a los 7 – 14 días después de anthesis.
- Mida en el punto medio del entrenudo (entrenudos superiores para estudios de remobilización, o entrenudos inferiores para estudios de acame/mosca de los tallos).
- Califique la solidez del tallo usando una escala de 0 (hueco) a 10 (sólido) usando la guía (Figura 19.2).
- También puede calcularse el peso específico del tallo (peso seco por unidad de longitud).

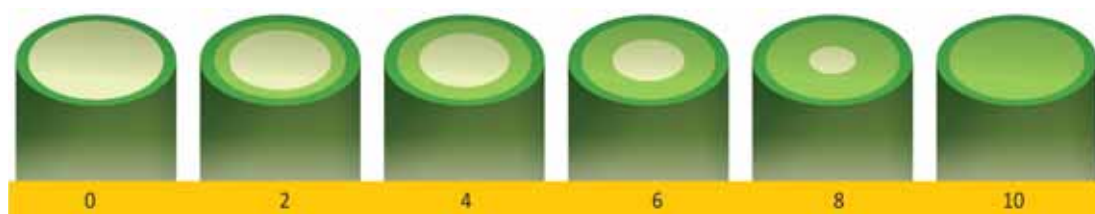


Figura 19.2. Escala de solidez del tallo, desde huecos (0) hasta sólidos (10). En el diagrama, el verde oscuro indica la pared del tallo y el verde claro indica el tejido parenquimatoso.

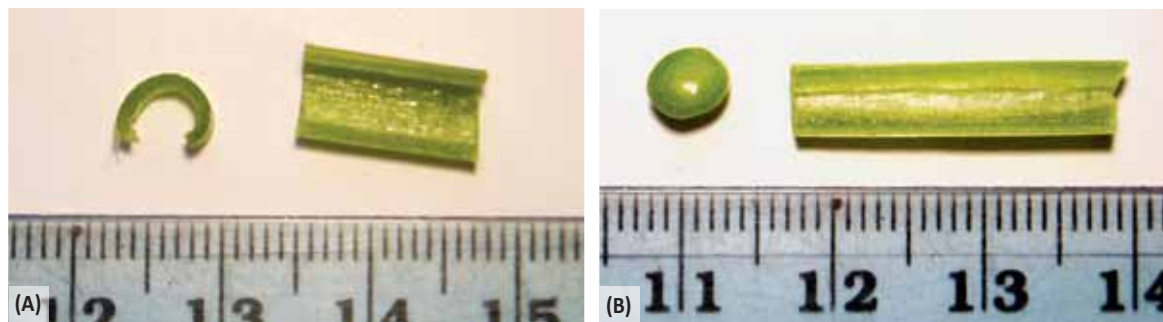


Figura 19.3. Ejemplos de solidez del tallo: (A) hueco (calificación de 0); y, grosor de la médula (calificación de 8).

Observación de caracteres

Contenido de cera en espiga y hoja

La cera aparece como una sustancia grisácea/blanca sobre la superficie de la planta (aunque también pueden encontrarse ceras transparentes aparentemente invisibles al ojo humano). Las superficies cerosas pueden frotarse fácilmente entre los dedos índices y esto puede usarse para estimar la cantidad/grosor de la cubierta cerosa. En general, la cera aparece en secuencia: (i) para la hoja bandera/vaina, esta empieza en la vaina de la hoja, luego en la superficie abaxial (envés) de la hoja, y finalmente en la superficie adaxial (haz)

de la misma; (ii) para el pedúnculo/espiga, esta empieza sobre el pedúnculo, luego en la espiga – moviéndose desde la base hacia el ápice (Figuras 19.4 y 19.5).

Clasificación:

- i. Observe el contenido de cera en la vaina de la hoja bandera, y en las superficies abaxial y adaxial de la lámina foliar.
 - Evalúe la cantidad de cera usando una escala de 0 (ninguna) a 10 (completamente cubierta) usando la guía (Figura 19.6)
- ii. Observe el contenido de cera en el pedúnculo y/o espiga.



Figura 19.4. Genotipos con y sin cera: (A) cera sobre la hoja bandera, pedúnculo y espiga; (B) el pedúnculo y la espiga de una planta sin cera; y, (C) genotipos con y sin cera en campo.

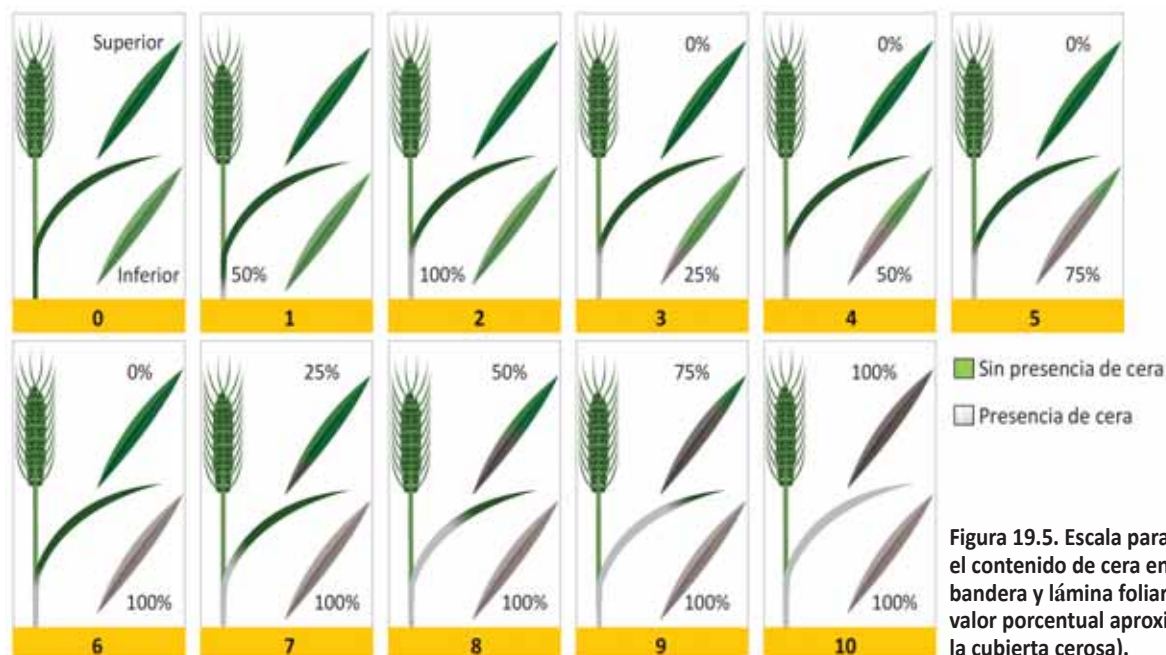


Figura 19.5. Escala para evaluar el contenido de cera en hoja bandera y lámina foliar (indica valor porcentual aproximado de la cubierta cerosa).

- Evalúe la cantidad de cera usando una escala de 0 (ninguna) a 10 (completamente cubierta).

Pubescencia en hoja y espiga

La pubescencia aparece como pelos plateados sobre la superficie de la planta, generalmente no miden más de 1 mm de longitud. La densidad y localización de la pilosidad varían. Además de la evaluación visual, a menudo también es útil sentir la pubescencia de la hoja y la espiga. Esto puede hacerse pasando los dedos a lo largo del órgano de la planta: en dirección contraria – en los órganos pilosos se sentirá mayor ‘resistencia’; en la misma dirección – los órganos pilosos se sentirán más suaves. (Figura 19.6).

Evaluación:

- Observe la pubescencia en la superficie adaxial (haz) y/o abaxial (envés) de la lámina de la hoja bandera.
 - Observe la pubescencia de las glumas y el raquis de la espiga.
- Evalúe la pubescencia usando una escala de 0 (sin pelos: ‘glabro’), 5 (algo de pelo), 10 (muy piloso).

Enrollamiento de la hoja

El enrollamiento de la hoja es más evidente en las hojas bandera pero puede ocurrir en las hojas inferiores del dosel. Puede ser un mecanismo para reducir la

intercepción de luz en el dosel y/o una respuesta de la planta al estrés hídrico. En general, las hojas se empiezan a enrollar desde el ápice de la hoja. Realice observaciones durante el llenado de grano para adaptación a sequía terminal y/o estrés por calor (Figura 19.7).

Evaluación:

- Realice dos observaciones del enrollamiento de la hoja (ya que esta característica es sensible a las condiciones ambientales).
 - Haga observaciones en dos momentos durante el día: temprano por la mañana (antes de las 10:00 h) y por la tarde (entre las 13.00 h y 16.00 h) (dependiendo de la severidad del estrés, las diferencias entre genotipos aparecerán en la evaluación matutina o vespertina).
 - Observe la hoja bandera completamente expandida más reciente (recomendado), o todas las hojas verdes.
- Califique la proporción de las hojas afectadas por enrollamiento dentro de la parcela, utilizando una escala de 0 (0%) a 10 (100%), en incrementos de 10%.
 - Califique el enrollamiento de la hoja utilizando una escala de 0 a 3 (Tabla 19.1).

El grado de enrollamiento de la hoja (%) para la hoja expandida más reciente puede ser estimada por:

$$\% \text{ de hoja enrollada} = (1 - \text{anchura de hoja enrollada} / \text{anchura de hoja sin enrollar}) \times 100 \quad \text{Ecuación 19.1}$$



Figura 19.6. Pubescencia sobre las glumas de la espiga (calificación de 8).



Figura 19.7. Hoja bandera fuertemente enrollada (calificación de 3).

Tabla 19.1. Escala de enrollamiento de la hoja

Calificación	Descripción	Porcentaje de enrollamiento
0	Ninguno	Ninguno
1	Hoja levemente enrollada desde el ápice	<33%
2	Hoja moderadamente enrollada	34-66%
3	Hoja fuertemente enrollada	>67%

Orientación y ángulo de la hoja

El ángulo en el cual se disponen las hojas en relación al eje vertical (en lugar que en relación al tallo) es más evidente en las hojas bandera. Esto puede llevarnos a la identificación de un 'dosel abierto' (a través del cual la luz penetra hacia las hojas inferiores; para hojas erectas o colgantes) o de un 'dosel cerrado' (donde las hojas superiores capturan la mayor parte de la luz incidente; para hojas horizontales o erectas). El grado de 'cobertura' del dosel es en ocasiones evaluado separadamente. (Figura 19.8 y 19.9).

Evaluación:

- Evalúe el ángulo de la hoja bandera en espigamiento y en estadios tempranos de llenado de grano.
- Evalúe dividiendo el plano vertical en tres partes de 60° aproximadamente.
- Califique el ángulo de la hoja utilizando una escala de, ya sea 1 (hojas erectas; 0-60°), 2 (hojas intermedias u horizontales; 60-120°), o 3 (hojas colgantes; 120-180°) (ver Figura 19.8).

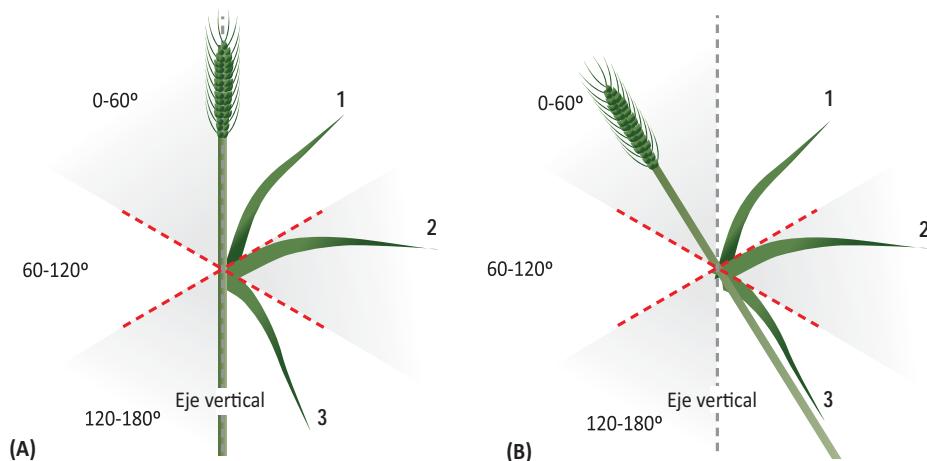


Figura 19.8. La calificación del ángulo de la hoja debe medir el ángulo en el cual se sostienen las hojas: (A) en relación al eje vertical; (B) en vez que al eje del tallo.

