



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE POSTGRADO

**EFICACIA E IMPLICANCIAS FISIOLÓGICAS DEL USO DE
FERTILIZANTES NITROGENADOS PARA CORREGIR LA CARENCIA DE
HIERRO EN EL PALTO (*Persea americana* Mill.)**

Tesis para optar al Grado de Magister en Ciencias Agropecuarias,
Mención en Producción Frutícola

JOHNNY FERNANDO GRANJA TRÁVEZ

Director de Tesis
JOSÉ IGNACIO COVARRUBIAS PEÑA

Profesores consejeros
THOMAS FICHET LAGOS
MARÍA CECILIA PEPI ARONOWSKY

SANTIAGO – CHILE
2016

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE POSTGRADO

**EFICACIA E IMPLICANCIAS FISIOLÓGICAS DEL USO DE FERTILIZANTES
NITROGENADOS PARA CORREGIR LA CARENCIA DE HIERRO EN EL PALTO**
(Persea americana Mill.)

Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al Grado de Magíster en
Ciencias Agropecuarias, Mención en Producción Frutícola.

JOHNNY FERNANDO GRANJA TRÁVEZ

Calificaciones

DIRECTOR DE TESIS

José Ignacio Covarrubias Peña

Aprobado

PROFESORES CONSEJEROS

Thomas Fichet Lagos

Aprobado

María Cecilia Peppi Aronowsky

Aprobado

Santiago, Chile
2016

AGRADECIMIENTOS

Muchas son las personas e instituciones que han hecho posible la realización de este trabajo. En primer lugar quiero agradecer a mi país a través del gobierno de la República del Ecuador, el cual me dio la oportunidad de realizar estudios de postgrado a través de la beca SENESCYT.

A mi profesor guía, José Ignacio Covarrubias, por su permanente apertura al dialogo y sus valiosos consejos, además de la ayuda financiera durante el desarrollo de la investigación.

A toda mi familia, a mis padres, a mis hermanos, a mi esposa y a mis hijas, por su constante e incondicional apoyo durante este tiempo quienes han sabido ser el motor que me motiva todos los días.

Y finalmente a los trabajadores de la chacra “La Vega” quienes además de facilitar el campo y las plantas de estudio, siempre mostraron su compromiso y apoyo durante el ensayo.

ÍNDICE

CAPITULO I: MONOGRAFÍA	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
LITERATURA CITADA	7
CAPITULO II: ARTÍCULO CIENTÍFICO	10
RESUMEN	10
ABSTARCT	11
INTRODUCCIÓN	12
HIPÓTESIS	14
OBJETIVO	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Ubicación del estudio	15
Material biológico	15
Tratamientos y diseño experimental.....	15
Manejo del ensayo.....	16
Evaluaciones.....	17
Variables vegetativas.....	17
Área de sección transversal del tronco ASTT.....	17
Largo del brote..	18
Variables Fisiológicas	18
Color de las hojas..	18
Concentración de clorofilas en las hojas..	18
Intercambio gaseoso foliar..	19
Concentración nitrato, amonio y hierro activo en las hojas..	19
Variables de suelo.....	19
Análisis de suelo.....	19
pH del suelo.....	19
Análisis Estadístico	19
RESULTADOS	20
Área de sección transversal del tronco	20
Largo de brote.....	20
Determinación de concentración de clorofila en las hojas	22
Relación entre concentración de clorofila y colorímetro triestímulo.	22
Relación entre concentración de clorofila y SPAD.....	23

Concentración de clorofila en las hojas.....	24
Actividad fotosintética.....	25
Concentración de nitrato, amonio y Fe activo en las hojas	26
Análisis de suelo.....	27
pH del suelo.....	28
Análisis entre variables.....	29
DISCUSIÓN.....	32
CONCLUSIONES.....	38
LITERATURA CITADA.....	39
APÉNDICE I.....	43
APÉNDICE II.....	44
APÉNDICE III.....	45

CAPÍTULO I: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

En Chile la superficie cultivada con paltos se distribuye principalmente en las regiones de Valparaíso, Coquimbo y Metropolitana, las cuales concentran más del 90% de la superficie nacional plantada (Juri, 2010). Según datos de la Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, en el año 2014 alcanzó las 31.727 hectáreas cultivadas, ubicando a este frutal como el segundo más importante del país, sólo superado por la vid (ODEPA, 2015).

La variedad Hass tiene un potencial productivo aproximado de 25 t ha⁻¹ (Lemus et al., 2005). Sin embargo, en Chile los rendimientos promedio son menores, alcanzando las 10 t ha⁻¹ en huertos adultos (Gardiazabal, 2004). Esto se debe, por una parte al manejo inadecuado de los huertos, y en particular, a problemas de riego. Por otra, a que una fracción importante de las plantaciones están ubicadas en suelos y/o climas inadecuados para su desarrollo (Ferreira et al., 2008). En la zona central de Chile es común la presencia de suelos calcáreos caracterizados por un elevado pH, lo cual limita la disponibilidad de micronutrientes para las plantas, especialmente de hierro (Fe) (Gardiazabal, 2004).

El Fe es un microelemento esencial que, entre sus múltiples funciones fisiológicas, participa en reacciones de transferencia de electrones y transformaciones de energía. Adicionalmente, el Fe es componente de numerosas enzimas, y forma puentes entre enzima y sustrato en procesos biológicos fundamentales para la vida de las plantas (Palacios, 2003). Por otra parte, una de las funciones principales del Fe en la planta es su participación como catalizador en el proceso de síntesis de la molécula de clorofila y además influye en la morfología de los cloroplastos (Juárez et al., 2007). De allí que el déficit de Fe se manifieste con el síntoma denominado como clorosis férrica. La clorosis férrica se manifiesta como una clorosis intervenal en las hojas debido a que el Fe es necesario para la síntesis de clorofila, y tal pigmento es el principal responsable del color verde de las hojas. En general la clorosis férrica es más intensa en crecimientos nuevos, debido a que su movilidad desde las hojas basales hacia aquellas apicales (jóvenes) es muy baja (Ferreira et al., 2008). La clorosis puede abarcar al árbol completo o solo a determinadas zonas del follaje, siendo esta sintomatología observada con mayor frecuencia entre los meses de septiembre a marzo (Gardiazabal, 2004). Si el déficit es severo, además de la clorosis podría aparecer una necrosis marginal que compromete tanto a las hojas nuevas como a las más desarrolladas o adultas. Debido a este problema, se produce caída de hojas en noviembre y, si la carencia es severa, puede conducir a la muerte de la planta (Ferreira et al., 2008).

La carencia de Fe también reduce de manera significativa el crecimiento y rendimiento de los cultivos. Por ejemplo, se han observado disminuciones de un 20% en la producción de materia seca en hojas, tallos y raíces en cultivo de maní y se han verificado pérdidas que superan el 25% en otros cultivos como cereales, legumbres, hortalizas y árboles frutales (Briat et al., 2015). En la vid, la carencia de Fe puede causar una reducción dramática en la longevidad, la productividad, el crecimiento de brotes y raíces, así como pérdidas en el rendimiento y calidad de la fruta (Bavaresco et al., 2003). El palto, y particularmente la variedad Hass, es una de las especies más susceptibles a la clorosis férrica (Razeto y Palacios, 2005). Algunas experiencias en palto indican que, incluso en árboles levemente afectados por carencia de Fe, se producen impactos negativos del orden

del 24% en la producción (Ferreira et al., 2008). Por tal motivo, es importante detectar precozmente la carencia de Fe, pues cuando se manifiesta su síntoma en el árbol, éste disminuye su producción y la corrección del problema es más difícil y onerosa (Palacios, 2003).

La principal causa de la clorosis férrica no radica en la ausencia de este micronutriente en el suelo, ya que se considera al Fe como el cuarto elemento más abundante en las rocas de la Tierra, con gran capacidad de formar numerosos compuestos estables con S, O y Si (Astudillo, 2008). El Fe se puede encontrar en el suelo en la forma ferrosa (Fe^{2+}) o en la forma férrica (Fe^{3+}), y a pesar de su abundancia, en presencia de oxígeno y pH neutro-alcalino este elemento está escasamente disponible para plantas debido a la rápida oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} y la subsecuente formación de hidróxidos insolubles (Aguado-Santacruz et al., 2012). La solubilidad de los óxidos e hidróxidos de Fe^{3+} presentes en el medio está muy relacionada con el pH del suelo. Así, la solubilidad del Fe desciende mil veces por cada unidad de aumento en el pH, y su disponibilidad se reduce a niveles muy bajos cuando el pH se encuentra alrededor de 7,5 a 8,5, como sucede en suelos calizos (Juárez et al., 2007). Un suelo calcáreo contiene carbonatos de calcio, los que a pesar de ser relativamente insolubles, son capaces de controlar el pH del suelo mediante su hidrólisis alcanzando valores de entre 7,3 a 8,5. El efecto de los suelos calcáreos sobre el Fe se debe principalmente a la acción de la caliza activa, la cual es la parte de los carbonatos totales que posee un tamaño inferior a 20 micras, determinando así una elevada área superficial activa capaz de interactuar con los óxidos de Fe en el suelo (Astudillo, 2008).

Se han descrito dos mecanismos para la absorción del Fe desde el suelo, los cuales son llevados a cabo en función de la especie: una estrategia basada en la reducción del Fe (Estrategia I) y otra basada en la quelación (Estrategia II). La Estrategia I es ejecutada por especies dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas, mientras la Estrategia II es restringida a las Poáceas (Juárez et al. 2007). Bajo condiciones deficientes de Fe, las plantas de Estrategia I expulsan protones dentro de la rizósfera, disminuyendo el pH de la solución del suelo e incrementando así la solubilidad del Fe^{3+} (Kim y Guerinot, 2007). Los componentes principales del mecanismo basado en la reducción son una enzima Fe-reductasa que pertenece a la familia FRO (Ferric Reductase Oxidase) y un transportador intermembrana de Fe (II) IRT (Iron Regulator Transporter) (Kobayashi y Nishizawa, 2012). Elementos asociados al mecanismo basado en la reducción en la raíz, incluyen la excreción de protones a la rizósfera, mediante la enzima H^+ -ATPasa y de una gran cantidad de compuestos orgánicos, incluyendo carboxilatos, compuestos fenólicos y flavonoides, que pueden afectar la disponibilidad de Fe directa o indirectamente. Aunque los componentes de ambas estrategias están bien caracterizados a nivel molecular, aspectos fisiológicos vinculados a su respuesta a la fertilización con Fe han sido menos explorados (Abadía et al., 2011). Adicionalmente, una vez que el Fe es absorbido por la raíz, este es cargado en la savia del xilema y trasladado a las partes aéreas de la planta a través de la corriente de transpiración. Los ácidos orgánicos, especialmente citrato, son los principales quelantes de metales en el xilema (Yoneyama et al., 2015). De este modo, se ha acordado que el Fe está presente en el xilema formando complejos de Fe(III)-citrato, donde el pH es de 5,5 a 6. El mutante de *Arabidopsis* *frd3* (*man1*) ha proporcionado evidencias moleculares del papel del citrato en transporte del Fe a larga distancia (Kim y Guerinot, 2007). Este mecanismo implica que transportadores activos de la raíz deben descargar Fe desde las células corticales hacia el xilema. Sin embargo, los transportadores

de flujo de salida aún no han sido caracterizados a nivel molecular. Una vez en las hojas, es probable que el Fe-citrato sea el sustrato de la Fe-quelato reductasa de la hoja, ya que tal actividad enzimática se ha descrito en las células del mesófilo de la hoja. Así también, el hecho de que en guisantes *psfrol* también se expresa en las hojas, indica que la proteína FRO1 es candidata para la función reducción de Fe en la hoja (Thomine y Lanquar, 2011). La movilidad del Fe desde el origen a tejidos sumidero a través de la savia del floema ha sido poco documentada. Sin embargo, está bien establecido que la savia del floema contiene Fe que surge de su movilización desde los órganos de origen (Briat, 2006). La re movilización de Fe desde hojas adultas a hojas más nuevas también toma lugar vía transporte floemático. El pH en la savia del floema es mayor a 7,0, por lo que el Fe requiere formar complejos con quelantes con el fin de mantener una elevada solubilidad. Estudios en *Ricinus communis* han identificado una proteína de transporte (ITP) como un Fe-quelador en el floema. ITP se une específicamente a Fe^{3+} . Por lo tanto, se presume que Fe se transporta como Fe(III)-ITP en el floema (Kim y Guerinot, 2007).