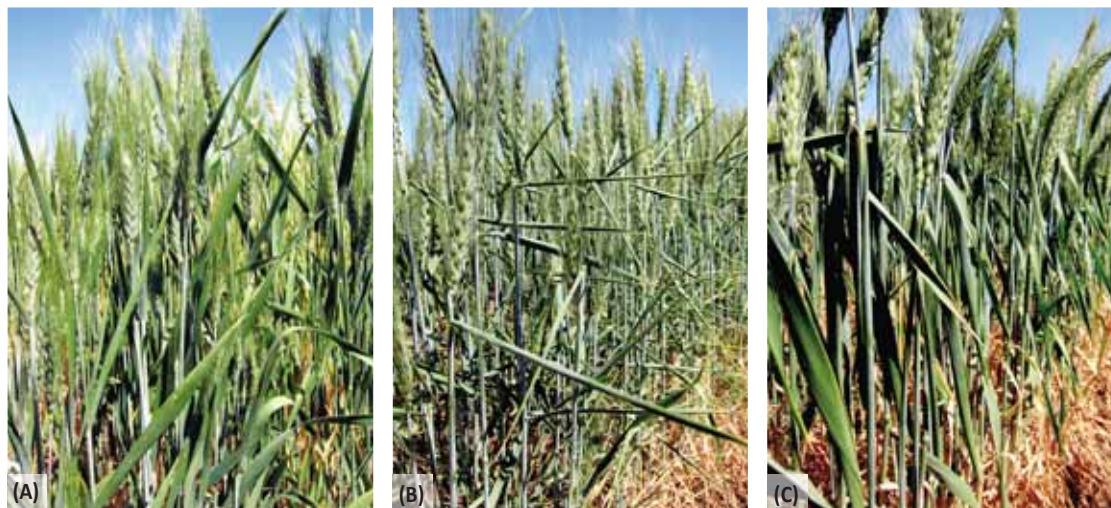


Figura 19.9. Escala de evaluación del ángulo de la hoja bandera: (A) 1 para hojas erectas (0-60°); (B) 2 para hojas horizontales (60-120°); y (C) 3 para hojas colgantes (120-180°).

Solución de problemas

Problema	Solución
Gran variación morfológica dentro de una parcela	Verifique el origen de la semilla – es decir, confirme si la semilla no está mezclada con otros genotipos. Asegúrese de que la siembra y el manejo agronómico son uniformes a través de las parcelas (por ejemplo, si la profundidad de siembra es la misma en todas las hileras).
Gran variación en los datos de una parcela	Observe un área grande de la parcela, o tome más muestras por parcela. Separe en grupos dentro de una parcela (y asegúrese de tomar nota de esto en el formato de campo; por ejemplo, valores para plantas bajas/altas).

Referencias

Eckroth EG. y McNeal FH. (1953) Association of plant characters in spring wheat with resistance to the wheat stem sawfly. *Agronomy Journal* 45, 400–404.

Literatura recomendada

Duncan, WG. (1971) Leaf angles, leaf area, and canopy photosynthesis. *Crop Science* 11, 482–485.

Holmes, MG. y Keiller, DR. (2002) Effects of pubescence and waxes on the reflectance of leaves in the ultraviolet and photosynthetic wavebands: a comparison of a range of species. *Plant, Cell & Environment* 25, 85–93.

Innes, P. y Blackwell, RD. (1983) Some effects of leaf posture on the yield and water economy of winter wheat. *The Journal of Agricultural Science* 101, 367–376.

Izanloo, A., Condon, AG., Langridge, P., Tester, M. y Schnurbusch, T. (2008) Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *Journal of Experimental Botany* 59, 3327–3346.

Kadioglu, A. y Terzi, R. (2007) A dehydration avoidance mechanism: Leaf rolling. *The Botanical Review* 73, 290–302.

Maes, B., Trethowan, RM., Reynolds, MP., Ginkel, MV. y Skovmand, B. (2001) The influence of glume pubescence on spikelet temperature of wheat under freezing conditions. *Australian Journal of Plant Physiology* 28, 141–148.

Richards, RA., Rawson, HM. y Johnson, DA. (1986) Glaucousness in wheat: Its development and effect on water-use efficiency, gas exchange and photosynthetic tissue temperatures. *Functional Plant Biology* 13, 465–473.

Saint Pierre, C., Trethowan, R. y Reynolds, MP. (2010) Stem solidness and its relationship to water soluble carbohydrates: association with wheat yield under water deficit. *Functional Plant Biology* 37, 166–174.

Capítulo 20: Observaciones de daño durante la temporada de cultivo

Alistair Pask y Julián Pietragalla

Durante la temporada, pueden ocurrir daños en el cultivo como consecuencia de un clima adverso, efectos de las condiciones ambientales, plagas y/o enfermedades. En cada caso es importante mantener un registro conciso del daño producido con la finalidad de explicar sus efectos potencialmente confusos en los datos. Las consecuencias negativas en el rendimiento dependen del momento del evento negativo y/o del órgano afectado – generalmente los efectos en la espiga causan la mayor reducción en el rendimiento. Por ejemplo, eventos climáticos severos o inusuales pueden causar serios problemas a la planta: las heladas tempranas en trigos de primavera pueden dañar sólo las hojas inferiores, resultando en un pequeño efecto sobre el rendimiento; mientras que las heladas tardías en el mismo cultivo entre los periodos de elongación del tallo y floración, pueden dañar a la espiga – ya sea en los floretes (causando esterilidad) o en los granos (causando marchitamiento) – causando una reducción en el rendimiento.

Tres tipos de daño que se producen durante el ciclo de cultivo se discuten en este capítulo. (i) El secado de la punta de la espiga ('tipping') que aparece como una senescencia prematura en la mitad superior de la espiga, que ocurre generalmente alrededor de la emergencia de la espiga en ambientes bajo estrés, o después de condiciones ambientales adversas (por ejemplo, heladas). Es una característica común de los ambientes bajo sequía donde esto puede actuar como un mecanismo de escape mediante la reducción del número de granos y consecuentemente de la demanda de la espiga durante el llenado de grano. Sin embargo, cuando la sequía pasa y cesa, este efecto permanente en la espiga reduce el potencial de rendimiento. (ii) El acame del tallo es considerado como el desplazamiento permanente de los tallos de las plantas en relación al eje vertical, resultando en tallos que tienden a inclinarse o tenderse horizontalmente sobre el suelo. Esto es causado usualmente por vientos fuertes y/o suelos con exceso de agua (por riego o precipitación) en combinación con tallos altos y delgados y/o raíces o tallos podridos que debilitan el anclaje (base) de la planta. El acame de plantas es una característica indeseable que frecuentemente se expresa bajo condiciones favorables o de alto rendimiento, durante la etapa tardía del llenado de grano. (iii) El daño vegetativo causado por condiciones climáticas adversas, plagas y/o enfermedades, las cuales pueden dañar todas las partes aéreas de la planta a lo largo del ciclo de crecimiento. Es importante registrar la proporción del dosel que permanece verde o la proporción senescente (por ejemplo,

por enfermedad causada por hongos, o insectos), o la proporción de la espiga que ha sido dañada (por ejemplo, por aves o roedores). Tal vez las enfermedades más prominentes son las royas (aunque este es un tema extenso, y es discutido con más detalle en otras fuentes; como por ejemplo, Roelfs *et al.*, 1992).

Ubicación y condiciones ambientales

Las mediciones pueden tomarse bajo cualquier condición ambiental.

Hora del día

Las mediciones pueden tomarse a cualquier hora del día.

Etapas de desarrollo de la planta

Las mediciones deben registrarse lo más pronto posible después de que ha ocurrido el daño.

Número de muestras por parcela

Tome una observación y/o evalúe 10 plantas/tallos (30 por tratamiento) por parcela

Procedimiento

Lleve consigo el siguiente equipo a campo:

- Escala para la medición de la senescencia de la punta de la espiga (Figura 20.2), para la senescencia de la lámina foliar (Figura 12.2) y/o escala de calificación de enfermedades.
- Cámara fotográfica (requerida).
- Formato de campo y tabla portapapeles.

Consejos para la toma de mediciones y observaciones

Tome dos mediciones, ya que el daño a menudo se hace más pronunciado con el tiempo (ya que el tejido afectado muere y se torna de color marrón/café). Es recomendable evaluar el daño inmediatamente después del evento negativo y por segunda vez después de 7-10 días.

En cada caso, debe registrarse tanto la proporción de la parcela afectada como la severidad del daño dentro de ésta. Registre la fecha, días después de anthesis (DDA), estadio de desarrollo del cultivo y la probable causa del daño.

Puede hacerse una observación general parándose a un ángulo de 45° al costado de la parcela, pero se recomienda también una inspección cautelosa de algunos tallos individualmente.

Como las observaciones son subjetivas, es importante que las calificaciones sean consistentes:

- Asegúrese de que las calificaciones de los nuevos evaluadores estén calibradas con las de un evaluador experimentado (quien está familiarizado con la realización de evaluaciones) para lograr valores estandarizados.
- Si varias personas dentro del grupo harán las observaciones, se recomienda que todos los evaluadores se reúnan para calibrar sus lecturas antes de empezar, y regularmente después.
- Asegúrese de que solamente una persona haga las observaciones dentro de una repetición.

A menudo es útil tener un registro fotográfico del daño para tenerlo como referencia y facilitar la calibración en evaluaciones posteriores

Mediciones

Senescencia de la punta de la espiga

El ‘punteado’ de la espiga aparece como una senescencia prematura de la espiga, ocasionada por esterilidad inducida en las espiguillas, que se hace evidente con el secado y amarillamiento de la punta de la espiga. El efecto regularmente comienza en el ápice y avanza hacia la base de la espiga (Figura 20.1)



Figura 20.1. Senescencia de la punta de la espiga provocada por: (A) sequía (calificación de 4, 40% de la espiga dañada); (B) helada (calificación de 1, 10% de la espiga dañada) con apariencia blanquecina (clorosis) a tres días después del evento.

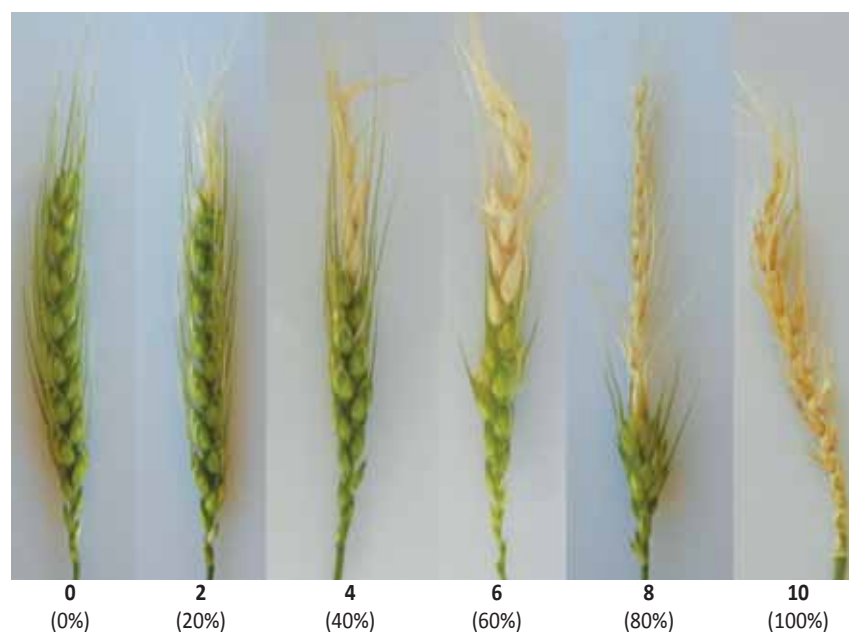


Figura 20.2. Escala de evaluación de la senescencia de la punta de la espiga.

Evaluación:

- Las observaciones para efectos de estrés deben hacerse durante la etapa intermedia de llenado de grano o en los primeros días después de un evento excepcional (por ejemplo, una helada).
- i. Estime la proporción de espigas afectadas dentro de cada parcela, usando una escala de 0 (0%) a 10 (100%), con incrementos de 10%.
- ii. Estime la proporción de daño en cada una de las espigas afectadas, usando una escala de 0 (0%) a 10 (100%) usando la guía, con incrementos de 10% (Figura 20.2).

Acame

Se han identificado dos tipos de acame: (i) acame de tallo – donde las raíces están ancladas firmemente en el suelo y la fuerza del viento causa el quiebre de los entrenudos inferiores del tallo, y (ii) acame de raíz – donde la fuerza de anclaje de la raíz se ve disminuida por un suelo flojo y/o por un anclaje radicular pobremente desarrollado, y el quiebre ocurre en el área de contacto entre la raíz y el suelo. Es más común que el acame aparezca durante el periodo post-antesis, influenciado por un incremento del peso de la espiga. El acame generalmente reduce el rendimiento del cultivo (-1% por cada día que el cultivo es acamado después de antesis) y la calidad, y provoca un secado lento del cultivo (Figura 20.3).

Evaluación:

- Realice las observaciones tan pronto como sea posible después de la ocurrencia del evento de acame (ya que el ángulo de inclinación del cultivo puede cambiar con el tiempo).

- Continúe re-evaluando el cultivo acamado (al menos cada 7-10 días), ya que a causa de esto es más susceptible a las enfermedades.
- Registre el tipo de acame (es decir, del tallo o raíz)
 - i. Estime la proporción de tallos afectados por acame dentro de la parcela, usando una escala de 0 (0%) a 10 (100%), con incrementos de 10%.
 - ii. Estime el ángulo promedio de los tallos en relación al eje vertical. Para esto, utilice una escala de 0 (sin acame), 1 (tallos inclinados a 45° en relación con el eje vertical), a 2 (tallos inclinados a un ángulo de entre 45 y 90° en relación con el eje vertical).

La ‘calificación del acame’ puede calcularse mediante:

Calificación del acame = $\frac{\text{proporción afectada de la parcela} \times \text{grados de inclinación}}{\text{Ecuación 20.1}}$

Ecuación 20.1

Por ejemplo, si el 50% de la parcela está afectada con un ángulo de acame de 30°;

Calificación del acame = (0.50×30)

Calificación del acame = 15

Daño vegetativo

El daño a las partes vegetativas de la planta puede ser causado por condiciones climáticas adversas (por ejemplo, heladas), o plagas y/o enfermedades. El daño vegetativo puede afectar procesos fisiológicos (por ejemplo, interceptación de la luz) reduciendo de este modo el crecimiento, biomasa y finalmente el rendimiento, generalmente con efectos en la espiga que causan la mayor reducción del rendimiento. Es importante registrar la(s) parte(s) afectada(s) de la planta, la extensión del daño y la probable causa del mismo.

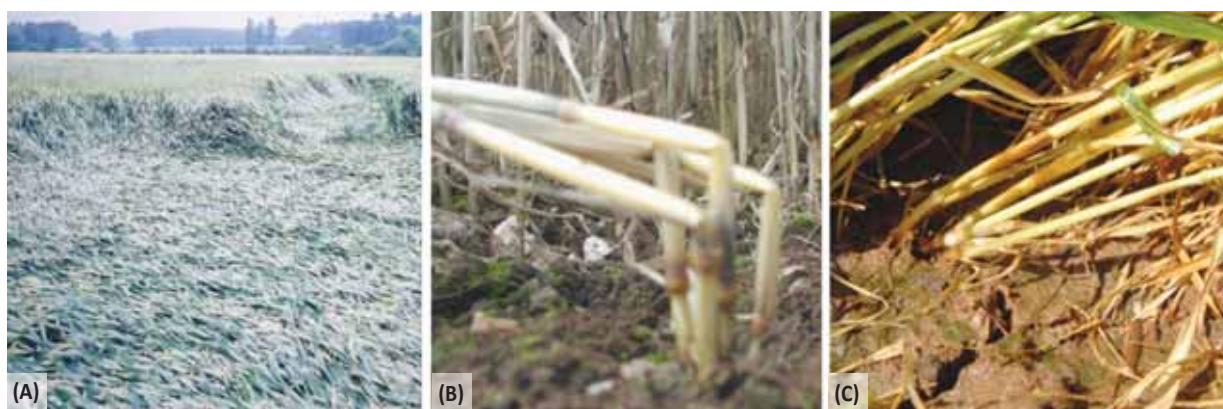


Figura 20.3. Acame de cultivos de trigo: (A) cultivo acamado durante el llenado de grano; (B) acame de tallo; y (C) acame de raíz. (Fotografías: Pete Berry, ADAS Ltd., U. K.).



Figura 20.4. Daño vegetativo de cultivos de trigo, causado por: (A) congelamiento de la lámina foliar provocando una apariencia blanquecina; (B) daño por roya en la lámina y vaina de la hoja; y, (C) daño por aves en la espiga durante la etapa temprana de llenado de grano.

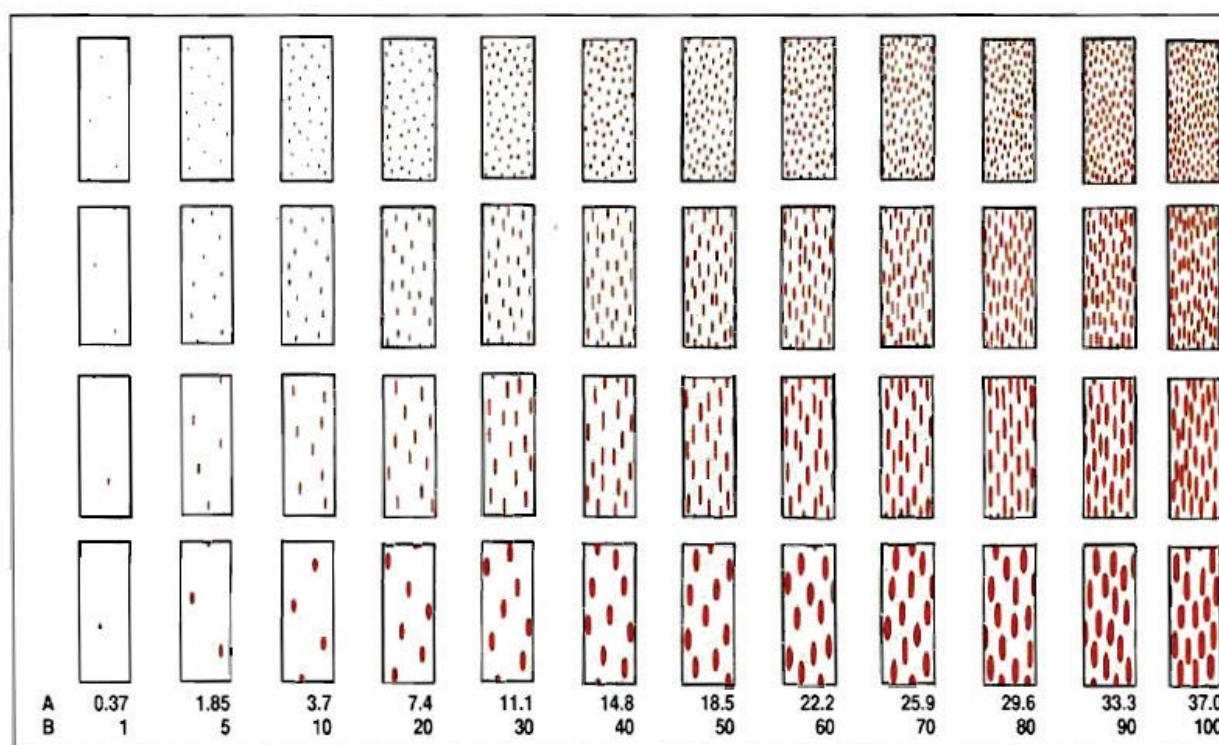


Figura 20.5. Escala de calificación de roya (adaptado de Roelfs *et al.*, 1992): (A) Porcentaje actual ocupado por las uredinias de roya; y, (B) severidades de roya de la escala modificada de Cobb, después de Peterson *et al.* (1947).

Evaluación:

- Realice las observaciones lo más pronto posible después de ocurrido el evento de daño, y repetir las observaciones después de 7-10 días (los efectos se hacen más pronunciados con el pasar del tiempo).
- i. Estime la proporción de tallos dañados dentro de la parcela, usando una escala de 0 (0%) a 10 (100%), con incrementos de 10%.
 - ii. Estime la proporción de cada parte(s) de la planta o el total de tallo afectados, usando una escala de 0 (0%) a 10 (100%) usando las guías, en incrementos de 10% (Figuras 12.2, 20.2 y 20.5).

Solución de problemas

Problema	Solución
El cultivo parece no haber sido afectado por un evento de heladas.	Pasarán algunos días para que el efecto de la helada llegue a ser visible. Tome una segunda observación una semana después cuando el tejido dañado ha empezado a morir y a tornarse de color marrón (café).
La senescencia del ápice de la espiga empeora progresivamente (ya sea en el número de espigas afectadas y/o severidad del efecto).	Una vez que el daño llegue a ser visible, es importante realizar evaluaciones repetidas para tomar en cuenta cualquier empeoramiento de la condición del cultivo (ya sea en un número fijo de días o en un determinado estadio de desarrollo, como por ejemplo, espigamiento).

Referencias

- Peterson, RF., Campbell, AB. y Hannah, AE. (1948). A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. *Canadian Journal of Research Section C*, 496-500.
- Roelfs, AP., Singh, RP. y Saari, EE. (1992) Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, México, D.F. 81 pp.

Literatura recomendada

- Berry, PM., Sterling, M., Baker, CJ., Spink, J. y Sparks, D. (2003) A calibrated model of wheat lodging compared with field measurements. *Agricultural and Forest Meteorology* 119, 167-180.
- Berry, PM., Sylvester-Bradley, R. y Berry, S. (2007) Ideotype for lodging resistant wheat. *Euphytica* 154, 165-179.
- Kansas State University (1995) Spring freeze injury in wheat, modified from the Kansas State University Cooperative Extension Service publication C-646 revised March 1995. Disponible en: <http://www.oznet.ksu.edu/library/crpsl2/C646.PDF> (Acceso: 14 Agosto 2011).

- Texas Agricultural Extension Service (2011) Freeze injury on wheat. Disponible en: <http://varietytesting.tamu.edu/wheat/docs/mime4.pdf> (Acceso 14 Agosto 2011).
- Tripathi, SC., Sayre, KD., Kaul, JN. y Narang, RS. (2003) Growth and morphology of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) culms and their association with lodging: effects of genotypes, N levels and ethephon. *Field Crops Research* 84, 271-290.
- Tripathi, SC., Sayre, KD., Kaul, JN. y Narang, RS. (2004) Lodging behavior and yield potential of spring wheat (*Triticum aestivum* L.): effects of ethephon and genotypes. *Field Crops Research* 87, 207-220.
- Warrick, B.E. and Travis, D.M. Freeze injury on wheat. Texas Agricultural Extension Service.
- Zuber, U., Winzeler, H., Messmer, MM., Keller, M., Keller, B., Schmid, JE. y Stamp, P. (1999) Morphological traits associated with lodging resistance of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science* 182, 17-24.

TRIGO

Recomendaciones generales



Capítulo 21: Recomendaciones generales para buenas prácticas de campo

Alistair Pask y Julián Pietragalla

Es de suma importancia que los investigadores tengan definidos claramente los objetivos de un experimento para poder seleccionar correctamente el diseño experimental, los métodos de muestreo y las mediciones más apropiadas.

Asegúrese de planear todo cuidadosamente, tomando en cuenta el tiempo y los recursos disponibles para realizar mediciones precisas y repetibles.