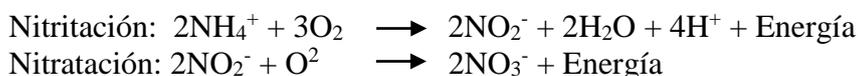
Consecuentemente, la clorosis férrica se produce por disminuciones en la disponibilidad de Fe^{2+} activo en la planta, desencadenada por la interacción de factores químicos, físicos y biológicos presentes tanto en el suelo como dentro de la misma especie vegetal (Astudillo, 2008). Existe además un fenómeno descrito como “paradoja de la clorosis” la cual se refiere a que las hojas cloróticas tienen mayores concentraciones de Fe total que las verdes. Por lo tanto, la concentración de Fe total foliar no está correlacionada con la concentración de clorofila de la hoja (Morales et al., 1998; Römheld, 2000). Tal fenómeno indica que la clorosis manifestada en plantas cultivadas en suelos calcáreos no está sólo relacionada a la absorción de Fe por la raíces y a la translocación de Fe de las raíces a las partes superiores de la planta, sino que también depende de la eficiencia del Fe en las hojas. Existe la hipótesis de que en las hojas la reducción de Fe^{3+} y su transporte intermembrana desde el apoplasto hasta el citosol, es particularmente afectado por el pH del apoplasto, el cual se ve incrementado por la presencia de nitratos y bicarbonatos en una forma análoga como ocurre en la raíz (Mengel, 1994).

Una de las alternativas más eficientes para la corrección y/o prevención de déficit de Fe en cultivos establecidos en suelos alcalinos y calcáreos, es la aplicación de quelatos de Fe-EDDHA al suelo, siendo las aspersiones foliares de baja eficiencia debido a la baja movilidad del elemento (Ferreya et al., 2008). La aplicación de quelato directamente a los árboles en dosis de 15 g por árbol al primer año, hasta 150 g por árbol al sexto año, controlaría la clorosis férrica (Lemus et al., 2005). Sin embargo, el alto costo de los quelatos de Fe imposibilita su uso en todo el huerto, y se utilizan únicamente a nivel de cuarteles o árboles individuales con daños severos (Ferreya et al., 2008; Lemus et al., 2005). Así también, los quelatos de Fe son fáciles de lixiviar pudiendo llegar al subsuelo y contaminar la napa freática. Al respecto, Arizmendi-Galicia et al. (2011), indican que después de 48 h de aplicación de la solución de quelato de Fe sobre el suelo, la movilidad del Fe fue de 10 a 30 cm independiente del tamaño de columna del suelo calcáreo. Otra alternativa para corregir la clorosis férrica es la aplicación de ácidos inorgánicos a través del agua de riego para disminuir el pH del suelo. Sin embargo, se indica que los ácidos aumentan la conductividad eléctrica (CE) del suelo y no todos los ácidos producen los efectos esperados. Los ácidos fosfórico y sulfúrico son los más efectivos en la disminución del pH sin llevar la CE a niveles extremadamente altos. El ácido nítrico reacciona en los suelos formando sales solubles bajando el pH pero incrementando la CE a niveles muy altos. Los ácidos acético y cítrico no logran disminuir el pH en forma importante (Ferreya et al., 2008). Adicionalmente, el ácido sulfúrico reacciona con los

carbonatos de calcio y el bicarbonato, altamente presentes en tales suelos, con el consecuente incremento en las emisiones de CO₂ desde el suelo hacia el medio ambiente (Rombolà y Tagliavini, 2006).

Ante tal situación, es necesario buscar alternativas que puedan contribuir a mitigar la clorosis férrica mediante estrategias eficientes y menos contaminantes. En este contexto, se ha señalado que utilizando estrategias de fertilización basadas en la aplicación de productos nitrogenados acidificantes se podría mejorar la absorción de Fe desde la rizósfera (Covarrubias et al., 2014). Los fertilizantes nitrogenados tienen una importante influencia sobre el pH del suelo, la cual depende principalmente del perfil acidificante de la composición química del fertilizante, de su carácter descalcificante o calcificante y de la capacidad tamponadora del suelo. La acidificación es la tendencia del complejo de cambio del suelo a cargarse con iones H⁺, con el consiguiente detrimento del resto de los cationes minerales (Mariscal-Sancho y Ginés, 2002). Respecto del nitrógeno, se ha reportado que la acidificación del suelo es favorecida mediante la aplicación de fertilizantes que contienen amonio (NH₄⁺) (Baldoncini, 2015).

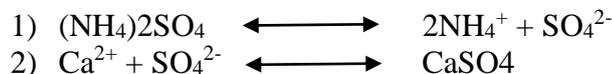
Una vez en el suelo, el NH₄⁺ es convertido a nitrato (NO₃⁻) a través del proceso conocido como nitrificación y requiere de algunas semanas para completarse. El proceso de nitrificación implica una serie de conversiones controladas por bacterias específicas. La primera etapa de la descomposición implica la oxidación de amoníaco (NH₃) a hidroxilamina (NH₂OH) y luego a nitrito (NO₂⁻) por las bacterias Nitrosomonas. El segundo paso en la ruta implica la oxidación de NO₂⁻ a NO₃⁻ a través de la acción de las bacterias Nitrobacter (Hewitt, 2006). Las reacciones de oxidación enzimática de nitrificación son complejas, pero se pueden resumir, de la siguiente forma:



De tal modo, la forma amoniacal pasa a forma nítrica liberando H⁺ al medio y esta última, como NO₃⁻, es la forma en que la mayoría de las plantas asimilan el nitrógeno (Mariscal-Sancho y Ginés, 2002).

La urea es uno de los fertilizantes más concentrados en nitrógeno (46%) y normalmente el más económico en el mercado. Es una amida clasificada como fuente amoniacal y por lo tanto, la hidrólisis de ésta y la posterior oxidación del NH₄⁺ liberan protones, aumentando la acidificación en el suelo (Sierra, 2010). Tomando la misma urea como ejemplo, luego de las reacciones de hidrólisis y nitrificación en el suelo se liberan 4H⁺ y 2OH⁻, así una molécula de urea (con dos N) produce dos H⁺, lo que equivale a un H⁺ por cada N como urea. Ello se conoce como acidificación máxima provocada por la urea. Sin embargo, cuando las raíces absorben aniones NO₃⁻ liberan en paralelo iones OH⁻, manteniendo así una compensación iónica y de cargas intra-celulares para no afectar el metabolismo de las raíces. En este caso el balance es de 0,5 H⁺ por cada N como urea. Esto corresponde a la acidificación mínima derivada del uso de la urea. Por lo tanto, la acidificación en el suelo se produciría solamente por la porción de nitrógeno agregado que no es usado por las plantas (Campillo y Sadzawka, 2009). El incremento de protones igualmente produce un desplazamiento de cationes intensificando la pérdida potencial, principalmente de calcio (Ca), por lo tanto es posible afirmar que en determinadas condiciones de suelo, el uso continuado de urea podría descalcificar los suelos (Sierra, 2010). Similarmente, el sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) es un fertilizante acidificante y

esta acción acidificante se debe a que, además de tener nitrógeno en forma amoniacal, tiene un grupo sulfato (SO_4^{2-}) en su estructura que produce una acción descalcificante al formar CaSO_4 , el cual es arrastrado en profundidad por las aguas de lluvia o riego. Tal proceso es llevado a cabo mediante la siguiente reacción:



La descalcificación se produce con el abandono de cationes Ca^{2+} del complejo de cambio del suelo. Si en el suelo no existe una reserva de calcio, la descalcificación aparece como una fase preliminar de la acidificación. Generalmente el Ca es el catión más abundante y su salida facilita la fijación de iones H^+ para contrarrestar la carga del complejo. El suelo tiene un poder amortiguador por el cual, la aplicación de ácidos o bases no varía en gran medida su pH. Este poder amortiguador está relacionado, por un lado, con la existencia de coloides en su composición. Y por otro, está relacionado con su capacidad de intercambio iónico. Cuanto mayor sean estos dos factores, mayor poder amortiguador tendrá el suelo. La capacidad de amortiguación es distinta según el tipo de suelo: Suelos húmicos > suelos arcillosos > suelos francos > suelos arenosos (Mariscal-Sancho y Ginés, 2002).

Es importante conocer que el NH_4^+ y el NO_3^- son las principales formas inorgánicas de N en los suelos. Ambas formas pueden ser absorbidas por las plantas. La forma de N preferida varía en función de la especie y su absorción depende de las condiciones de aplicación de N y del suelo (Ma et al., 2015). La absorción de NO_3^- es normalmente mediada por un co-transporte con 2 protones a través de la membrana celular de la raíz, la cual incrementa el pH en la rizósfera o neutraliza los protones liberados por las raíces para incrementar la solubilidad del Fe en el suelo o el apoplasto, consecuentemente, la presencia de NO_3^- en el suelo contribuye a inducir carencias de Fe en plantas cultivadas en suelos calcáreos (Nikolic y Römheld, 2002). Por el contrario la absorción de NH_4^+ puede inducir la liberación de protones desde las raíces y por lo tanto causar acidificación en la rizósfera (Shen et al., 2012) favoreciendo la reducción de Fe^{3+} (Covarrubias et al., 2014).

Con el fin de promover una mayor absorción de N en forma de NH_4^+ y así aliviar la clorosis férrica en plantas, puede ser crucial desarrollar estrategias conducentes a mantener concentraciones convenientes de NH_4^+ en el suelo a través de la ralentización de la nitrificación (Covarrubias et al., 2014). Los inhibidores de la nitrificación retardan el proceso de nitrificación al interferir con la actividad del grupo de bacterias Nitrosomonas que transforman NH_3 a NO_2 y por lo tanto disminuyen eficazmente la formación de NO_3^- . Esta interferencia bloquea la oxidación de NH_3 dejando nitrógeno en una forma menos susceptible a la lixiviación y a pérdidas por desnitrificación. Han existido un gran número de productos químicos probados como inhibidores potenciales de nitrificación, sin embargo, hay solamente tres que están disponibles comercialmente. Estos productos incluyen Nitrapypin (2-cloro-6 triclometilo piridina), DCD (diciandiamida) y el DMPP (3,4-dimetilpirazolfosfato) (Hewitt, 2006). El DMPP es muy eficiente en la inhibición de la nitrificación del suelo y aumenta la eficiencia de los fertilizantes nitrogenados, el rendimiento del cultivo y la calidad de la fruta, además el DMPP no tiene efectos toxicológicos (Martínez et al., 2015). Sin embargo, es importante considerar que la eficacia de los inhibidores de la nitrificación es muy variada en diferentes condiciones de clima y suelo, con resultados variables que han sido reportados

en suelos de diferentes texturas, contenidos de humedad, contenido de materia orgánica, pH, concentración de los inhibidores, y también temperatura (Hewitt, 2006). Un experimento llevado a cabo en fresa mostró un incremento en el tamaño del fruto, concentración de ácido ascórbico e incremento de unidades SPAD (hojas más verdes), en plantas tratadas con NH_4^+ más DMPP en comparación con plantas tratadas únicamente con nitrato de amonio (Martínez et al., 2015). Análogamente, estudios realizados en cítricos mostraron que el uso de DMPP permite una utilización más eficiente del fertilizante nitrogenado, lo que minimiza a la vez el riesgo de contaminación por nitratos en aguas subterráneas. Al aplicar sulfato de amonio más DMPP se obtuvo un incremento de biomasa en frutos, hojas, troncos, ramas y raíces, en comparación con la aplicación de sulfato de amonio solo (Martínez-Alcántara et al., 2013). Similarmente, estudios en trigo indicaron incrementos en la absorción de Fe e incrementos en la concentración de Fe en el grano bajo diferentes combinaciones de aplicación de urea, azufre y DMPP (Selim y Mahmoud, 2015). En contraste, se encontraron interrupciones significativas de absorción de nitrógeno y desarrollo de planta en cultivo de trigo al aplicar urea con DMPP (Hewitt, 2006).