1. Diseño experimental para la caracterización fisiológica del germoplasma

	<p>Elección del ambiente objetivo: que sea apropiado para los objetivos del experimento (es decir, en cuanto al perfil de temperaturas, radiación diaria, lluvia, latitud, tipo de suelo, etc.) y que permita realizar los tratamientos adecuados (es decir, fechas de siembra, manejo del cultivo, etc.).</p>
	<p>Elección del germoplasma: deben tomarse en cuenta las siguientes consideraciones al seleccionar el material: (i) adaptación general al ambiente objetivo; (ii) rango de fenología aceptable; (iii) tipo agronómico aceptable; (iv) resistencia a plagas y enfermedades; (v) diversidad genética y de características/rasgos; (vi) no contrastantes en genes para la reducción de la altura (<i>Rht</i>), fotoperiodo (<i>Ppd</i>) o hábitat de crecimiento (<i>Vrn</i>), a menos que esto se encuentre bajo estudio; y, (vii) baja variación en factores que pueden confundir el análisis (por ejemplo, altura).</p>
	<p>Número de líneas: empiece realizando observaciones preliminares con un amplio rango de diversidad genética para determinada característica. En ciclos posteriores, el número de líneas puede reducirse drásticamente a líneas que abarquen una amplia gama de diversidad genética para observaciones detalladas.</p>
	<p>Número y tipo de parcelas: es determinado por el número de genotipos, tratamientos y repeticiones que están siendo probados, de acuerdo a los objetivos del experimento. Los diseños estadísticos con repeticiones se usan en la caracterización fenotípica detallada (por ejemplo, diseño de látice), o diseños sin repeticiones con testigos repetidos (por ejemplo, testigos locales), que se usan para una rápida evaluación en grandes poblaciones. También hay que incluir parcelas de bordes en el experimento para absorber los factores externos.</p>
	<p>Establecimiento en el experimento: es muy importante tener un establecimiento consistente a través del experimento en campo para reducir la variación dentro de la parcela. Esto incluye: manejo agronómico consistente (por ejemplo, profundidad de siembra, calidad de la semilla, disponibilidad de agua, control de plagas y enfermedades); evitar efectos vecinos (como por ejemplo, el sombreado por árboles y/o construcciones); considerar gradientes (por ejemplo, tratamientos de bloques a lo largo de las pendientes); orientación de las hileras (es decir, generalmente en una dirección N/S para minimizar el sombreado dentro de la parcela especialmente cuando el ángulo del sol es bajo); y, minimizar la heterogeneidad del suelo (por ejemplo, usar las mejores y más consistentes partes del campo para tratamientos de estrés, ya que estos experimentos son más susceptibles a las variaciones del lugar).</p>
	<p>Tamaño de la parcela: cada parcela debe contener suficiente material vegetativo para brindar el máximo grado de precisión en los datos (reduciendo la variación debida a variables no controlables y efectos de borde) de tal forma que pueda ser tratada de forma independiente a las parcelas vecinas (por ejemplo, agua, fertilizantes, y/o aplicación de plaguicidas, y técnicas de cosecha). Las parcelas muy pequeñas incrementarán la variación dentro de las mismas; sin embargo, el tamaño óptimo de parcela requiere experiencia de campo y criterio científico.</p>
	<p>Análisis e interpretación: los datos son evaluados para: (i) expresión significativa y consistente de la característica de interés, y (ii) una asociación de la característica con el desempeño entre genotipos. La interpretación de la asociación entre características y el desempeño puede confundirse por otros factores genéticos, tales como diferencias en fenología, tipo de planta, etc. en poblaciones no homocigotas.</p>

2. Muestreo y selección de muestras

Para una selección imparcial y representativa de tallos, plantas y/o áreas dentro del cultivo, es importante mantener un criterio de selección uniforme para el material

vegetal a través de todo el proceso de muestreo. Los siguientes puntos deberán tomarse en consideración:

Hacer:	No hacer:
Elija un tamaño de muestra que proporcione el máximo grado de precisión en los datos. Considere el número de réplicas, variables estudiadas, variabilidad entre parcelas, grado de precisión deseado, diseño experimental y recursos disponibles.	No muestree en los bordes de la parcela (es decir, en las hileras de fuera y en los extremos terminales (usualmente ≥ 50 cm) de la parcela), ya que estos presentarán un crecimiento no representativo. Cuando se muestrea repetidamente en el ciclo, hay que asegurarse de dejar bordes apropiados entre muestreos (Figuras 21.1 y 21.2).
Seleccione muestras de manera aleatoria: (i) seleccione tallos o plantas desde la base y no desde la punta o espiga para evitar parcialidad en la selección (por ejemplo, para contenido de clorofila); o (ii) seleccione áreas colocando marcos cuadrantes o eligiendo hileras al azar (por ejemplo, para la biomasa de la temporada).	No muestree en partes no representativas de la parcela (por ejemplo, en áreas con poco establecimiento y/o con distintivamente entre buen/pobre crecimiento). Estas áreas deberán de marcarse durante sus etapas tempranas de crecimiento para ayudar en la identificación durante etapas de desarrollo posteriores del cultivo.
Seleccione muestras sistemáticamente: (i) seleccione tallos o plantas contándolos hasta una posición predeterminada (por ejemplo, cada 10 tallos); o (ii) seleccione áreas a una distancia predeterminada dentro del campo o parcela.	No seleccione tallos, plantas o áreas de muestreo que no sean representativos del campo o de la parcela. En general, evite la selección visual de muestras (a menos que sea muy obvio que la muestra no es representativa).
Emplee el sub-muestreo y el sub-muestreo de manojos donde no sea posible medir el cuadrante/marco completo (por ejemplo, debido a limitaciones de tiempo o mano de obra, y para reducir los requerimientos de espacio/recursos) (Figura 21.3)	No restrinja el muestreo a sólo una parte de la parcela. Distribuya las muestras alrededor de la parcela para incluir lo máximo posible de la parcela (por ejemplo, en un diseño de camas levantadas de dos hileras sería aconsejable muestrear de igual manera de todas las hileras/ambas camas).

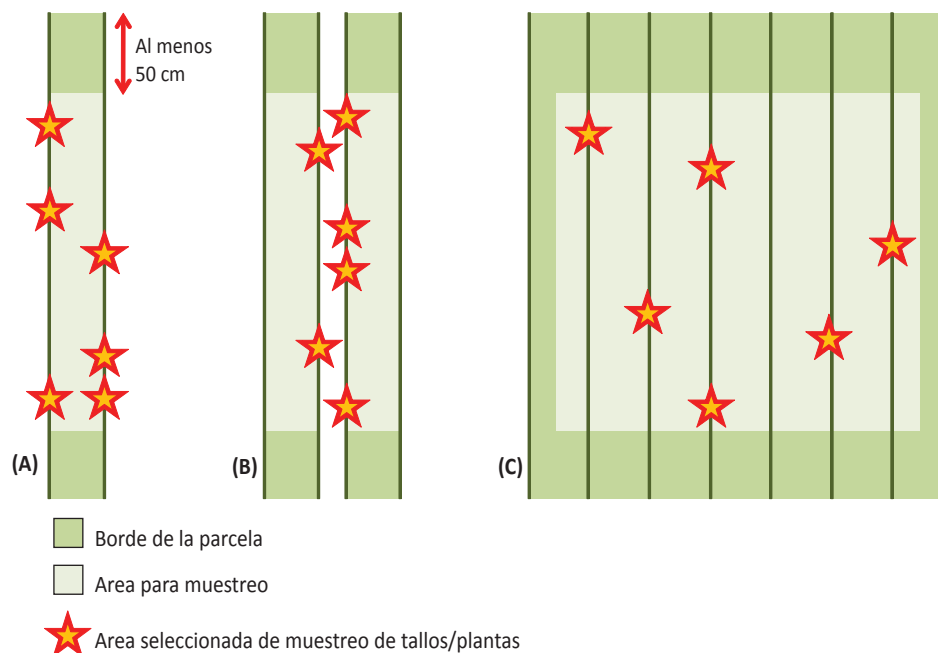


Figura 21.1. Muestreo al azar de tallos/plantas dentro de distintos sistemas de siembra: (A) una cama levantada con dos hileras de plantas; (B) dos camas levantadas con dos hileras de plantas cada una; y, (C) siembra al voleo/en plano con ocho hileras de plantas distribuidas en la parcela.

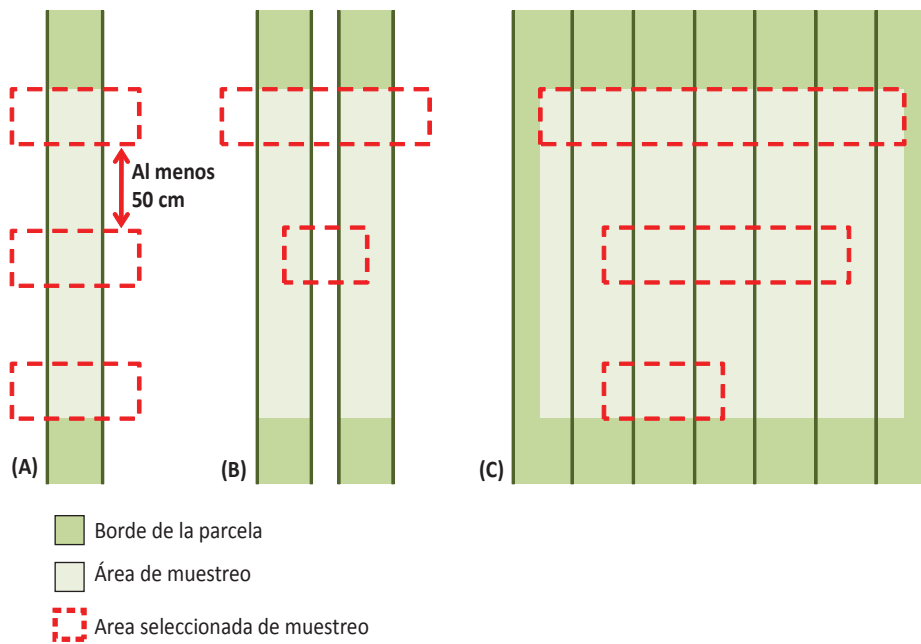


Figura 21.2 Muestreo cuadrático sistemático al azar dentro de diferentes sistemas de siembra: (A) una cama levantada con dos hileras de plantas; (B) dos camas levantadas con dos hileras de plantas cada una; y, (C) siembra al voleo/en plano con ocho hileras de plantas distribuidas en la parcela.

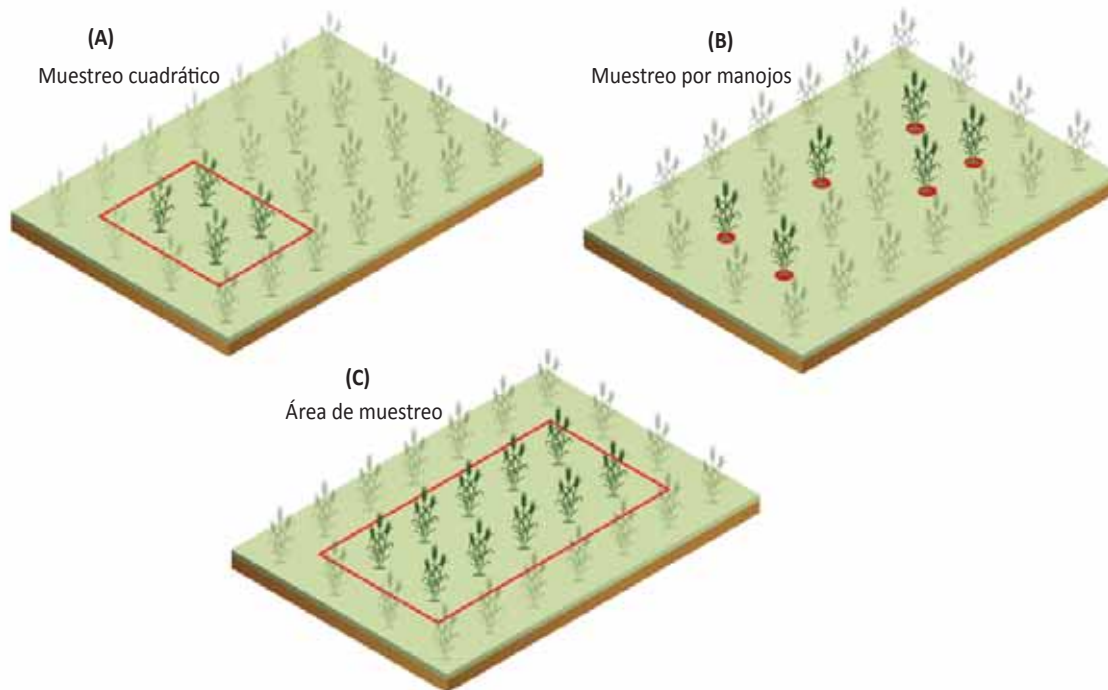


Figura 21.3 Enfoques de muestreo: (A) muestreo cuadrático; (B) muestreo por manojos; y, (C) área de muestreo.

3. Toma de mediciones y observaciones

Los siguientes puntos deben considerarse para obtener mediciones, observaciones y resultados precisos y representativos. Es muy importante mantener un enfoque uniforme a través de todo el proceso de toma de

mediciones. Cuando se usen instrumentos, véase también las recomendaciones generales para el uso correcto de los mismos (en este volumen, Capítulo 22).

Hacer:	No hacer:
Tome muestras/mediciones lo más precisa y consistentemente posible para reducir el error experimental, incrementar la comparabilidad entre datos, y reducir las diferencias entre las medias de las variedades para incrementar el éxito en el análisis estadístico.	No cambie de observador/operador de instrumento durante el muestreo. Es muy importante que la misma persona tome todas las mediciones durante un evento de muestreo o una unidad experimental (por ejemplo, una repetición o un bloque).
Siga los estándares en los procedimientos, y entrene observadores/operadores exhaustivamente (especialmente para mediciones/observaciones subjetivas). Recuerde registrar el nombre de la persona en el formato de campo (vea el ejemplo, Figura 21.4).	No tome mediciones individuales. Tome dos o más valores por parcela y compárelos para asegurarse de que los valores incorrectos, errores y fallas en los aparatos sean rápidamente detectados y descartados. Repita las mediciones cuantas veces sea necesario (por ejemplo, cuando las lecturas difieren por >10%).
Haga planes para evitar posibles lecturas erróneas cuando se miden experimentos muy grandes. Divida el experimento en áreas más pequeñas (es decir, repeticiones, bloques, hileras o columnas) para reducir errores y evitar que la persona se fatigue. Un asistente es muy útil, y puede ayudar a detectar errores.	No olvide llevar consigo el mapa de campo, y etiquetar cada parcela individualmente para ayudar al observador/científico a orientarse. Asegúrese de llenar el formato de campo para cada evento de muestreo.
Familiarícese con los valores esperados para las observaciones/mediciones, y lecturas de los instrumentos usuales para cada tratamiento/ambiente (ejemplos proporcionados en cada capítulo). Recuerde corroborar la etiqueta con el número de la parcela.	No empiece sin haberse familiarizado con la metodología, con la pre-preparación del equipo, para permitirse tener suficiente tiempo en campo para tomar las mediciones, y organizar el laboratorio de antemano para facilitar un procesamiento ininterrumpido (por ejemplo, para potencial hídrico de la hoja).

4. Formato y mapa de campo

Cada formato de campo debe contener: nombre del ensayo, fecha de muestreo, ambiente (por ejemplo, 'bajo riego', 'sequía' o 'calor', etc.) y/o tratamiento, estado de desarrollo de la planta, nombres de científicos/operadores/

observadores, hora de inicio y final, observaciones medioambientales (por ejemplo, temperatura del aire, humedad relativa, etc.), cualquier observación relevante (por ejemplo, viento, condición del cultivo, etc.) (Figura 21.4).

Formato de campo para temperatura del dosel									
Nombre del experimento:	Elite Fisiología					Inicio	Final		
Fecha:	20/Marzo/11					Tiempo:	11:30		12:00
Ambiente:	Riego					Temperatura del aire:	32.8		33.4
Etapa fenológica:	Vegetativo					Humedad relativa:	34		33
Científicos:	J.P. y M.R.								
Observaciones: Un poco de viento, el termómetro infrarrojo necesita nuevas baterías.									
41.	42.	43.	44.	45.	46.	47.	48.	49.	50.
40.	39.	38.	37.	36.	35.	34.	33.	32.	31.
21.	22.	23.	24.	25.	26.	27.	28.	29.	30.
20.	19.	18.	17.	16.	15.	14.	13.	12.	11.
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.
25.8	25.4	26.1							
25.6	25.3	26.0							

Figura 21.4 Ejemplo de un formato de campo para la medición de la temperatura del dosel. El formato facilita un registro efectivo y manejable de los datos, lugar e información ambiental.

5. Registro de información sobre el cultivo, el lugar y el ambiente

Los datos y observaciones en el cultivo, así como el lugar y ambiente a lo largo del ciclo experimental y durante las mediciones/observaciones, son importantes para asistir al análisis y a la interpretación de datos fisiológicos, y puede ayudar a identificar y explicar anomalías en los mismos (Figura 21.5).

Cultivo:

- **Salud:** un cultivo experimental saludable es esencial para asegurar la calidad de los datos, los cuales representan el rendimiento potencial de los genotipos del ensayo y bajo un ambiente en particular. Registre: incidencia de enfermedades, plagas, malezas (incluyendo identificación, fecha y severidad).
- **Desarrollo:** fechas de siembra y establecimiento, y registros periódicos de las etapas de desarrollo, especialmente hasta espigamiento, floración y madurez fisiológica.
- **Efecto del estrés:** resultante de los estreses impuestos en condiciones experimentales: sequía, calor y su interacción.
- **Daño:** causado por el clima (por ejemplo, helada), ambiente (por ejemplo, sequía del ápice, acame), plagas (por ejemplo, áfidos, aves) o enfermedades (por ejemplo, roya).
- **Labranza:** las aplicaciones de fertilizantes, herbicidas, pesticidas y fungicidas pueden afectar la fisiología del cultivo (por ejemplo, el intercambio de gases en la planta), por lo que los registros son esenciales para la planeación de los muestreos/mediciones.

Lugar:

- **Ubicación:** nombre del lugar y ubicación física: coordenadas de latitud y longitud.
- **Información:** profundidad del suelo, textura, toxicidad, contenido de materia orgánica, distribución de la humedad, contenido de nutrientes, y barreras físicas para las raíces, deberían considerarse antes de/al sembrar; gradientes, tales como pendientes del suelo, etc.
- **Usos previos:** cultivo y/o uso de la tierra durante los últimos 3 años.
- **Disponibilidad de agua:** existente al sembrar, entradas por lluvia y riegos.

Ambiente:

- **Meteorología:** estos datos deberían de tomarse tan cerca como sea posible a la ubicación del experimento durante por lo menos el tiempo de duración del ciclo del cultivo, diariamente:
 - i. Temperatura: mínima, máxima y media (a menudo estimada como un promedio de la mínima y la máxima).
 - ii. Lluvia/precipitación
 - iii. Horas de sol/radiación solar
 - iv. Humedad relativa
- **Condiciones presentes durante las mediciones/observaciones:** registre las condiciones que podrían afectar a la fisiología del cultivo y/o a la mediciones: observaciones de viento (por ejemplo, si el viento era leve o moderado) o nubes (por ejemplo, alguna nubosidad), etc.

NOTAS DE UN ENSAYO DE RENDIMIENTO		Programa Global de Trigo del CIMMYT y Programa de Mejoramiento de Trigo (CARDACIMMYT)	
País: _____ Estado, provincia o departamento: _____ Población y ciudad: _____ Finca o estación experimental: _____ Institución: _____ Cooperador(es) o investigadores: _____ E-mail: _____		Nombre del ensayo: _____ Occurrence: _____ Cooperator ID: _____	
LATITUD minutos: _____ segundos: _____ grados: _____ minutos: _____ segundos: _____ ALTITUD sobre el nivel del mar: _____ m minutos: _____ segundos: _____ grados: _____ minutos: _____ segundos: _____ ALTITUD sobre el nivel del mar: _____ m		¿APLICO FERTILIZANTE? (SI/NO) si SI, anotar unidades utilizadas si es, distinta a kg/ha cantidad	
FECHA DE SIEMBRA día: _____ mes: _____ año: _____		fechas: 1a. día: _____ mes: _____ año: _____ (%N) (%P ₂ O ₅) (%K ₂ O) otros(s) elemento(s) 2a. día: _____ mes: _____ año: _____ 3a. día: _____ mes: _____ año: _____	
ESTABLECIMIENTO días: _____ meses: _____ años: _____		¿HERBICIDA? (SI/NO) ¿FUNGICIDA? (SI/NO) ¿PESTICIDA? (SI/NO) ¿OTRO PRODUCTO? (SI/NO)	
EMERGENCIA día: _____ mes: _____ año: _____		si SI, especificar producto(s) si SI, especificar producto(s) si SI, especificar producto(s) si SI, especificar producto(s)	
FECHA día: _____ mes: _____ año: _____		CLASIFICACION _____ SUELO _____	
COSECHA día: _____ mes: _____ año: _____		TEXTURA DE SUPERFICIE arenoso franco: _____ se desconoce: _____ franco: _____ franco arcilloso: _____ arcilloso: _____ otro: _____	
DIMENSIONES DE LA PARCELA no. de surcos: _____ largo de los surcos: _____ m _____ cm espacio entre surcos: _____ g/parcela: _____ kg/parcela: _____		¿TOXICIDAD POR ALUMINIO? (SI/NO) si SI, especificar: _____ OBSTACULO PARA LAS RAICES se desconoce: _____ si SI, a qué profundidades: _____ cm si NO, dar profundidad de la zona de raíces: _____ cm	
RENDIMIENTO PROPORCIONADO EN: ent. de trigo: _____ ent. de maíz: _____		¿toxiciad o carencia de otros nutrientes? (SI/NO) si SI, especificar: _____	
LISTA DE PROBLEMAS (✓) ausente: _____ daño por plagas: _____ daño por nematodos: _____ daño por hongos: _____ trazas: _____ daño por arañas: _____ daño por escarabajos: _____ leve: _____ moderado: _____ severo: _____		ESTIMACION DEL AGUA DISPONIBLE PARA EL CULTIVO ¿Riego? <input type="checkbox"/> si SI, dar: _____ No. de riegos previos a la siembra: _____ No. de riegos posteriores a la siembra: _____	
SI HAY PROBLEMA DE MALEZAS MODERADO O SEVERO, ESPECIFICAR LAS PRINCIPALES ESPECIES		PRECIPITACION EN LOS 12 MESES PREVIOS A LA COSECHA mes: _____ año: _____ precipitación (mm): _____	
OTROS COMENTARIOS, PROBLEMAS Y OBSERVACIONES RESPECTO A FACTORES ADVERSOS (NO CLIMATICOS)		PRECIPITACION EN LOS 12 MESES PREVIOS A LA COSECHA mes: _____ año: _____ precipitación (mm): _____	
CLIMA (COMENTARIOS GENERALES, SOBRE TODO ANOTAR EVENTOS ANORMALES)		PRECIPITACION EN LOS 12 MESES PREVIOS A LA COSECHA mes: _____ año: _____ precipitación (mm): _____	
USO DE LA PARCELA EN EL CICLO ANTERIOR suelo natural o mejorado: _____ descanso sin malezas: _____ descanso con malezas: _____		TOTAL DE AGUA DISPONIBLE más de cosecha: _____ mm menos de cosecha: _____ mm PRECIPITACION TOTAL en mm	

Figura 21.5. Ejemplo de formato para notas en un experimento de rendimiento.

Capítulo 22: Recomendaciones generales para el uso de instrumentos

Julián Pietragalla y Alistair Pask

1. Uso correcto de los instrumentos

Las instrucciones pueden variar de acuerdo con la marca y el modelo de su instrumento. Consulte el manual de usuario

del instrumento para obtener información específica (modos, mediciones, descarga de datos, etc.), mayores detalles y aclaraciones.