Por otra parte, estudios realizados en vid indican que aplicaciones de NH_4^+ con inhibidor de nitrificación pueden prevenir la carencia de Fe e incrementar el contenido de clorofila foliar. Además, este tratamiento induce respuestas bioquímicas radicales similares a las de plantas tratadas con quelato Fe-EDDHA, lo que sugiere que es eficaz para prevenir la clorosis de Fe en cultivos situados en suelos calcáreos (Covarrubias et al., 2014). Otro estudio reporta de forma similar una mejor absorción de Fe en vides tratadas con $\text{NH}_4^+\text{NO}_3^-$ que las que fueron tratadas únicamente con NO_3^- (Jiménez et al., 2007). Análogamente, aplicaciones de fertilizantes con N en forma de NH_4^+ , como el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, disminuyó el pH en la rizósfera en cultivo de maíz, lo que condujo a una mayor disponibilidad de Zn y Fe en suelos calcáreos (Ma et al., 2014). El contenido de Fe en la planta parece estar afectado por las diferentes formas de N aplicadas, el azufre y por el uso de inhibidores de nitrificación (Selim y Mahmoud, 2015).

LITERATURA CITADA

- Abadía, J.; S. Vázquez; R. Rellán-Álvarez; H. El-Jendoubi; A. Abadía; A. Álvarez-Fernández and A. López-Millán. 2011. Towards a knowledge-based correction of iron chlorosis. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(5): 471-482.
- Aguado-Santacruz, G.; B. Moreno-Gómez; B. Jiménez-Francisco; E. García-Moya y R.E. Preciado-Ortiz. 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidéforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista fitotecnica mexicana*, 35(1): 9-21.
- Arizmendi-Galicia, N.; P. Rivera-Ortiz; F. de la Cruz-Salazar; B.I. Castro-Meza y F. de la Garza-Requena. 2011. Lixiviación de hierro quelatado en suelos calcáreos. *Terra Latinoamericana*, 29(3): 231-237
- Astudillo, P. 2008. Clorosis férrica en árboles frutales: Actualización de sus causas, efectos y soluciones propuestas. Memoria Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía, Estación Experimental La Palma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, 59p.
- Baldoncini, A. M. (2015). Efectos de la aplicación de fertilizantes sobre el pH de suelos serie Oncativo. En Sistemas Agrícolas de Producción Intensivos. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cordoba, Argentina. 22p.
- Bavaresco, L.; E. Giachino and S. Pezzutto. 2003. Grapevine rootstock effects on lime-induced chlorosis, nutrient uptake, and source-sink relationships. *Journal of plant nutrition*, 26(7): 1451-1465.
- Briat, J. 2006. Cellular and whole organism aspects of iron transport and storage in plants. *Molecular Biology of Metal Homeostasis and Detoxification*, 14(1): 193-213.
- Briat, J.; C. Dubos and F. Gaymard. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in plant science*, 20(1), 33-40.
- Campillo, R. y A. Sadzawka. 2009. La acidificación de los suelos, origen y mecanismo involucrados. . [En línea]. Instituto de Investigaciones Agropecuarias - INIA. 17 p. Recuperado en: < <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/NR33853.pdf>> Consultado el 20 de septiembre de 2015.
- Covarrubias, J.; A. Pisi and A. Rombolá. 2014. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20: 149-159.
- Ferreya, R.; G. Selles; R. Ruiz; P. Gil y C. Barrera. 2008. Manejo de la clorosis férrica en palto. Boletín INIA N° 181. La Cruz, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 60 p.
- Gardiazabal, F. 2004. Riego y nutrición en paltos. Sociedad Gardiazábal y Magdahl Ltda. En 2° Seminario internacional de paltos. Quillota, 29-30.

Hewitt, W. J. 2006. Evaluation of strategies to match nitrogen release from urea fertiliser to plant demand. Honours research project. School of Agriculture and Food Systems, University of Melbourne, 78 p.

Jiménez, S.; Y. Gogorcena; C. Hévin; A. Rombolà and N. Ollat. 2007. Nitrogen nutrition influences some biochemical responses to iron deficiency in tolerant and sensitive genotypes of *Vitis*. *Plant and soil*, 290(1-2): 343-355.

Juárez Sanz, M.; M. Cerdán Sala y A. Sánchez Sánchez. 2007. Hierro en el sistema suelo-planta. Química del Sistema Suelo Planta. (Informe) Departamento de Agroquímica y Bioquímica, Universidad de Alicante. 32p.

Juri, C. 2010. Características generales de las paltas. [En línea]. Boletín de los consumidores. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias – ODEPA. 2p. Recuperado en: <<http://www.odepa.cl/odepaweb/publicaciones/doc/2307.pdf>> Consultado el: 18 de mayo de 2014.

Kim, S. A. and Guerinot, M. L. 2007. Mining iron: iron uptake and transport in plants. *FEBS letters*, 581(12): 2273-2280.

Kobayashi, T. and N. Nishizawa. 2012. Iron uptake, translocation, and regulation in higher plants. *Annual review of plant biology*, 63: 131-152.

Lemus, G.; R. Ferreyra; P. Gil; P. Maldonado; P. Toledo; C. Barrera; P. Sepúlveda y J. Celedón. 2005. El cultivo del palto. Boletín INIA N° 129, Segunda edición. La Cruz, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 76 p.

Ma, Q.; X. Wang; H. Li; L. Cheng; F. Zhang and J. Shen. 2014. Localized application of NH₄⁺-N plus P enhances zinc and iron accumulation in maize via modifying root traits and rhizosphere processes. *Field Crops Research*, 164: 107-116.

Ma, Q.; X. Wang; H. Li; F. Zhang; Z. Rengel and J. Shen. 2015. Comparing localized application of different N fertilizer species on maize grain yield and agronomic N-use efficiency on a calcareous soil. *Field Crops Research*, 180: 72-79.

Mariscal-Sancho, I. y I. Ginés. 2002. Incidencia de los fertilizantes sobre el pH del suelo. [En línea]. Fertiberia S.A. Archivo Digital de la Universidad Politécnica de Madrid. 9 p. Recuperado en: < http://oa.upm.es/3176/2/MARISCAL_MONO_2002_01.pdf> Consultado el: 20 de noviembre de 2015.

Martínez, F.; P. Palencia; C.M. Weiland; D. Alonso and J.A. Oliveira. 2015. Influence of nitrification inhibitor DMPP on yield, fruit quality and SPAD values of strawberry plants. *Scientia Horticulturae*, 185: 233-239.

Martínez-Alcántara, B.; A. Quiñones; C. Polo; E. Primo-Millo and F. Legaz. 2013. Use of nitrification inhibitor DMPP to improve nitrogen uptake efficiency in citrus trees. *Journal of Agricultural Science*, 5(2): 1.

Mengel, K. 1994. Iron availability in plant tissues-iron chlorosis on calcareous soils. *Plant and Soil*, 165(2): 275-283.

Morales, F.; R. Grasa; A. Abadía and J. Abadía. 1998. Iron chlorosis paradox in fruit trees. *Journal of Plant Nutrition*, 21(4): 815-825.

Nikolic, M. and V. Römheld. 2002. Does high bicarbonate supply to roots change availability of iron in the leaf apoplast? *Plant and Soil* 241: 67-74 pp.

ODEPA (Oficina de estudios y políticas agrarias). [En línea]. Santiago, Chile. Recuperado en: < <http://www.odepa.cl/frutales-superficie-y-produccion-2/>>. Consultado el: 9 de octubre de 2015.

Palacios, J. 2003. Clorosis férrica y su relación con el nivel de clorofila y hierro en diferentes órganos en palto (*Persea americana* Mill.). Memoria de Título. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago de Chile. 22 p.

Razeto, B., y J. Palacios. 2005. Efecto de la clorosis férrica en el tamaño y la concentración de aceite en el fruto del palto (*Persea americana* Mill.). *Agricultura Técnica*, 65(1): 105-111.

Rombolà, A.D. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. In Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. *Springer Netherlands*, 61-83 pp.

Römheld, V. 2000. The chlorosis paradox: Fe inactivation as a secondary event in chlorotic leaves of grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 1629-1643.

Selim, A. K. and S. Mahmoud, S. 2015. Effect of sulfur and stabilized ammonium nutrition on nutrient uptake by wheat in clay and calcareous soils. *Poljoprivreda i Sumarstvo*, 61(1): 121.

Shen, J.; C. Li; G. Mi; L. Li; L. Yuan; R. Jiang and F. Zhang. 2012. Maximizing root/rhizosphere efficiency to improve crop productivity and nutrient use efficiency in intensive agriculture of China. *Journal of experimental botany*, ers342.

Sierra, C. 2010. La urea: características, ventajas y desventajas de esta fuente nitrogenada. Informativo INIA N° 35. La Serena, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 4 p.

Thomine, S. and V. Lanquar. 2011. Iron transport and signaling in plants. In Transporters and Pumps in Plant Signaling. *Springer Berlin Heidelberg* pp. 99-131.

Yoneyama, T.; S. Ishikawa and S. Fujimaki. 2015. Route and regulation of Zinc, Cadmium, and Iron transport in rice plants (*Oryza sativa* L.) during vegetative growth and grain filling: Metal transporters, metal speciation, grain Cd reduction and Zn and Fe biofortification. *International journal of molecular sciences*, 16(8): 19111-19129.

CAPITULO II: EFICACIA E IMPLICANCIAS FISIOLÓGICAS DEL USO DE FERTILIZANTES NITROGENADOS PARA CORREGIR LA CARENCIA DE HIERRO EN EL PALTO (*Persea americana* Mill.).

RESUMEN

El palto es una especie susceptible a la carencia de Fe, debido a que los suelos con pH neutro-alkalino y alta concentración de carbonatos reducen la capacidad de absorción de este elemento por la planta, provocando el síntoma conocido como clorosis férrica. Los métodos actuales para corregir el problema, como uso de quelatos y ácidos, son onerosos y contaminantes. En tal contexto se propuso como alternativa el uso de fertilizantes nitrogenados amoniacales, los cuales tienen un efecto acidificante en el pH del suelo y la rizósfera. Para este propósito se evaluó la urea y el sulfato de amonio, aplicados en forma simple y acompañados con un inhibidor de nitrificación (DMPP), así como dos tratamientos control, un absoluto (nitrato de calcio) y un positivo (nitrato de calcio + quelato Fe-EDDHA). El ensayo se ubicó en la localidad de Hijuelas y se utilizaron paltos "Hass" de 3 años de edad. Los resultados indicaron que las aplicaciones de sulfato de amonio con y sin DMPP redujeron la concentración de carbonatos totales y caliza activa, así también redujeron el pH del suelo. Por otra parte, los paltos tratados con sulfato de amonio + DMPP, urea, y nitrato de calcio + Fe-EDDHA alcanzaron un 25% de incremento en la concentración de clorofila en hojas en comparación con el resto de los tratamientos, mientras que en crecimiento de brote, actividad fotosintética y conductancia estomática foliar no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos.

Palabras clave: urea, sulfato de amonio, DMPP, clorosis férrica, clorofila.

ABSTARCT

Avocado trees are highly susceptible to Fe deficiency, in soils with neutral-alkaline pH and high concentration of carbonate the absorption capacity of this element by the plant is reduced, causing the symptom known as iron chlorosis. Currently, methods to control this problem are based on the use of Fe chelates and inorganic acids applications to soil, being these expensive and polluting techniques. In this context it was proposed, as an alternative, the use of ammonium based nitrogen fertilizers, which can decrease the soil and rhizosphere pH. Urea and ammonium sulphate were applied simply and accompanied with an nitrification inhibitor (DMPP), plus two control treatments, an absolute (calcium nitrate) and a positive (calcium nitrate + Fe-EDDHA chelate). The experiment was located in Hijuelas and 3 years old avocados cv. "Hass" trees were used. Results indicated that applications of ammonium sulfate with and without DMPP decreased the concentration of total carbonates and active lime, and also soil pH was reduced. Moreover, avocados treated with DMPP + ammonium sulphate, urea and calcium nitrate + Fe-EDDHA reached a 25% increase in the concentration of chlorophyll in leaves compared with other treatments, while shoot growth, photosynthetic activity and leaf stomatal conductance showed no significant differences.

Key words: urea, ammonium sulphate, DMPP, iron chlorosis, chlorophyll.