Qué hacer:	Qué no hacer:
Asegúrese de que el operador está familiarizado con cada instrumento, funcionamiento, enfoque correcto para la toma de datos, y lecturas esperadas antes de ir al campo – vale la pena recibir el asesoramiento y capacitación de un usuario experimentado y leer el manual de usuario	No utilice ningún instrumento antes de que se haya equilibrado con la temperatura ambiental y la humedad relativa (HR) ya que esto puede afectar la calibración y los datos. Saque el instrumento de su estuche protector y enciéndalo por lo menos 10 minutos antes de empezar a utilizarlo.
Realice las mediciones de forma consistente – esto es muy importante. En particular, asegúrese de que el instrumento está calibrado correctamente antes de (y en ocasiones durante) su uso. Manténgase atento a los datos durante la medición para evitar datos erróneos, y variaciones grandes dentro de una parcela.	No deje los instrumentos bajo la luz solar directa/calor antes de su uso ya que esto puede afectar la calibración y provocar lecturas incorrectas (especialmente para instrumentos con estuches negros). Cuando mida la temperatura del aire y HR, colóquese con la espalda hacia el sol para que no exponga el instrumento a la luz solar durante las mediciones.
Utilice baterías del tipo correcto, tamaño y polaridad. Recargue las baterías completamente antes de usarlas (tome en cuenta que pueden requerir cargarse durante la noche). Lleve baterías de repuesto a campo para asegurar que no se interrumpan las mediciones.	No opere un instrumento fuera de la temperatura y rango de HR especificados para el instrumento, ya que las mediciones tomadas pueden ser incorrectas (verifique el manual de usuario para obtener las especificaciones). El exceso de calor y humedad/HR puede causar daños permanentes (tenga en cuenta que los instrumentos no suelen ser resistentes al agua).
Asegúrese de tomar mediciones de la repetición completa con el mismo instrumento. Si más de un instrumento está disponible, compárelos para comprobar que están registrando datos similares.	No deje tirados los instrumentos después de usarlos. Recuerde que debe limpiar el instrumento, regresarlo a su estuche de protección y luego al almacén de equipos. Es importante que cada instrumento se almacene limpio, seco, libre de polvo y en su estuche de protección.
Permita que datos sean fáciles de interpretar/procesar en una fecha posterior. Por ejemplo, cuando se tomen lecturas con un registrador de datos (<i>data logger</i>) que registra sólo información básica, al final de cada sección tome dos lecturas en blanco sin muestra en la cámara de sensores, a modo de “marcador final”.	No se deshaga de instrumentos con mal funcionamiento, o cuando haya anomalías o problemas durante su uso. Una reparación y/o recalibración del instrumento puede ser necesaria, lo que podría implicar devolver el instrumento al fabricante/especialista. Esto podría tardar semanas o meses.

2. Secado de las muestras

Es importante que las muestras sean secadas hasta su peso seco absoluto (PS), es decir, 0% de humedad. El PS se refiere al peso que la muestra alcanza después de secarse en un lugar bien ventilado/horno de ventilación forzada (Figura 22.1A) a 60-75°C hasta llegar a un peso constante (generalmente durante al menos 48 horas) (ver Tabla 22.1).

Cuando seque las muestras:

- No mezcle muestras frescas con muestras secas.
- Organice el muestreo para optimizar el uso y espacio del horno.
- Utilice un horno sin ventilación forzada para muestras en contenedores abiertos (por ejemplo, muestras de humedad de suelo; Figura 22.1B).

Ajuste la temperatura y el tiempo según el tipo de muestra, contenido estimado de humedad y la capacidad del horno.

Tabla 22.1. Temperaturas y tiempos de secado generales para la determinación del peso seco. Note que el tiempo de secado puede variar según la capacidad de secado del horno.

Material	Temperatura (°C)	Tiempo (horas)
Contenido relativo de agua en hoja	60-75	24
Humedad de grano*	60-75	24-48
Biomasa (madurez)	60-75	48
Biomasa de raíz	60-75	48
Biomasa (de emergencia hasta llenado de grano)	60-75	48-72
Humedad del suelo (gravimétrico)	105	48

* Note que las semillas que podrían utilizarse para futuros ensayos no deben secarse en horno, ya que el secado a temperaturas >40°C y/o durante largos periodos de tiempo reduce la viabilidad de las semillas.

Notas para el secado de muestras para el análisis de nutrientes y/o metabolitos:

- Seque las muestras de biomasa a 60-75°C para N, P, K y para la determinación de carbohidratos solubles en agua.
- Altas temperaturas de secado >90°C durante largos periodos de tiempo pueden afectar el contenido de nutrientes. Algunos análisis de metabolitos específicos (por ejemplo, enzimas, proteínas, etc.) requieren de liofilización o secado en caliente de las muestras a una temperatura y duración exacta. Asegúrese de verificar los procedimientos específicos del laboratorio.



(A)



(B)

Figura 22.1. Hornos de secado: (A) horno de ventilación forzada de alta capacidad; y, (B) horno sin ventilación forzada de baja capacidad (adecuado para secar muestras en contenedores abiertos; por ejemplo, muestras de humedad de suelo).

3. Pesaje exacto de las muestras

Es esencial que se registren los pesos exactos del material muestreado. Una mala técnica de pesaje y/o uso incorrecto de la balanza causará errores significativos en los datos: ya sean consistentes (por ejemplo, debido a no retirar el peso de la bolsa "TARA") o aleatorios (por ejemplo, debido al enfriamiento irregular de las muestras secadas en horno).

Tenga en cuenta que todas las balanzas son sensibles a los cambios en el medio ambiente, y que las balanzas de laboratorio (tanto analíticas como de precisión) son más sensibles que las básculas de campo (es decir, balanzas de baterías o básculas de resorte). Siga las instrucciones del fabricante para la instalación, y:

- Mantenga el nivel (use el nivel de burbuja incorporado).
- Mantenga la balanza en una superficie estable y sin vibraciones (por ejemplo, en un pedestal de concreto).
- Evite áreas cercanas a calentadores, hornos o aires acondicionados.
- Evite la luz solar directa y las corrientes de aire.
- Evite compartir la misma toma de corriente con aparatos de alto consumo (por ejemplo, un horno microondas).

Es esencial seleccionar el tipo de balanza de acuerdo con la capacidad y resolución demandada (Tabla 22.2; Figura 22.2). Con frecuencia se observa que las muestras se pesan en balanzas inapropiadas (por ejemplo, el pesaje de 20 tallos para repartición de asimilados, en una balanza de precisión grande en lugar de una balanza de precisión pequeña).

Cuando pese las muestras:

- No pese las muestras calientes directamente salidas del horno – considere un tiempo para que se enfríen a la temperatura de la habitación antes de pesarlas – para evitar lecturas incorrectas y/o causar daño a la balanza.

Tabla 22.2. Recomendaciones para el tipo de balanza y resolución mínima requerida para la determinación del peso de muestra en varios tipos de muestras.

Muestra	Peso medio (g)	Tipo de balanza	Resolución mínima (g)
PF de granos en parcelas de 2 m ²	>1000	Industrial/de mesa	5
PF de biomasa en parcelas de 2 m ²	>1000	Industrial/de mesa	5
PF de sub-muestra de 100 tallos	500	Precisión grande	1
PS de sub-muestra de 100 tallos	200	Precisión mediana	1
Peso de sub-muestra de granos	50	Precisión pequeña	0.1
Humedad de suelo (de 100g)	30	Precisión pequeña	0.1
PS de la biomasa de 20 tallos	20	Precisión pequeña	0.01
PF y PS de 200 granos	10	Precisión pequeña	0.01
Muestras de hojas para CRA	<2	Semi-analítica	0.001
Biomasa de raíz (de 100g)	<2	Semi-analítica	0.001

Donde: PF = peso fresco; PS = peso seco; CRA = contenido relativo de agua.

- No permita que las muestras absorban humedad después de haber sido secadas en el horno. Una vez secas y con el paso del tiempo, las muestras tienden a equilibrarse con la humedad ambiental (esto puede ser en cuestión de horas o días dependiendo de la HR y tipo de muestra).
- Las muestras para pesaje de precisión deben mantenerse en un desecador después de secadas (apropiado sólo para cantidades pequeñas).
- Distribuya el peso de la muestra uniformemente en el plato de la balanza.
- Para muestras pequeñas (<20 g), vacíe cuidadosamente la muestra del contenedor (es decir, la bolsa, sobre, etc.) en un contenedor de pesaje específico (y recuerde substraer el peso del contenedor del peso total).
- Para muestras >20 g, mantenga la muestra en su contenedor para evitar pérdidas (y recuerde TARAR el peso del contenedor).

Retirar el peso del contenedor utilizando una “TARA”:

Cuando se pese una muestra en un contenedor (por ejemplo, una bolsa, sobre, tubo, etc.), recuerde “TARAR” primero ese peso para que el peso del contenedor sea deducido del peso bruto para obtener el peso de la muestra. Esto suele ser apropiado para muestras >20 g.

Para hacer esto:

- Seleccione un contenedor vacío que sea idéntico al de la muestra (es decir, de la misma caja/paquete, con los mismos agujeros de ventilación o grapas – si las tuviera -, etc.).
- Seque el contenedor vacío en el horno a un lado de las muestras (por el mismo tiempo de secado).
- Antes de pesar las muestras, coloque este contenedor vacío en la balanza y presione “RE-ZERO”/“TARE”.
- La balanza deberá mostrar cero con el contenedor vacío en el plato, o un valor negativo cuando el contenedor es retirado (y el plato se encuentra vacío).

- Note que los pesos del contenedor individual pueden variar ligeramente. Asegúrese de seleccionar un buen y representativo contenedor para TARA.

Una alternativa al uso de un contenedor TARA es: (i) substraer el peso seco promedio de los contenedores (utilice 10+ contenedores vacíos para hacer esto); o (ii) pesar los contenedores individuales (como para los recipientes de aluminio en la determinación del contenido de humedad en suelo, este volumen, Capítulo 17).

4. Rangos y unidades típicas

Se recomienda mantener todas las mediciones en el mismo sistema de unidades; generalmente en la escala decimal (Tabla 22.3 y 22.4).

Tabla 22.3. Unidades de medición útiles.

Múltiplo	Área / longitud	Peso
1,000,000	-	Tonelada (t)
10,00	Hectárea (ha)	-
1,000	-	Kilogramo (kg)
1	Metro (m / m ²)	Gramo (g)
0.01	Centímetro (cm)	-
0.001	Milímetro (mm)	Miligramo (mg)

Tabla 22.4. Unidades típicas de expresión de datos.

Muestra	Medida como	Expresada como
Pesos de rendimiento de grano y de biomasa	g parcela ⁻¹	g m ⁻² ó t ha ⁻¹
Peso seco de tallos y componentes del cultivo (por ejemplo lámina de la hoja, vaina, tallo)	g por sub-muestra de 20 tallos	g m ⁻² ó g tallo ⁻¹
Biomasa de raíces	g g suelo ⁻¹	g cm ³ suelo ⁻¹

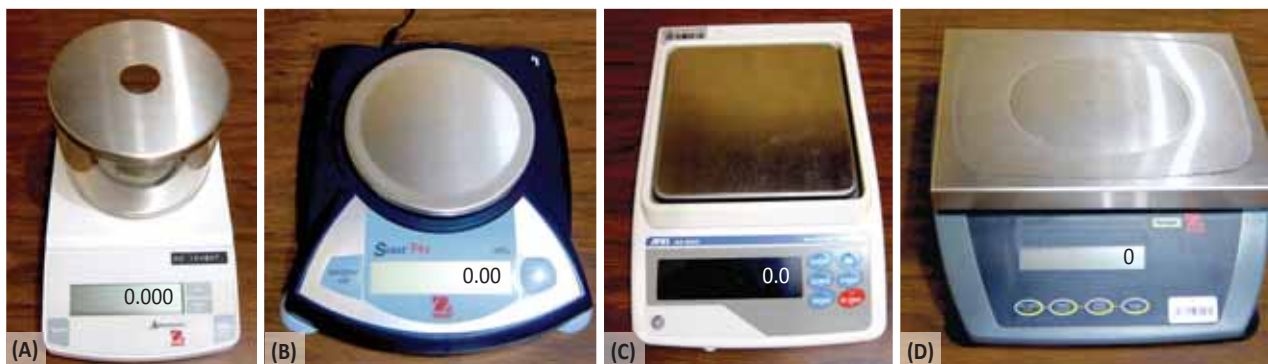


Figura 22.2. Tipos de balanzas para mediciones fisiológicas, mostrándose: (A) semi-analítica (3 p.d.); (B) precisión pequeña (2 p.d.); (C) precisión media/larga (1 p.d.); y, (D) Industrial/de mesa (0 p.d.).