INTRODUCCIÓN

La carencia de Fe es uno de los problemas más frecuentes en los huertos de paltos establecidos en suelos de pH neutro-alcalino. Algunas experiencias obtenidas en el extranjero, sobre el cultivo del palto en suelos calcáreos de pH alcalino, indican que incluso en la condición de árboles levemente afectados, se producen impactos negativos del orden del 24% en la producción (Ferreira et al., 2008). El Fe es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre. Sin embargo, su déficit en las plantas se debe a que sólo una pequeña parte de él está disponible para las plantas. Lo anterior se debe a su baja solubilidad en la rizósfera a pH neutro-alcalino. En tal contexto, la causa principal de la deficiencia de Fe en los cultivos de tales áreas, es la elevada presencia en el suelo de carbonatos como CaCO_3 (> 10% cal activa) y HCO_3^- (> 5 mM), dado el efecto de tales iones en el pH de los suelos (Rombolà y Tagliavini, 2006).

Las plantas dicotiledóneas, como las especies frutales, desarrollan la Estrategia I de absorción del Fe y, consecuentemente, absorben el Fe del suelo en la forma de Fe^{2+} (estado ferroso). En aquellos suelos en que el pH es neutro-alcalino, el Fe presente se oxida a Fe^{3+} (estado férrico), y se encuentra en una forma química menos soluble y disponible para la absorción radical de este tipo de plantas (Marschner, 1995). En estos casos, las plantas de Estrategia I pueden responder a carencias de Fe bajando el pH de la rizósfera mediante la liberación de protones (mediante la actividad de la enzima ATP-asa), y a través de la exudación radical de algunos ácidos orgánicos y compuestos fenólicos, lo cual promueve el incremento en la solubilidad/disponibilidad del Fe presente en el suelo (Rombolà y Tagliavini, 2006). Análogamente, las especies caracterizadas por un mayor grado de tolerancia a la clorosis férrica pueden reducir el Fe directamente en las raíces a través del aumento de la enzima FeIII-reductasa (FCR). El grado de susceptibilidad a la clorosis férrica es altamente variable entre especies vegetales e incluso entre genotipos de una misma especie (Rombolà y Tagliavini, 2006). Dentro de los frutales de mayor importancia cultivados en Chile, el palto se encuentra entre las especies más susceptibles a la carencia de Fe. La clorosis férrica en el palto se comienza a manifestar a partir de niveles de pH superiores a 7,5. Sin embargo, la intensidad del síntoma aumenta con incrementos de pH por sobre este valor, probablemente por efectos adicionales del CaCO_3 (Ferreira et al., 2008).

En los huertos de palto establecidos en suelos calcáreos (principalmente localizados entre la IV y la VI región de Chile), los productores usualmente intentan resolver tal carencia nutricional acidificando el suelo mediante aplicaciones de ácido sulfúrico a través del riego. Sin embargo, tal práctica resulta peligrosa (tóxica) para el operario agrícola (Horneck et al., 2004) y sus repetidas aplicaciones podrían inducir efectos deletéreos sobre la microflora del suelo (Hanson, 2006). Una de las alternativas más eficientes para controlar la carencia de Fe es el uso de quelatos sintéticos, pero el costo de éstos podría llegar a alcanzar el 60% del presupuesto total destinado a fertilizantes en aquellos huertos localizados en suelos calcáreos, y por lo anterior, su uso es justificado sólo en cultivos altamente rentables. Adicionalmente, los tratamientos con quelatos de Fe requieren

repetidas aplicaciones, y debido a su elevada estabilidad y solubilidad en los suelos, incrementan los riesgos de lixiviación y contaminación de napas freáticas (Rombolà y Tagliavini, 2006).

Tales evidencias sugieren la necesidad de adoptar estrategias de manejo de la nutrición férrica considerando integralmente variables de suelo y de la planta. En tal contexto, la aplicación de fertilizantes (nitrogenados principalmente) cuya absorción y/o reacciones químicas a nivel de suelo favorezcan la acidificación de la rizósfera y/o de la solución suelo, podría constituir una estrategia válida y sostenible para la prevención de la clorosis férrica. El mecanismo de prevención de la carencia de Fe implementado mediante tal estrategia consiste en que la acidificación de la rizósfera y/o solución suelo, permitiría favorecer la reducción del Fe^{3+} a Fe^{2+} , posibilitando la absorción radical del Fe por el cultivo. La aplicación de fertilizantes amoniacales y amídicos induce una acidificación en la solución del suelo mediante el proceso de nitrificación del NH_4^+ . La intensidad de la acidificación está regulada entonces por la cantidad de fertilizante aplicado y por el manejo del suelo (Campillo y Sadzawka, 2009). Adicionalmente, los suelos sin una importante reserva de Ca pueden presentar un proceso de acidificación tanto más rápido cuanto más intensivo es el cultivo y cuanto mayores son los aportes de fertilizantes acidificantes (Mariscal-Sancho y Ginés, 2002).

Por otra parte, la presencia de ciertos iones que mediante su absorción por las plantas acidifican el pH en la rizósfera, también podrían favorecer la absorción de Fe por el cultivo. Estudios sobre vides conducidas en condiciones controladas, han demostrado que la presencia del ion NH_4^+ , en el sustrato, puede contrarrestar los efectos negativos del NO_3^- en la absorción de Fe por las raíces (Covarrubias et al., 2014; Jiménez et al., 2007). La absorción de NH_4^+ por la planta induce una acidificación en la rizósfera, debido a la excreción de protones a través de la enzima H^+ -ATPasa, favoreciendo la reducción del Fe^{3+} . En consecuencia, la presencia de NH_4^+ en la rizósfera podría ser beneficiosa para inducir una mayor acidificación de esta, mediante la absorción de tal forma nitrogenada (Covarrubias et al., 2014). Para mantener concentraciones medias-bajas de NH_4^+ en el suelo, mediante la disminución de la oxidación del NH_4^+ a NO_3^- (nitrificación), el uso de inhibidores de la nitrificación aplicados al suelo podría optimizar la nutrición nitrogenada y la férrica simultáneamente. Algunos autores han reportado la eficacia del 3,4-dimetilpirazolfosfato (DMPP) como inhibidor de la nitrificación (Hewitt, W. 2006; Irigoyen et al. 2001; Zerulla et al. 2001). Aplicaciones de DMPP en dosis de 0,5-1,5 kg ha^{-1} han sido suficientes para lograr una óptima inhibición de la nitrificación en el sustrato, reduciendo significativamente la lixiviación de NO_3^- y emisiones de N_2O , e incrementando la productividad de los cultivos (Zerulla et al. 2001).

HIPÓTESIS

La aplicación de fertilizantes nitrogenados amoniacales de acción acidificante corrige la carencia de Fe en paltos cultivados en suelos calcáreos con pH neutro-alcalino.

OBJETIVO

Evaluar la eficacia e implicancias fisiológicas de la aplicación de fertilizantes amoniacales, como estrategia para corregir la carencia de Fe en paltos en suelos calcáreos con pH neutro-alcalino.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del estudio

La investigación se realizó en la comuna de La Calera, ubicada en la región de Valparaíso, Zona Central de Chile. El territorio comunal se encuentra rodeado por cerros de la cordillera de la costa que alcanzan los 1.000 msnm, encerrando un valle ubicado a 130 msnm, sobre la cuenca del río Aconcagua. El régimen anual de temperaturas de la zona es de 9 - 24 °C y el promedio de precipitaciones anuales es de 358 mm. La localización específica del huerto fue en la zona de Hijuelas, en el predio “La Vega” (32°48’S y 71°09’W),

Material biológico

Para el ensayo se utilizaron árboles de palto variedad Hass de dos años y medio de edad injertados sobre patrón Mexícola, y que se encontraban iniciando su etapa productiva. Al momento de establecer el experimento (agosto de 2014), los árboles presentaban severos síntomas de clorosis férrica de forma aleatoria en el cuartel. Los paltos estaban establecidos en un marco de plantación de 3 m sobre la hilera y 6 m entre hileras, con sistema de riego por goteo. El huerto estaba manejado mediante procedimientos convencionales de producción comercial ajustado a labores culturales, fertilizaciones y controles sanitarios establecidos por la administración del predio.

Tratamientos y diseño experimental

Los tratamientos consistieron en la aplicación de urea y sulfato de amonio como fuentes de nitrógeno amoniacal de acción acidificante, con y sin la adición del inhibidor de la nitrificación 3,4 dimetil pirazol fosfato (DMPP). Para evaluar la eficacia de los tratamientos, las estrategias propuestas fueron comparadas con la aplicación de NO_3^- como fuente nitrogenada no amoniacal, en forma de nitrato de calcio (control absoluto) y nitrato de calcio + un quelato de Fe aplicado al suelo (control positivo). Los tratamientos implementados en el experimento se resumen en el Cuadro 1.

Las dosis de los tratamientos se establecieron según las recomendaciones de fertilización realizadas en el predio con el propósito de no alterar el manejo convencional y evaluar la efectividad de los tratamientos bajo las condiciones reales al huerto. Bajo estas consideraciones se estableció una dosis de 200 g de N por planta para todos los tratamientos y para el control positivo se aplicó una dosis adicional de 26 g por planta de quelato Fe-EDDHA, de nombre comercial Basafer® PLUS, 5% orto-orto (Compo®), el cual corresponde a un quelato Fe-etilendiamino-N,N'-di(2-hidroxifenil) ácido acético.

Las dosis se fueron fraccionando durante la temporada a partir del inicio del crecimiento vegetativo (mes de octubre de 2014), hasta el cese de tal actividad (mes de abril de 2015), y las aplicaciones de fertilizante fueron aproximadamente cada 15 días. El método de aplicación de los tratamientos fue de forma manual a través de disolución de los fertilizantes en agua y posterior aplicación directa al suelo. Se fertilizó con un litro de solución por planta en cada aplicación, repartiendo medio litro a cada lado del árbol debajo del gotero.

Cuadro 1. Fertilizantes aplicados en los distintos tratamientos establecidos en el ensayo en paltos variedad Hass. La Calera.

Tratamiento	Descripción
T1	Nitrato de calcio + quelato Fe-EDDHA (control positivo)
T2	Nitrato de calcio (control absoluto)
T3	Urea
T4	Sulfato de amonio
T5	Urea + DMPP
T6	Sulfato de amonio + DMPP

Para el ensayo, se implementó un diseño en bloques completamente al azar, con seis tratamientos y seis repeticiones para cada tratamiento, obteniéndose un total de 36 unidades experimentales. Cada unidad experimental se constituyó por un árbol.

Manejo del ensayo

Se seleccionó un cuartel del huerto cuyo suelo presentaba un pH neutro alcalino y un alto porcentaje de cal activa. Tales propiedades químicas son predisponentes para inducir carencia de Fe en los paltos. Para determinar los niveles exactos de tales parámetros, más otros relativos a la fertilidad, se analizó una muestra compuesta de suelo la cual provino de quince sub-muestras de diferentes sectores en los cuales estaba distribuido el ensayo y fueron tomadas a 30 cm de profundidad. Los resultados del análisis se presentan en el Cuadro 2. Así también, las plantas del cuartel evidenciaban sintomatología severa de carencia de Fe. Se procuró seleccionar árboles con características similares en cuanto a intensidad del síntoma y agruparlos en bloques de acuerdo a su distribución en el ensayo por línea de riego y altura de planta, con el fin de homogenizar las unidades experimentales y optimizar la evaluación de los tratamientos en el ensayo. Para asegurar el efecto del tratamiento sobre el árbol, además de la fertilización localizada, se procuró un espaciamiento pertinente entre las unidades experimentales (como mínimo una planta por lado).

Los tratamientos se aplicaron cada 15 días en dosis de 10 a 20 g de N planta⁻¹, hasta completar los 200 g de N planta⁻¹ durante la temporada. Durante este periodo se realizaron muestreos y registros de datos acorde a lo descrito en la sección Evaluaciones.

Cuadro2. Análisis de suelo en la zona de evaluación previo a aplicación de tratamientos en paltos variedad Hass. La Calera.