5. Sugerencias en modelos de instrumentos

En la mayoría de los capítulos de este manual se hacen referencias a instrumentos específicos. La mención de marcas y productos comerciales es de carácter informativo

solamente, y no implica respaldo por parte de CIMMYT. Los precios indicados sirven como pautas, las mismas que variarán de acuerdo a los accesorios, funcionalidad, impuestos y aranceles de aduana. La Tabla 22.5 proporciona detalles de los modelos de instrumentos sugeridos.

Tabla 22.5. Modelos de instrumentos sugeridos (sitios web visitados en Agosto 2011).

Instrumento	Marca	Modelo	Nivel de Medición	Sitio web
Ceptómetro	Delta-T Devices	SunScan System, y SS1	Dosel	http://www.delta-t.co.uk/
	Decagon Devices	AccuPAR LP-80	Dosel	http://www.decagon.com/
Fluorómetro de clorofila	Opti-Sciences	OS1-FL, y OS-30p	Foliar	http://www.optisci.com/
	Qubit Systems	Z990 FluorPen	Foliar	http://www.qubitsystems.com/
	Walz	PAM-2500, MINI-PAM	Foliar	http://www.walz.com/
	Hansatech Instruments	FMS 2, Pocket-PEA	Foliar	http://www.hansatech-instruments.com/
Medidor de clorofila	Minolta	SPAD 502 Plus	Foliar	http://www.specmeters.com/
	Field Scout	CM 1000	Dosel	http://www.specmeters.com/
	Opti-Sciences	CCM-200	Foliar	http://www.optisci.com/
	Hansatech Instruments	CL-01	Foliar	http://www.hansatech-instruments.com/
	Apogee	CCM-200	Foliar	http://www.apogeeinstruments.com/
	FT Green, LLC	At Leaf	Foliar	http://www.atleaf.com/
Termómetro infrarrojo	Qubit Systems	Z955 Nitrogen Pen	Foliar	http://www.qubitsystems.com/
	Sixth Sense	LT300	Dosel	http://www.instrumart.com/
	Mikron	MI-N14	Dosel	http://www.mikroninfrared.com/
Medidor de área foliar	Extech	42540	Dosel	http://www.extech.com/instruments/
	Licor	LI-3100C, y LI-3000C	Foliar	http://www.licor.com/
	CID Bio-Science	CI-202, y CI-203	Foliar	http://www.cid-inc.com/
Porómetro foliar	Delta-T Devices	WinDIAS 3	Foliar	http://www.delta-t.co.uk/
	Decagon Devices	AP4	Foliar	http://www.decagon.com/
Índice de vegetación de diferencia normalizada (NDVI)	SC-1	SC-1	Foliar	http://www.decagon.com/
	NTech Industries	GreenSeeker portable de mano	Dosel	http://www.greenseeker.com/
	Holland Scientific	Crop Circle portable de mano	Dosel	http://www.hollandscientific.com/
	Field Scout	CM 1000 NDVI	Dosel	http://www.specmeters.com/
Sistema medidor de fotosíntesis	Qubit Systems	Z950 NDVI	Foliar	http://www.qubitsystems.com/
	LI-COR	6400-TX	Foliar/planta	http://www.licor.com/
	PP Systems	CIRAS-2	Foliar/planta	http://www.ppsystems.com/
	CID Bio-Science	CI-340	Foliar	http://www.cid-inc.com/
	WALZ	GFS-3000	Foliar	http://www.walz.com/
Cosechadora combinada	ADC	LCpro-SD	Foliar	http://www.adc.co.uk/
	Wintersteiger	Classic	Parcela	http://www.wintersteiger.com/
Molino para muestras (picadora)	Almaco	PMC 20, SPC 20	Parcela	http://www.almaco.com/
	UDY Corporation	Cyclone	Grano/biomasa	http://www.udyone.com/
	IKA	MF 10.1	Grano/biomasa	http://www.ika.net/
	FOSS	Cyclotec 1093	Grano/biomasa	http://www.foss.dk/
Cámara de presión Scholander	Thomas Wiley	Model 4, y Mini	Grano/biomasa	http://www.thomassci.com/
	Soil moisture Equipment Corp.	3000 Series, y 3005 Series	Foliar	http://www.soilmoisture.com/
	Skye	SKPM 1405/50	Foliar	http://www.skyeinstruments.com/
Contador de semillas (automático)	PMS Instrument Company	Model 600	Foliar	http://www.pmsinstrument.com/
	Seedburo	801 Count-A-Pak	Grano	http://www.seedburo.com/
Contador de semillas (manual)	Pfeuffer	CONTADOR	Grano	http://www.pfeuffer.com/
	Seedburo	Placement Trays	Grano	http://www.seedburo.com/
Extractor de muestras de suelo (martillo de percusión eléctrico)	Eijkelpamp Agrisearch Equipment	Percussion drilling set with light electrical percussion hammer	Suelo/raíz	http://www.eijkelpamp.com/
Extractor de muestras de suelo (montado al tractor)	Giddings Soil Sampling Co.	#15	Suelo/raíz	http://www.soilsample.com/
Espectrómetro	Spectral Evolution	PSR-2500	Dosel/hoja	http://www.spectralevolutions.com/
	Ocean Optics	JAZ	Dosel/hoja	http://www.oceanoptics.com/
	PP-Systems	UniSpec SC, y UniSpec DC	Dosel/hoja	http://www.ppsystems.com/
	CID Bio-Science	CI-700 (con sujetador foliar)	Hoja	http://www.cid-inc.com/
Espectroradiómetro	ASD Inc	FieldSpec 3, AgriSpec, y HandHeld 2	Dosel/hoja	http://www.asdi.com/
	Spectral Evolution	PSR-2500, y PSR-1100	Dosel/hoja	http://www.spectralevolutions.com/
Trilladora	Almaco	SBT y LPT	Parcela	http://www.almaco.com/
Osmómetro de presión de vapor	EliTech Group-Wescor	VAPRO 5600	Tejido/savia	http://www.wescor.com/

Apéndice: Glosario y abreviaciones

Antesis o floración: es el periodo en el cual la planta produce polen y define el número de granos. La lema y la palea de cada florete son forzadas a separarse por el hinchazón de sus lodículos, lo que permite protruir a las anteras.

Cultivar: es un tipo de trigo con características deseables, el cual ha sido liberado comercialmente y es sembrado y cultivado.

Selección de generación temprana (SGT o EGS, acrónimo de *early generation selection*): para características que expresan una buena asociación con rendimiento y heredabilidad moderada a alta, permitiendo la eliminación de material pobre de un programa de mejoramiento. La SGT permite la evaluación de una gran cantidad de material en generaciones tempranas, a la vez de ahorrar tiempo y recursos para la selección de los de mayor potencial.

Labranza convencional: Invertir la capa de la superficie del suelo, incorporando residuos de cultivo y de la vegetación, y rompiendo la superficie hasta lograr un labrado fino.

Fase de desarrollo: el desarrollo de la planta de trigo se divide en tres fases claves: (i) vegetativa (desde la germinación hasta la aparición de la espiguilla terminal); (ii) reproductiva (desde la aparición de la espiguilla terminal hasta finales de antesis); y (iii) llenado de grano (desde final de antesis hasta la madurez fisiológica).

Etapas de desarrollo o etapas de “crecimiento”: el desarrollo de la planta de trigo se divide en 10 etapas claves que marcan cambios importantes en el ciclo de vida del cultivo (véase la escala de Zadoks, en este volumen, Capítulo 14).

Peso seco: se refiere al peso constante alcanzado después del secado; para material vegetal, generalmente se realiza a 60-75 °C durante 48 horas en un horno bien ventilado/aire forzado.

Tallo fértil: Son los tallos que se espera produzcan espigas (durante el periodo GS30-50), o que presentan una espiga (después de GS50).

Genotipo: es una identidad genética específica de una planta de trigo/cultivo, usualmente con referencia a una característica específica bajo consideración y/o parentesco.

Toma de muestra: se toma en el campo haciendo manojos de muestra de manera aleatoria dentro de la parcela, tomando en cuenta todas las hileras cosechadas, hasta que un número definido de tallos/plantas o hasta que el peso de muestra sea alcanzado. Este método reduce el volumen de muestra en campo.

Índice de cosecha: es la relación entre el rendimiento de grano y la biomasa aérea (sobre la superficie del suelo).

Labranza mínima: con un número limitado de pasadas de la maquinaria, su objetivo es lograr muy poca perturbación del suelo y el control físico de malezas, pero también dejar mucho de los residuos del cultivo en la superficie del suelo o en las capas superficiales.

Fenología: es la ocurrencia de eventos durante el ciclo de vida de la planta (por ejemplo, la fecha de inicio de la floración).

Fenotipo: es la suma de las características observables de la planta/cultivo de trigo, tales como su morfología, desarrollo, y propiedades bioquímicas y fisiológicas. Es una expresión de ambos, el genotipo y el ambiente

Radiación fotosintéticamente activa: es la proporción del espectro de luz solar que puede ser utilizado por las plantas para la fotosíntesis, se encuentra entre las longitudes de onda 400 (azul) y 700 nm (rojo).

Estado hídrico de la planta: es una descripción del contenido de agua de una planta/hoja en relación al que se requiere para lograr un crecimiento óptimo.

Población: es una colección de trigos para mejoramiento o para propósitos experimentales, generalmente de padres en común (por ejemplo, población F1).

Senescencia: es la pérdida del verdor en los tejidos fotosintéticos, normalmente se presenta debido al envejecimiento pero también por enfermedades o estrés.

Potencial de demanda: es la capacidad del grano para usar asimilados provenientes de la fotosíntesis.

Medio día: es el momento cuando el sol se sitúa en el punto más alto del cielo durante el día. El ángulo del sol con respecto al horizonte (90°) se conoce como “ángulo Zénit” (requerido para los cálculos de ciertos parámetros de estructura del dosel, por ejemplo, índice de área foliar; también es importante anotar la longitud, latitud, fecha y hora del día).

Potencial de fuente: es la capacidad de la planta/cultivo para producir asimilados fotosintéticos.

Etapas de elongación de tallo: es el periodo en el cual el tallo se alarga, extendiendo las regiones entre los nudos del tallo. Los primeros nudos (uniones) llegan a ser visibles y progresivamente más grandes después de que la espiguilla terminal se ha formado en la espiga microscópica.

Estoma: son poros (aperturas) sobre la superficie de la hoja y el tallo que se usan para el intercambio de gases (es decir, oxígeno y dióxido de carbono).

Estrés: es una presión negativa en el rendimiento del cultivo (por ejemplo, sequía, calor).

Adaptación al estrés: es la habilidad de una planta/cultivo para reducir y/o resistir los efectos negativos de un estrés en particular.

Sub muestra: es una proporción de una muestra de campo tomada en el laboratorio. Este método permite realizar el procesamiento y el pesado de muestras en laboratorio con mayor precisión.

Macollo: es un brote lateral, por lo que los macollos de una planta no incluyen el tallo principal.

Rasgo: es una característica específica de una planta/cultivo (por ejemplo, enraizamiento profundo).

Transpiración: es la pérdida de agua desde la superficie de una planta, regularmente a través de los estomas.

Eficiencia de transpiración: es la cantidad de agua transpirada por gramo de dióxido de carbono fijado (calculado como: fotosíntesis/transpiración (es decir, A/T)), esta puede considerarse como equivalente al uso eficiente del agua a nivel de hoja.