Fertilidad		Unidad	Valor	Interpretación	
pH (agua, relación 1:2,5)		1:2,5	8,1	Alcalino	
C.Eléctrica (en extracto)		dS/m	1,3	Sin Problema	
Materia orgánica		%	4,4	Alto	
Nitrógeno disponible (N)		mg/kg	51	Adecuado	
Fósforo disponible (P)		mg/kg	18	Adecuado	
Potasio disponible (K)		mg/kg	97	Bajo	
Cationes Intercambiables					
Calcio	(Ca)	meq/100g	17,4	Alto	
		% CIC	80		
Magnesio	(Mg)	meq/100g	3,5	Alto	
		% CIC	16		
Potasio	(K)	meq/100g	0,25	Bajo	
		% CIC	1,1		
Sodio	(Na)	meq/100g	0,32	Bajo	
		% CIC	1,5		
Suma de bases (Ca+Mg+K+Na)			21,5		
CIC (Cap.Intercambio Cationico)		meq/100g	21,7		
Microelementos disponibles					
Fe	(Fe)	mg/kg	14,4	Adecuado	
Manganeso	(Mn)	mg/kg	19,0	Alto	
Zinc	(Zn)	mg/kg	2,0	Adecuado	
Cobre	(Cu)	mg/kg	8,5	Adecuado	
Boro	(B)	mg/kg	3,5	Alto	
Carbonatos				Sin problema	problema
				severo	
Carbonato total	CaCO ₃ %		4,3	<5,0	>20
Caliza activa	CaCO ₃ %		2,5	<2,5	>10

Evaluaciones

Variables vegetativas

Área de sección transversal del tronco ASTT. En cada planta se midió el perímetro del tronco a 20 cm desde el suelo con una cinta de medir. Esta medición se realizó al inicio y al final de la aplicación de los tratamientos, en el mes de octubre de 2014 y agosto de 2015.

Largo del brote. Se marcaron dos brotes por cada unidad experimental. Inicialmente fueron yemas en crecimiento de la temporada que no superaban los 5 cm de largo, por lo tanto, no tenían flores ni fruto y estaban principalmente ubicados en el tercio medio de la altura del árbol. Tales brotes se midieron con una cinta de medir cada mes durante la temporada.

Variables Fisiológicas

Color de las hojas. Se determinó el color de la cara adaxial en una muestra aleatoria de 24 hojas completamente expandidas, con distinta intensidad de verde. Las hojas provinieron de brotes desarrollados durante la primavera, del tercio medio del árbol. Para tal medición se utilizó un colorímetro (Minolta triestímulo modelo CR300). Esta labor se realizó una sola vez al inicio de los tratamientos para comprobar la efectividad del equipo al compararlo con el SPAD.

Concentración de clorofilas en las hojas. Se utilizó el SPAD para determinar la concentración de clorofila de las hojas. Las mediciones se realizaron en campo cada mes a partir del mes de diciembre de 2014 considerando la primera hoja totalmente expandida de los dos brotes marcados para las determinaciones de crecimiento.

Previo a este trabajo se estableció una curva de calibración mediante una regresión entre el valor SPAD y concentración de clorofila, la cual se construyó con la misma muestra de 24 hojas utilizadas para medir el color de la hoja mediante el colorímetro. Dichas muestras fueron llevadas al laboratorio de Nutrición Vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómicas, y luego, mediante el método de Lichtenthaler y Wellburn (1983) modificado, se determinó la concentración de clorofila de cada muestra mediante un espectrofotómetro (Jasco V-630, Japón). Los resultados se expresaron en $\mu\text{g cm}^{-2}$ y también en $\mu\text{g g}^{-1}$ de tejido fresco. Es importante indicar que se aplicaron dos modelos de regresión a los resultados, el primero fue un modelo de regresión simple y el segundo un modelo de regresión polinómica cuadrático siendo éste último el que arrojó mejores ajustes en general para las diferentes variables estudiadas. Todas las regresiones realizadas fueron sometidas a diversas pruebas estadísticas como análisis de varianza, pruebas de no colinealidad para posibles regresiones múltiples, análisis de observaciones inusuales por prueba de residuos estudentizados y análisis de posible puntos de influencia por prueba de Leverage. Los valores SPAD obtenidos en las hojas de las unidades experimentales del ensayo fueron convertidos a concentración de clorofila, mediante la función que se obtuvo al hacer la regresión entre concentración de clorofila y valor SPAD presentada en los resultados.

Intercambio gaseoso foliar. Se determinó la temperatura de la hoja (T° hoja), radiación fotosintética activa (PAR), concentración interna de CO_2 en la hoja (C_i), evapotranspiración de la hoja (E), conductancia estomática (Gs), y fotosíntesis neta (A), mediante el analizador de gases en infrarrojo IRGA (LCi, ADC BioScientific Ltd., Hoddesdon, U.K.). El registro de datos se realizó en hojas totalmente expandidas y funcionales, provenientes del tercio superior de los dos brotes marcados para las determinaciones de crecimiento y clorofila, por cada unidad experimental. Este parámetro fue medido el 12 de enero de 2015 a las 12:00 y 16:00 horas.

Concentración NO_3^- , NH_4^+ y Fe^{2+} (activo) en las hojas. Se realizó un análisis foliar en el cual se determinó la concentración de NO_3^- , NH_4^+ y Fe^{2+} (activo) en la hoja. Se colectó una muestra de 20 hojas en cada unidad experimental, las cuales fueron seleccionadas del tercio medio de brotes en crecimiento. Las muestras fueron enviadas el mismo día de su recolección al laboratorio Agrolab y analizadas bajo sus protocolos. Esta medición se realizó en el mes de abril de 2015 debido a que ésta es la época apropiada para realizar un análisis foliar en el palto según sus estándares de comparación.

Variables de suelo

Análisis de suelo. Inicialmente, en octubre de 2014, se tomó una muestra compuesta, la cual provino de quince sub-muestras de diferentes lugares distribuidas en toda el área del ensayo y a 30 cm de profundidad, zona en la cual se encontraba mayor cantidad de raíces. A tal muestra compuesta se le realizó un análisis completo que incluyó macro- y micro-nutrientes, materia orgánica, cal activa, carbonatos totales, CE, pH, concentración NO_3^- y NH_4^+ y Fe total en el suelo. Posteriormente, en mayo de 2015, se colectaron muestras compuestas de cada tratamiento para determinar concentración de N, NO_3^- y NH_4^+ , Fe total y carbonatos totales. Ambos muestreos fueron enviados al laboratorio Agrolab y fueron determinados bajo sus protocolos.

pH del suelo. Se realizaron mediciones de pH del suelo cercano al bulbo de mojamiento de los goteros mediante un medidor de pH portátil (Elmetron modelo CP-4001) en el mes de marzo, mayo y agosto.

Análisis Estadístico

Los datos obtenidos fueron analizados mediante un Análisis de la Varianza (ANDEVA) de acuerdo a un diseño en bloques completamente al azar. Para casos de diferencias estadísticas significativas se utilizaron pruebas de comparación múltiple como DGC y Tukey con un nivel de significancia del 0,05. Las variables de concentración de clorofila en hojas y el índice SPAD fueron sometidas a análisis de regresión. Adicionalmente se realizaron análisis de correlación entre diversas variables para determinar el grado de asociación entre ellas. Se utilizó el programa InfoStat para el análisis estadístico.

RESULTADOS

Área de sección transversal del tronco

Los resultados relativos al área de sección transversal de tronco, registrados en los paltos durante el experimento, indican que los árboles incrementaron marcadamente su tamaño durante la temporada de crecimiento vegetativo (Cuadro 3). Tal incremento superó el 113% para todos los tratamientos. Sin embargo, no se registraron diferencias significativas entre ellos para esta variable.

Cuadro 3. Área de sección transversal de tronco determinada en cada unidad experimental en octubre de 2014 y en agosto de 2015, y el porcentaje de incremento entre tales fechas.

Tratamientos	Área de sección transversal de tronco (cm ²)		Incremento (%)
	17-oct-14	30-ago-15	
Ca(NO₃)₂ + Fe-EDDHA	7,7	19,0	147
Ca(NO₃)₂	9,1	20,3	123
Urea	8,1	23,3	188
(NH₄)₂SO₄	7,9	20,3	157
Urea + DMPP	9,2	22,7	147
(NH₄)₂SO₄ + DMPP	9,7	20,7	113

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA= quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

Largo de brote

Considerando que al inicio de la temporada los brotes no superaban los 5 cm de largo, los resultados evidencian un crecimiento importante de estos durante la temporada para todos los tratamientos del ensayo. En las ocho fechas en las cuales se realizaron las mediciones, no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 1).

Sin embargo, se observó que durante la temporada así como en el incremento total final, el tratamiento con nitrato de calcio + Fe-EDDHA mostró un menor crecimiento pero sin diferenciarse estadísticamente del resto de tratamientos (Figura 1 y Cuadro 4). En cuanto al crecimiento de brotes a través del tiempo se puede observar un crecimiento constante, los mayores desarrollos se verificaron entre los meses de octubre a noviembre y enero a febrero, mientras que al final de la temporada y durante el invierno el crecimiento fue muy lento (Figura 1).

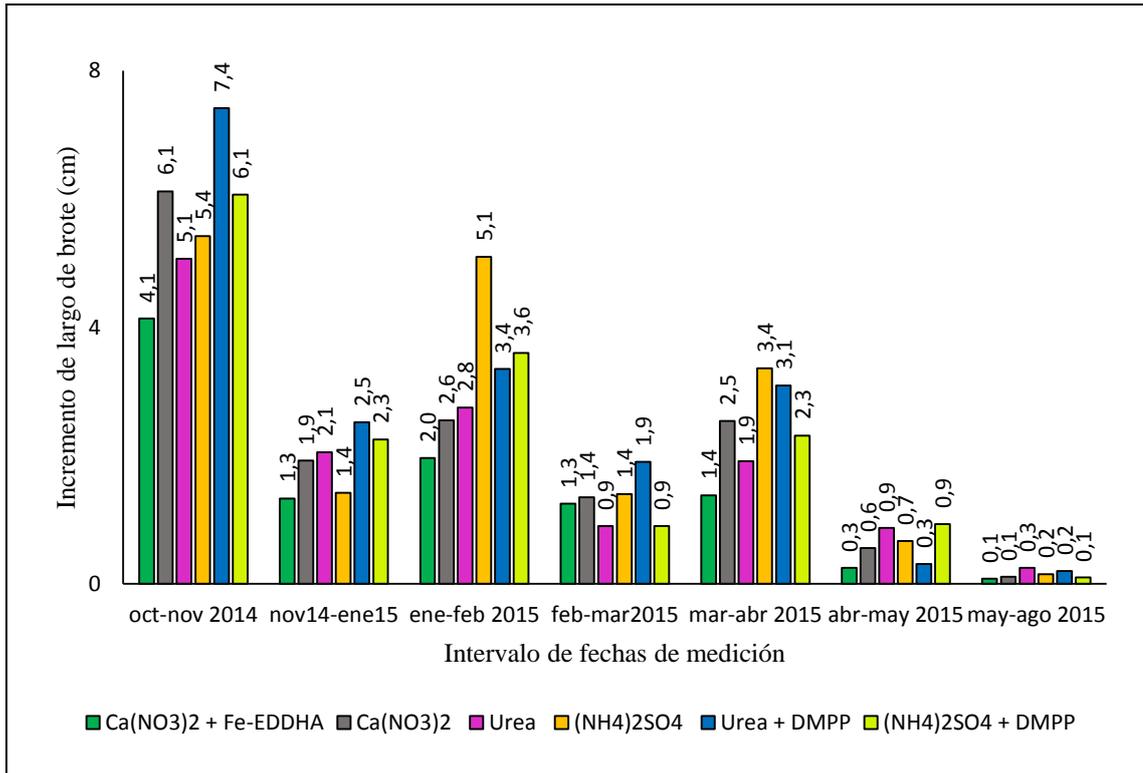


Figura 1. Incremento de largo de brotes (cm) en los diferentes intervalos de fechas de medición en palto variedad Hass. La Calera.

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA= quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

Cuadro 4. Incremento total del largo de brote entre octubre de 2014 y agosto de 2015 en palto variedad Hass. La Calera. No se hallaron diferencias estadísticas.