Déficit de presión de vapor: es la diferencia entre el vapor saturado y la presión actual del aire.

Vigor: es el término usado para describir la capacidad de crecimiento de una semilla, planta u órgano.

Potencial hídrico: es un parámetro que describe el estado de energía del agua dentro de una planta, como la suma de muchos componentes: gravitacional, osmótico y potencial de presión.

Consumo de agua: es la cantidad de agua extraída/consumida por la planta/cultivo durante un periodo de tiempo definido.

Uso eficiente de agua: es la cantidad de agua consumida por gramo de dióxido de carbono fijado por la planta (en términos de procesos fisiológicos), o por gramo de rendimiento de grano producido (como definición agronómica).

Potencial de rendimiento: es el rendimiento de un genotipo adaptado, cultivado bajo un manejo óptimo y en ausencia de estreses bióticos.

Partes y órganos de la planta

La planta puede ser dividida entre macollos (es decir, los brotes que se originan de la base de la planta) para identificar al tallo principal (es decir, el brote principal que emerge primero del suelo y del cual se originan los macollos) y el segundo y tercer tallo de los macollos restantes (generalmente entre 3-10 en total, dependiendo del cultivar y el ambiente). Cada tallo (es decir, el tallo aéreo de la planta de trigo) puede ser fraccionado en sus órganos componentes, mostrados en la Figura 23.1 donde:

- A. **Aristas:** extensiones largas y delgadas de la lema que crean curso, protrusiones de la espiga a manera de pelo.
- B. **Espiga:** la cual se forma en la parte superior del tallo, contiene los floretes/semillas dentro de las espiguillas, véase el detalle del fraccionamiento de la espiga (también conocida como “oreja” o “cabeza”).
- C. **Pedúnculo:** el entrenudo más alto del tallo (entre el entrenudo superior y la base de la espiga).
- D. **Hoja bandera:** lámina foliar más alta sobre un vástago con espiga (la porción plana de la hoja por encima de la vaina) con superficies superior (adaxial) e inferior (abaxial).
- E. **Vaina de la hoja:** es la parte inferior de la hoja que se envuelve alrededor del tallo, encerrándolo. Existe una pequeña aurícula en el punto donde la hoja de la vaina se encuentra con la lámina foliar.
- F. **Nudo:** es la región del tallo donde las hojas se unen (también conocido como “articulación”).
- G. **Entrenudo:** parte del tallo situada entre dos nudos.
- H. **Tallo:** el pseudo-tallo de un vástago (también conocido como “tallo verdadero”).
- I. **Hojas inferiores:** se producen durante el desarrollo tardío de la plántula.
- J. **Corona:** donde se originan los macollos.
- K. **Raíces:** consiste de raíces seminales y nodales (o de la corona). Las raíces seminales se forman a partir de la semilla y regularmente crecen a profundidades de hasta 120 (primavera) hasta 200 (invierno) cm. Las raíces nodales que se forman de los nudos inferiores y se asocian con los macollos en las capas superiores del suelo (>60 cm).

La espiga (al interior) puede fraccionarse aun más en:

En antesis:

Antera: Parte de la flor que produce el polen.

Carpelo: Parte de la flor que contiene el óvulo (el cual se desarrolla en semilla).

Florete: Flor individual dentro de la espiga (encerrada por la lema y la palea)

Glumas: Par de brácteas ubicadas en la base de una espiguilla en la espiga.

Raquis: Eje principal de la espiga.

Espiguilla: Flor (de un pasto) que consiste de un par de glumas que encierran uno o más floretes.

En cosecha:

Paja: Todas las estructuras de la espiga exceptuando el grano.

Grano: Semilla (también llamado núcleo o almendra).

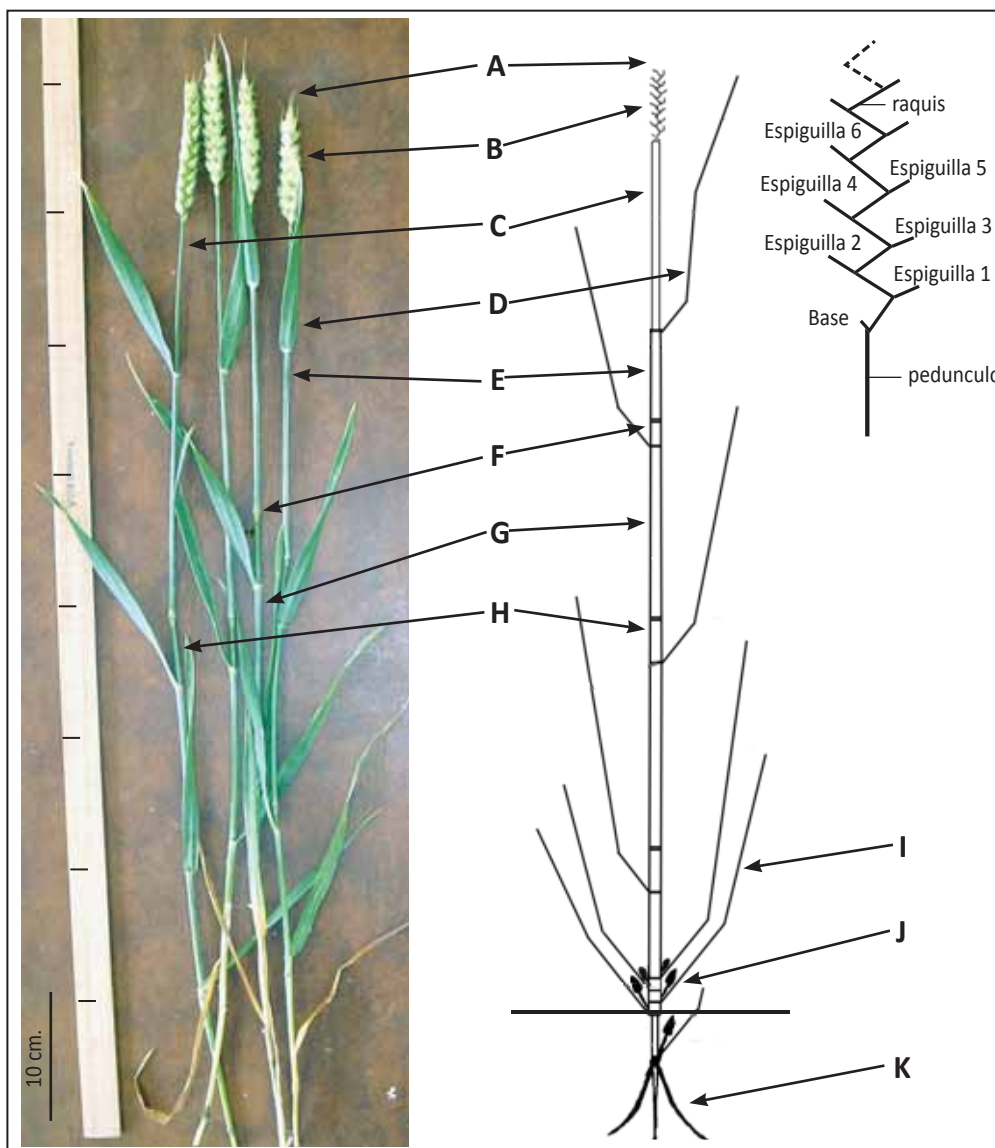
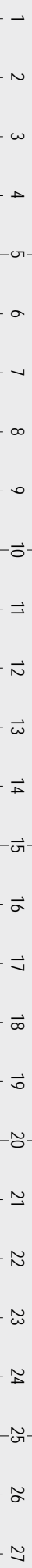


Figura 23.1. Partes de la planta de trigo mostrando el tallo principal y los órganos que lo componen.



Abreviaturas

Español*	Inglés	Significado	Español*	Inglés	Significado	
A	A	Fotosíntesis	AO	OA	Ajuste osmótico	
ICC	CCI	Índice de concentración de clorofila (0-99.9)	PO	OP	Potencial osmótico	
TCC	CGR	Tasa de crecimiento del cultivo		PAR	Radiación fotosintéticamente activa	
CI	CHL	Clorofila		PDA	Computadora PalmTop	
DIC	CID	Discriminación isotópica del carbono		PBD	Peedee Belemnita	
CIMMYT	CIMMYT	Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo		PI	Índice relacionado al pigmento	
TD	CT	Temperatura del dosel		PRI	Índice de reflectancia fotoquímica	
DDE	DAE	Días después de emergencia		PS	Fotosistema (I ó II)	
DDS	DAS	Días después de siembra		Q	Cuadrante	
DDA	DAA	Días después de anthesis		RARS _a	Análisis del radio del espectro de reflectancia de la clorofila a	
CDS	DGC	Cobertura digital del suelo		RARS _b	Análisis del radio del espectro de reflectancia de la clorofila b	
DM	DTM	Días a madurez		RARS _c	Análisis del radio de reflectancia del espectro de carotenoids	
PS	DW	Peso seco		TCR	RGR	Tasa de crecimiento relativo
	ETR	Tasa de transporte de electrones	HR	RH	Humedad relativa (%)	
	F	Radiación de luz interceptada	DLR	RLD	Densidad de longitud de raíces	
PF	FW	Peso fresco		R-NDVI	Índice de vegetación de diferencia en rojo normalizada	
IAV	GAI	Índice de área verde		RUE	Eficiencia del uso de la radiación	
MM	GB	Manojo de muestra	R:B	R:S	Relación raíz:brote	
AFV	GLA	Área foliar verde (área verde de la hoja)	PSR	RW	Peso seco de raíces	
	G-NDVI	Índice de vegetación de diferencia verde normalizada		RWC	Contenido relativo de agua	
GM2	GNO	Número de granos por m ²		RWD	Densidad del peso de raíces	
	GPS	Granos por espiga		SC	Conductancia estomática	
CS	GC	Cobertura de suelo		SIPI	Índice estructural independiente del pigmento	
	GS	Estadíos de crecimiento (de la 'escala decimal' Zadoks)	AFE	SLA	Área foliar específica	
	HI	Índice de cosecha	SM2	SNO	Número de espigas por m ²	
IR	IR	Infrarrojo		SPS	Espiguillas por espiga	
	IRGA	Análisis de gases por infrarrojos		SR	Espectro de reflectancia	
TIR	IRT	Termómetro infrarrojo		SRa	Radio simple a	
	K	Coefficiente del dosel		SRI	Índices de reflectancia spectral	
IAF	LAI	Índice de área foliar	LER	SRL	Longitud específica de raíces	
	LWP	Índice de potencial hídrico	SM	SS	Sub-muestra	
	NDVI	Índice de vegetación de diferencia normalizada		T	Transpiración	
	NIR	Ínfrrrojo cercano		TDR	Reflectometría de dominio en tiempo	
	NIRS	Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano		TE	Eficiencia de transpiración	
	NPQ	Disipación no fotoquímica	PMG	TGW	Peso de mil granos	
	NPQI	Índice de feofitización normalizada		VI	Índice de vegetación	
	NWI-1	Índice hídrico normalizado 1	DPV	VPD	Deficit de presión de vapor	
	NWI-2	Índice hídrico normalizado 2		WI	Índice de agua (índice hídrico)	
	NWI-3	Índice hídrico normalizado 3		WP	Potencial hídrico	
	NWI-4	Índice hídrico normalizado 4	CHOs	WSC	Carbohidratos solubles en agua	
				WU	Toma de agua/absorción de agua	
				WUE	Eficiencia de uso del agua	

* La mayoría de las abreviaturas en este manual se utilizan en su forma original del inglés. Aquellas que han sido traducidas al Español, aparecen en la columna correspondiente.



GRDC
Grains
Research &
Development
Corporation


USAID
FROM THE AMERICAN PEOPLE

BMZ  Federal Ministry
for Economic Cooperation
and Development

giz




Generation
Challenge Programme


CIMMYT
Centro Internacional de
Mejoramiento de Maíz y Trigo

 **MasAgro**

SAGARPA 
SECRETARÍA DE AGRICULTURA,
GANADERÍA, PESQUERÍA, DESARROLLO RURAL,
PECUARIA Y ALIMENTACIÓN