Tratamientos	Longitud de brote (cm)		Incremento total (cm)
	17-oct-14	30-ago-15	
Ca(NO₃)₂ + Fe-EDDHA	1,6	12,0	10,4
Ca(NO₃)₂	2,2	16,8	14,6
Urea	2,0	15,9	13,9
(NH₄)₂SO₄	1,7	20,6	18,9
Urea + DMPP	1,6	20,4	18,8
(NH₄)₂SO₄ + DMPP	2,8	19,0	16,2

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA= quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

Determinación de concentración de clorofila en las hojas

Relación entre la concentración de clorofila y el colorímetro triestímulo.

Los resultados obtenidos de concentración de clorofila foliar, determinada en laboratorio y los valores de L^* y b^* obtenidos mediante el colorímetro triestímulo, arrojaron una correlación entre ellos con un coeficiente de Pearson de 0,98, por lo tanto no se cumplió el supuesto de no colinealidad y no fue posible realizar un análisis de regresión lineal múltiple. En consecuencia, se aplicó un análisis de regresión lineal simple para cada caso, considerando el contenido de clorofila en $\mu\text{g cm}^{-2}$ y las tres estimaciones que tiene el colorímetro en sus valores (L^* , b^* , y a^*). Los análisis de varianza indicaron relación significativa entre el valor de L^* y el contenido de clorofila en las hojas bajo un modelo cuadrático con un $R^2 = 0,94$, siendo éste el mejor modelo (Figura 2).

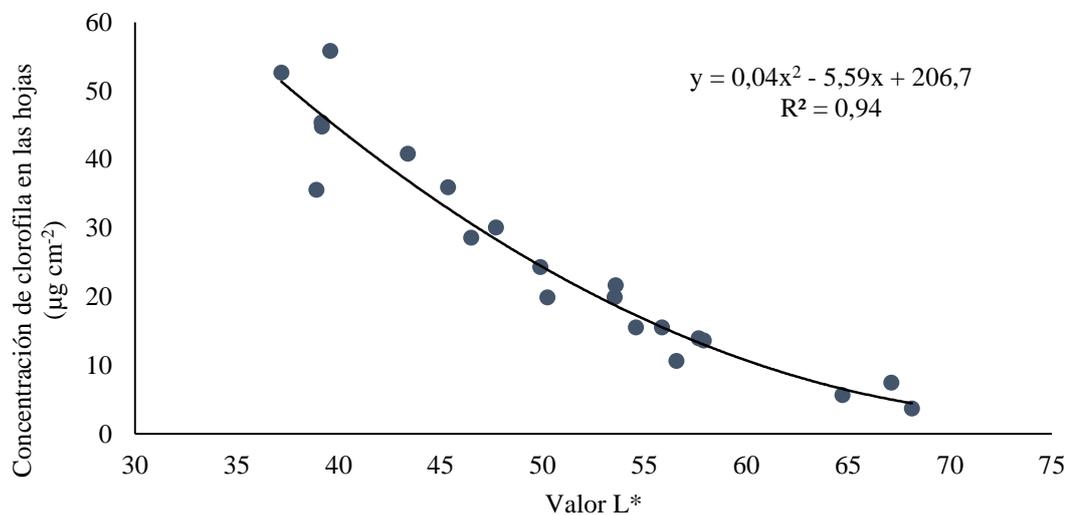


Figura 2. Relación cuadrática entre el valor L^* y la concentración de clorofila en $\mu\text{g cm}^{-2}$ en palto variedad Hass. La Calera.

La relación lineal y cuadrática entre el valor b^* y la concentración de clorofila fue también muy alta con un $R^2 = 0,90$ para ambas relaciones. Sin embargo, en este caso parece ajustarse mejor un modelo lineal (Figura 3). Por otra parte, el análisis de varianza indicó que no existe una relación significativa entre el valor a^* del colorímetro y la concentración de clorofila en la hoja, resultados a su vez reforzados por el bajo coeficiente de determinación de $R^2 = 0,02$ en ambos casos (APÉNDICE I).

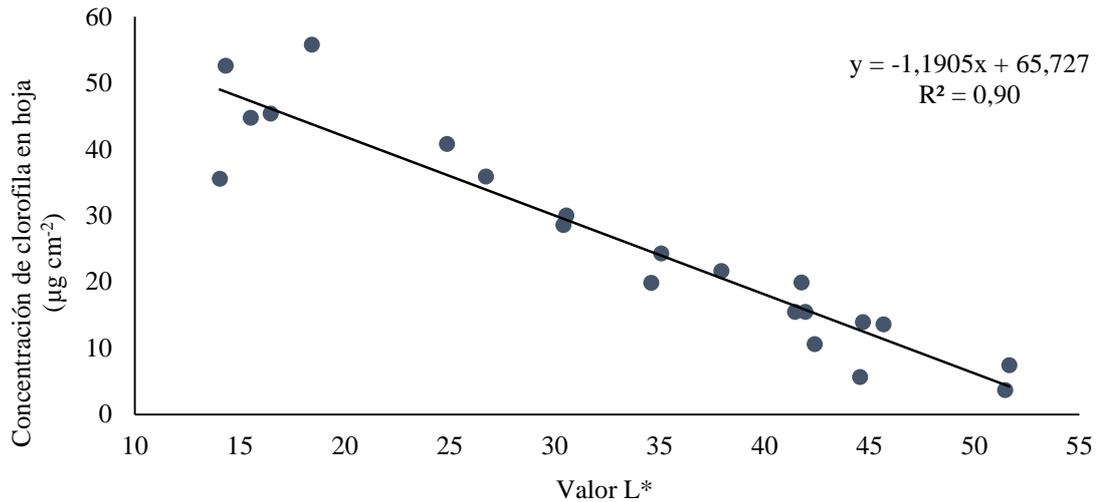


Figura 3. Relación lineal entre el valor b^* y la concentración de clorofila en $\mu\text{g cm}^{-2}$ en palto variedad Hass. La Calera.

Relación entre la concentración de clorofila y el valor SPAD.

Para el caso de la relación entre el valor SPAD y la concentración de clorofila, el análisis estadístico arrojó una relación significativa entre las variables con un $R^2 = 0,92$ para un modelo lineal y $R^2 = 0,93$ para un modelo cuadrático (Figura 4).

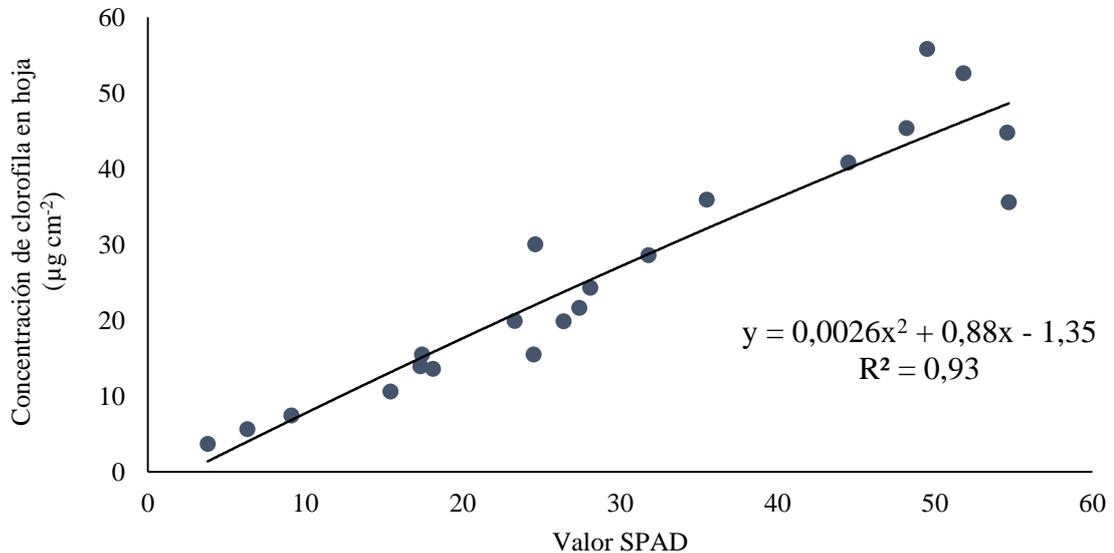


Figura 4. Relación cuadrática entre el valor SPAD y la concentración de clorofila en $\mu\text{g cm}^{-2}$ en palto variedad Hass. La Calera.

Por otra parte, al analizar los valores SPAD y la concentración de clorofila en $\mu\text{g g}^{-1}$, se encontró también una relación significativa entre estas variables. Sin embargo, los coeficientes de determinación ($R^2 = 0,81$) fueron menores para ambos modelos lineal y cuadrático. Todos los modelos analizados se encuentran en el APÉNDICE I.

Concentración de clorofila en las hojas

El análisis de varianza arrojó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en distintas fechas a lo largo de la temporada (Figura 5). Sin embargo, la significancia de las diferencias fue reduciendo su nivel gradualmente desde el mes de inicio (diciembre 2014), hasta llegar al último mes de toma de datos (agosto 2015), en el cual no se evidenciaron diferencias estadísticas significativas. Análogamente la prueba de comparación múltiple de Tukey fue reduciendo su sensibilidad para encontrar grupos de tratamientos similares traslapando demasiado los tratamientos principalmente a partir de marzo (APÉNDICE II). Por este motivo se consideró pertinente emplear la prueba de comparación múltiple DGC la cual no traslapa tratamientos y clarifica los resultados. Se debe además indicar que la medición de esta variable no se pudo realizar en octubre y noviembre de 2014 debido a que los brotes, por ser aún muy pequeños, no presentaban hojas completamente expandidas, sobre las cuales se mide SPAD.

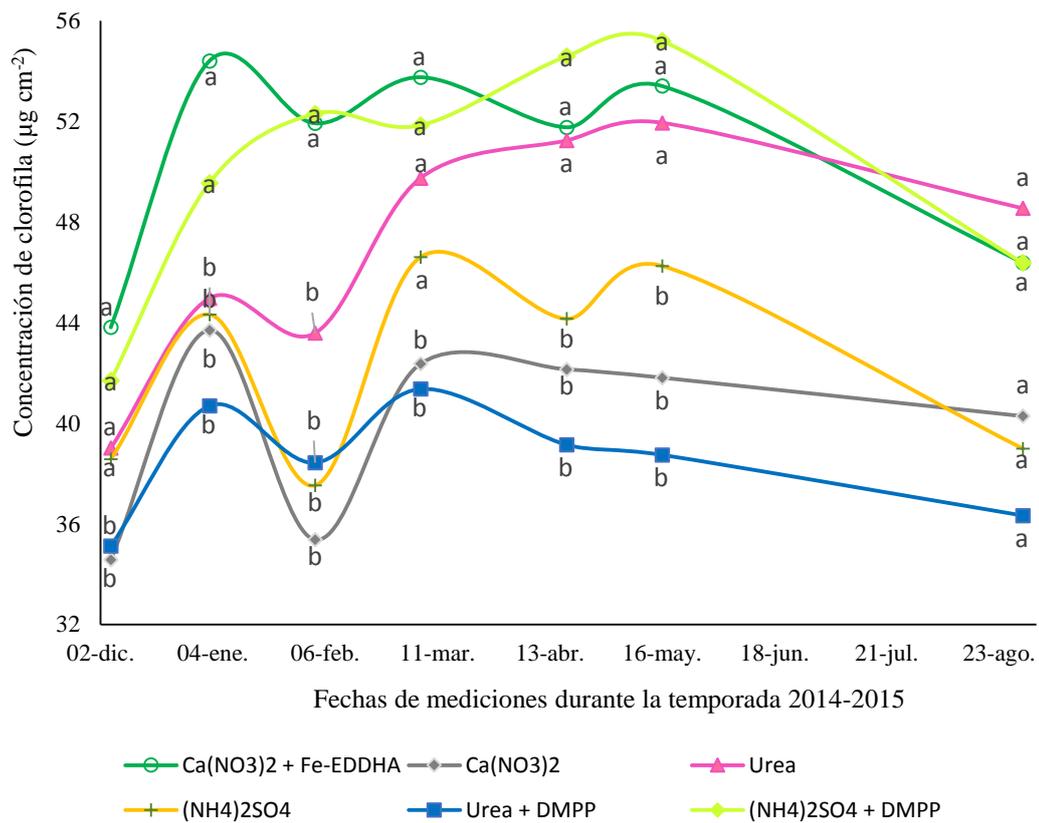


Figura 5. Concentración de clorofila foliar en palto variedad Hass determinada a partir de los valores SPAD para diferentes tratamientos durante la temporada. Medias con letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas según la prueba DGC (p valor <0.05).

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA= quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

Como se puede apreciar en la Figura 5, durante una parte importante de la temporada las aplicaciones de nitrato de calcio + quelato de Fe, y sulfato de amonio + DMPP incrementaron la concentración de clorofila foliar respecto del resto de los tratamientos, mientras que los tratamientos con urea + DMPP, y nitrato de calcio mostraron los menores valores. Las aplicaciones de sulfato de amonio y urea mostraron una eficacia intermedia en incrementar la concentración de clorofila foliar, siendo la urea la que tiende a aparecer en las mediciones de abril y mayo en el grupo de mayor concentración de clorofila. Es importante considerar que en el mes de agosto, en el cual no se registraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, la aplicación de los fertilizantes había finalizado hacía cuatro meses y el cultivo se encontraba saliendo del periodo invernal. A pesar de lo anterior, la tendencia observada durante la temporada precedente parece mantenerse, pues en agosto el grupo con la mayor concentración de clorofila continua siendo urea, sulfato de amonio + DMPP, y nitrato de calcio + quelato de Fe, mientras que los tratamientos restantes presentaron menores medias.

Actividad fotosintética

Con respecto al intercambio gaseoso foliar, determinado en los paltos mediante el analizador de gases en infrarrojo IRGA, los tratamientos aplicados no influenciaron significativamente las variables de: concentración interna de CO₂ en la hoja (Ci), evapotranspiración de la hoja (E), conductancia estomática (Gs), y fotosíntesis neta (A) (Cuadro 5).

Cuadro 5. Fotosíntesis neta (A), concentración interna de CO₂ en la hoja (Ci), conductancia estomática (Gs), y evapotranspiración de la hoja (E) determinados el 12 de enero a las 12:00 y 16:00 horas en palto variedad Hass. La Calera. No se hallaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos.

Tratamientos	A		Ci		Gs		E	
	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$		$\mu\text{mol mol}^{-1}$		$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$		$\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	
	12:00	16:00	12:00	16:00	12:00	16:00	12:00	16:00
Ca(NO₃)₂ + Fe-EDDHA	9,82	8,96	182,7	148,0	0,13	0,12	4,38	3,11
Ca(NO₃)₂	11,38	8,85	176,2	151,2	0,14	0,10	4,64	2,95
Urea	11,20	8,93	187,0	163,6	0,16	0,10	4,87	3,27
(NH₄)₂SO₄	9,43	8,43	181,8	171,8	0,12	0,12	4,01	3,19
Urea + DMPP	10,77	9,68	186,8	185,6	0,14	0,14	4,88	3,76
(NH₄)₂SO₄ + DMPP	8,53	7,80	171,4	154,9	0,10	0,06	3,90	2,80

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA= quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

Paralelamente, se realizaron análisis de correlación entre las diversas variables y los resultados arrojaron correlaciones significativas positivas entre la fotosíntesis y la conductancia estomática ($r=0,82$; $p\text{valor} < 0,0001$), la fotosíntesis y la evapotranspiración ($r=0,90$; $p\text{valor} < 0,0001$), y la evapotranspiración y conductancia estomática ($r=0,81$; $p\text{valor} < 0,0001$) (APÉNDICE III).

Concentración de NO_3^- , NH_4^+ y Fe^{2+} activo en las hojas

Los datos de análisis foliar indicaron que la aplicación de fertilizantes influenció la concentración foliar de N-nítrico, N-amoniaco, N-metabolizado y Fe activo. En contraste, no se hallaron diferencias estadísticas para la concentración de N-total (Cuadro 6).

De los resultados obtenidos, se puede destacar que los paltos tratados con fuentes nitrogenadas amoniacales presentaron menor concentración de Fe^{2+} respecto de aquellos fertilizados con nitrato de calcio + quelato Fe-EDDHA (control positivo) y por otro lado el menor porcentaje de nitrógeno metabolizado se registró los paltos tratados con nitrato de calcio en comparación con el resto de los tratamientos. Así mismo, el tratamiento con menor cantidad de nitrógeno nítrico fue el del sulfato de amonio + DMPP el cual presentó una reducción de alrededor del 40% en comparación con el resto de tratamientos, mientras que la mayor concentración de nitrógeno amoniacal la presentó el tratamiento con nitrato de calcio y urea + DMPP, siendo los tratamientos restantes de concentración similar entre ellos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Resultados del análisis foliar para los distintos tratamientos considerando el perfil metabólico completo de N así como la concentración de Fe^{2+} .

Tratamientos	N Total %	N nítrico ppm	N amoniacal ppm	N metabolizado %	Fe ⁺⁺ ppm
Ca(NO₃)₂ + Fe-EDDHA	2,42 a	239,8 a	552 b	96,3 a	57,3 a
Ca(NO₃)₂	2,59 a	218,0 a	1067 a	94,3 b	36,3 ab
Urea	2,39 a	247,5 a	516 b	96,0 a	26,5 b c
(NH₄)₂SO₄	2,51 a	217,5 a	585 b	96,3 a	17,3 b c
Urea + DMPP	2,46 a	213,8 a	842 ab	95,3 a	14,5 b c
(NH₄)₂SO₄ + DMPP	2,31 a	144,3 b	626 b	96,0 a	12,6 c

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA = quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

* Medias con letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey (p-valor < 0.05).

Complementariamente, al realizar un análisis de correlación entre estas variables se observó una sola correlación lineal negativa significativa entre el nitrógeno metabolizado y el nitrógeno amoniacal ($r = -0,97$; $p\text{-valor} = 0,0011$) (APENDICE III).

Análisis de suelo

El análisis de la concentración de nitrógeno, Fe total en suelo y carbonatos se realizó sobre una sola muestra compuesta para cada tratamiento homogenizando la variabilidad, por tal motivo no fue posible realizar un análisis de varianza. Sin embargo, la muestra compuesta incluyó a todas las repeticiones dentro de cada tratamiento considerado así a todas las unidades experimentales. Los datos indicaron una considerable disminución de carbonatos totales y caliza activa en el tratamiento con sulfato de amonio con y sin DMPP, así como un aumento en la concentración de Fe total (Cuadro 7).

Un análisis de correlación complementario entre las variables se consideró necesario para observar las posibles asociaciones entre las diversas variables analizadas. El análisis mostró dos correlaciones lineales positivas significativas entre el contenido de N-total y el NO_3^- ($r = 0,99$; $p\text{-valor} = 0,0001$), y entre el carbonato total y caliza activa ($r = 0,94$; $p\text{-valor} = 0,005$). Así también se encontraron correlaciones lineales negativas entre Fe total y carbonato total ($r = -0,84$; $p\text{-valor} = 0,03$), y entre Fe total y caliza activa ($r = -0,97$; $p\text{-valor} = 0,001$) (APÉNDICE III). Tales resultados, indican que a mayor contenido de carbonatos y caliza activa el contenido de Fe en solución se reduce.

Cuadro 7. Concentración de NH_4^+ , NO_3^- , N total, Fe total, carbonato total y caliza activa en el suelo para los distintos tratamientos.

Tratamiento	NH_4^+ mg kg^{-1}	NO_3^- mg kg^{-1}	N-total mg kg^{-1}	Fe total mg kg^{-1}	Carbonato total (%)	Caliza activa (%)
Ca(NO₃)₂ + Fe-EDDHA	39	242	281	23	4,8	2,5
Ca(NO₃)₂	29	36	65	19	4,5	2,5
Urea	59	259	318	25	4,3	2,3
(NH₄)₂SO₄	44	83	127	86	2,4	1,2
Urea + DMPP	36	114	150	28	3,9	2,3
(NH₄)₂SO₄ + DMPP	76	225	301	41	2,6	1,8

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA= quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

pH del suelo

Previo al análisis de tratamientos se determinó un pH de suelo inicial con una muestra general del cuartel en octubre de 2014, la cual indicó un valor de 8,1. Posteriormente el diseño del ensayo permitió establecer sectores de suelo inicial muy homogéneo para los distintos tratamientos. Por ejemplo, fue frecuente tener un tratamiento con sulfato de amonio cerca de un tratamiento con nitrato de calcio, en tal sentido resultaría muy difícil atribuir que el pH del suelo en una zona tan reducida se atribuya a condiciones específicas y pre existentes del suelo, en lugar de un efecto del tratamiento.

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos para todas las fechas de medición, incluso a cuatro meses después de haber finalizado las aplicaciones de fertilizantes en el mes de agosto (Figura 6).

Durante la temporada, se realizaron tres mediciones en fechas diferentes para evaluar el comportamiento del pH. La primera se realizó el 21 de marzo de 2015, y en ella los datos indicaron que las aplicaciones de sulfato de amonio y sulfato de amonio + DMPP presentaron un menor pH del suelo en comparación con el resto de tratamientos. En la segunda medición, el 17 de mayo de 2015, se encontró la media más baja para el tratamiento con sulfato de amonio el cual alcanzó un valor de pH de 5,5, logrando una reducción de 2,6 puntos en la escala en comparación con el análisis de suelo inicial que reportó un pH de 8,1 en el mes de octubre de 2014.

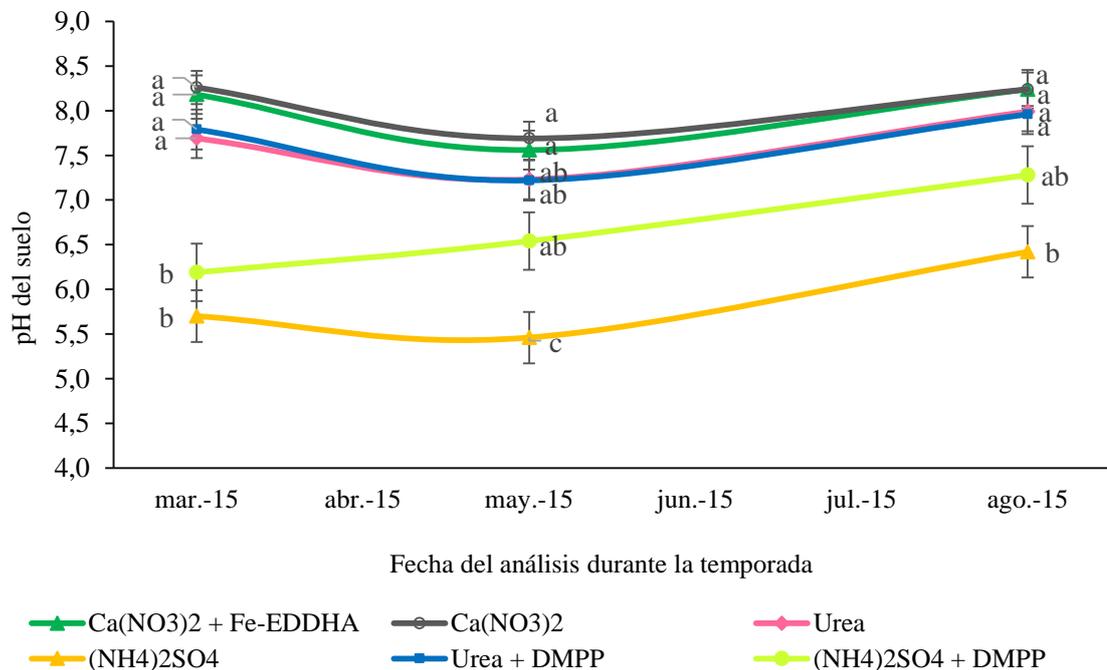


Figura 6. Valores de pH para los tratamientos en diferentes fechas de medición. Medias con letras distintas en sentido vertical indican diferencias estadísticas significativas según la prueba de Tukey (p valor <0.05).

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA = quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

La tercera medición se realizó el 30 de agosto de 2015, cerca de cuatro meses después de haber finalizado la aplicación de los tratamientos, en la cual pese a haber pasado este periodo de tiempo el tratamiento con sulfato de amonio aún presentó el menor valor de pH en comparación con el resto de tratamientos, aunque los valores de pH fueron mayores a los presentados durante la aplicación del tratamiento, indicando así que efectivamente tal fertilizante amoniacal reduce el pH del suelo. Así mismo, el pH del suelo fertilizado con sulfato de amonio + DMPP presentó un pH intermedio, sin diferenciarse estadísticamente del sulfato de amonio y el resto de los tratamientos.

Adicionalmente se debe indicar que paralelamente a la medición de pH se evaluó también la conductividad eléctrica (CE), sin embargo no se hallaron diferencias estadísticas significativas en ninguna de las fechas evaluadas para los tratamientos en esta variable (Cuadro 8).

Cuadro 8. Conductividad eléctrica (CE) en el suelo para los diferentes tratamientos tomadas el 21 de marzo, 17 de mayo y 30 de agosto de 2015, no se hallaron diferencias estadísticas significativas.

Tratamiento	CE (mS)		
	mar-15	may-15	ago-15
Ca(NO₃)₂ + Fe-EDDHA	0,25	1,31	0,16
Ca(NO₃)₂	0,15	0,82	0,14
Urea	0,21	1,21	0,22
(NH₄)₂SO₄	0,63	1,55	0,31
Urea + DMPP	0,17	1,12	0,19
(NH₄)₂SO₄ + DMPP	0,66	1,54	0,25

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA = quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

Análisis entre variables

Para conocer si existe algún tipo de asociación entre diferentes variables, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), tomando en cuenta variables como análisis de suelos, pH de suelo, SPAD, análisis foliares y largo de brote. La Figura 7 resume en un gráfico biplot los resultados encontrados.

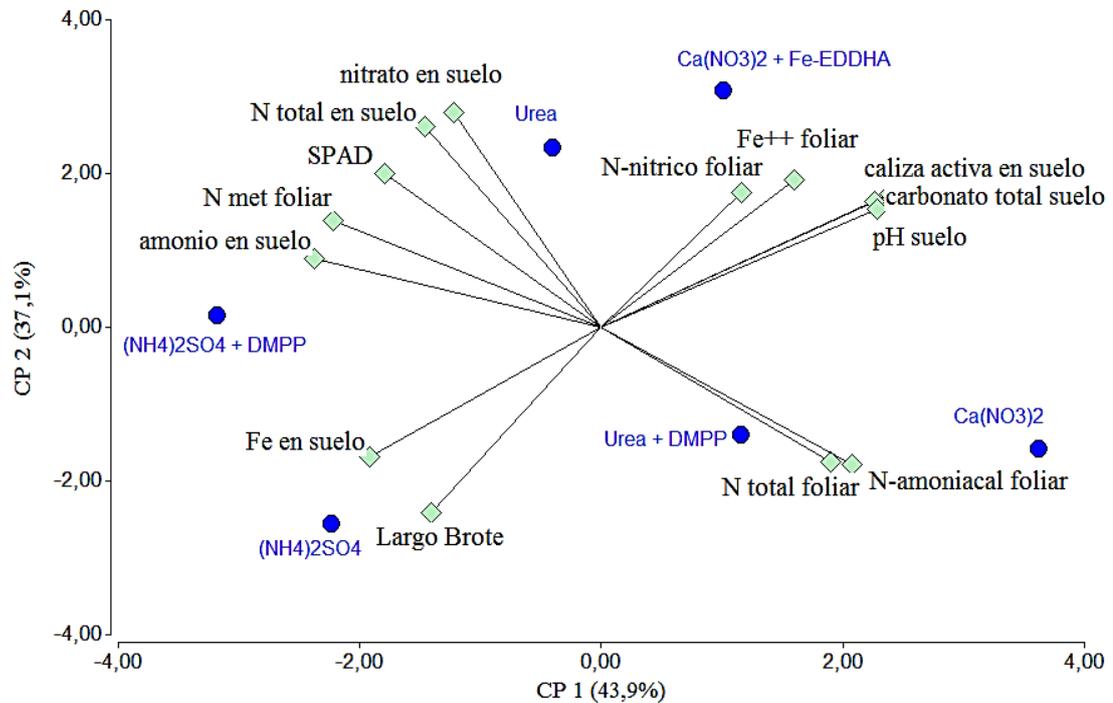


Figura 7. Gráfico Biplot para distintas variables a nivel fisiológico y de suelo relacionadas con la aplicación de tratamientos en paltos Hass durante el periodo final de la temporada (abril-mayo). La Calera.

Ca(NO₃)₂ = nitrato de calcio; Fe-EDDHA = quelato de Fe; (NH₄)₂SO₄ = sulfato de amonio; DMPP = dimetil pirazol fosfato (inhibidor de nitrificación).

El análisis indica que el componente principal 1 (CP1) explica el 43,9% de la variabilidad mientras que el componente principal 2 (CP2) explica el 37,1 % de la variabilidad en el ensayo. El análisis de componentes principales resaltó correlaciones negativas entre el N total foliar y el NH₄⁺ en el suelo ($r = -0,86$; $p\text{-valor} = 0,02$), el N total foliar y el NO₃⁻ en el suelo ($r = -0,85$; $p\text{-valor} = 0,03$), el N total foliar y el N total en el suelo ($r = -0,89$; $p\text{-valor} = 0,01$).

Paralelamente se hallaron correlaciones positivas entre el pH del suelo y carbonato total del suelo ($r = 0,9$; $p\text{-valor} = 0,01$), pH de suelo y caliza activa ($r = 1$; $p\text{-valor} < 0,0001$), además de una correlación negativa entre el pH de suelo y Fe en el suelo ($r = -0,98$; $p\text{-valor} = 0,001$). No se encontró correlación significativa alguna entre el Fe²⁺ foliar y el Fe del suelo ($r = -0,47$; $p\text{-valor} = 0,34$). Sin embargo, se encontró una correlación negativa significativa entre el Fe²⁺ foliar y el largo de brote ($r = -0,95$; $p\text{-valor} = 0,003$) sugiriendo que una mayor concentración de Fe en la hoja podría ser atribuido a un menor crecimiento del brote. Sin embargo, no se encontraron correlaciones adicionales en las variables en las que el Fe²⁺ foliar estuvo involucrado.

Así también, se encontró una correlación negativa significativa entre el largo de brote y la concentración de carbonato total del suelo ($r = -0,82$; $p\text{-valor} = 0,04$). Además parece existir una relación entre el valor SPAD y el N total en el suelo ($r = 0,81$; $p\text{-valor} = 0,051$), el SPAD y el N amoniacal foliar ($r = -0,76$; $p\text{-valor} = 0,08$), el N-amoniacal foliar y N total en el suelo ($r = -0,79$; $p\text{-valor} = 0,06$). Para estas últimas correlaciones el $p\text{-valor}$ no es

$<0,05$. Sin embargo, se acercan bastante a tal valor y los coeficientes r de Pearson son elevados. Todas las correlaciones analizadas se indican en el APÉNDICE III.

En cuanto a los tratamientos, se pudo observar que el sulfato de amonio y sulfato de amonio + DMPP se ubican entre las variables que se más relacionan con un mayor contenido de Fe en el suelo y crecimiento de largo de brote y a su vez en posición opuesta del pH del suelo, carbonatos y caliza activa. Así también el sulfato de amonio + DMPP se observa relacionado con variables de valor SPAD, concentración de NH_4^+ en el suelo y N metabolizado foliar en el CP1, mientras que la urea se observa relacionada con el N total en el suelo y SPAD en el CP2. El nitrato de calcio + Fe-EDDHA se observa asociado al Fe^{2+} foliar en el CP2. Mientras que, opuesto a contenidos de nitrógeno en el suelo y SPAD se observan los tratamientos de urea + DMPP y al control absoluto nitrato de calcio tanto en CP1 como en CP2.

DISCUSIÓN

Al finalizar la temporada, los tratamientos implementados no modificaron el ASTT respecto de los tratamientos testigo, a pesar de registrar un importante incremento de tal variable durante toda la temporada (Cuadro 3). Tales resultados, podrían ser esperables considerando que la dosis de nitrógeno aplicada a los paltos, durante toda la temporada, fue la misma para todos los tratamientos, y los árboles no se sometieron a ningún tipo de poda o manejo agronómico diferenciado. En tal sentido, el N es un macronutriente que influencia marcadamente el crecimiento de las plantas (Barker y Pilbeam, 2015). Aparentemente la fuente nitrogenada no influyó el diámetro del tronco. Estos resultados son concordantes con lo reportado por Gardiazabal et al. (2007), quien no encontró diferencias en el diámetro del tronco en paltos “Hass” adultos injertados sobre Mexícola fertilizados con diferentes fuentes de nitrógeno. Por otra parte, en el ensayo no se registraron correlaciones entre el largo de los brotes y el ASTT, lo que contrasta con lo reportado por Reginato (2009), quien menciona que el tamaño de un árbol puede ser expresado por su área de sección transversal de tronco, especialmente durante sus primeros años de vida, antes que éste sea intervenido fuertemente por podas. Así también, el autor menciona que el área de sección transversal de tronco está linealmente relacionado con el área foliar de un árbol o el peso de éste, lo cual ha sido demostrado en vides y manzanos. Es probable que no se haya encontrado correlación debido a que la medición de largo de brote se realizó en dos brotes por unidad experimental, los cuales presentaron gran variabilidad en cuanto a su desarrollo en todos los tratamientos. En este sentido es posible que un mejor indicador para correlacionar el crecimiento del árbol con el ASTT, sea el índice de área foliar. Es también posible que, para el palto, el ASTT no sea un indicador fidedigno del tamaño de la copa o crecimiento del árbol.

Por otra parte, no se registraron diferencias significativas entre los tratamientos para el largo de los brotes de los paltos. Este resultado puede ser atribuible a lo mencionado anteriormente en cuanto a igualdad de dosis y manejo. Sin embargo, los resultados encontrados difieren con lo expresado por Gardiazabal et al. (2007), quien indica que ante dosis similares de N, el sulfato de amonio + DMPP induce un mayor crecimiento en los árboles en comparación con la urea. Por otro lado, en un estudio realizado en manzanos, Fuentes y Andres (2000), no encontraron diferencias significativas en el crecimiento de brotes al comparar el efecto de aplicaciones de urea y nitrato de calcio a una misma dosis de N. Otro factor que pudo incidir en el resultado se atribuye a que el palto presenta dos tipos de brotes, el siléptico y el proléptico los cuales muestran diferentes comportamientos de crecimiento (Salvo y Martinez, 2008). Esto pudo haber generado gran variabilidad en la longitud de los brotes, lo cual dificulta la detección de posibles diferencias significativas.

En cuanto a los instrumentos utilizados para determinar la concentración de clorofila en campo, en la literatura se concuerda que tanto el Colorímetro Triestímulo Minolta (Palacios, 2003), como el SPAD (Ferreira et al., 2008), son herramientas que ofrecen buenos ajustes al relacionarlos con la concentración de clorofila foliar. Además, tales autores han reportado que la relación se ajusta mejor a una función polinomial de segundo

orden que la lineal, lo cual también coincide con lo indicado por Ling et al. (2011). Sin embargo, los niveles de concentración de clorofila foliar registrados en el presente estudio no concuerdan con lo expresado por Razeto y Palacios (2005), quienes registraron un rango entre 50 y 500 $\mu\text{g cm}^{-2}$ para hojas de palto sometidos a diferentes niveles de clorosis férrica. Por otra parte, los resultados obtenidos en esta investigación son más cercanos con lo expresado por Schaffer et al. (1991), quienes reportaron concentraciones entre 15 y 60 $\mu\text{g cm}^{-2}$ para paltos “Hass” (figuras 2 y 3).

La concentración de clorofila (Figura 5), fue mayor en las hojas de los paltos fertilizados con nitrato de calcio + Fe-EDDHA (control positivo) y sulfato de amonio + DMPP, y ambos tratamientos mostraron un efecto similar en la concentración de clorofila foliar en todas las fechas de medición, superando siempre al testigo absoluto. El uso de quelatos de Fe para corregir clorosis férrica en palto es una técnica bastante difundida y los efectos observados en el presente estudio sobre el contenido de clorofila de las hojas coinciden con el comportamiento reportado por distintos autores (Gardiazabal, 2004; Ferreyra et al., 2008). Los paltos tratados con sulfato de amonio + DMPP presentaron altos valores de SPAD, similar a los observado por Covarrubias et al. (2014) y Martínez et al. (2015) en plantas de vid y fresa, respectivamente, quienes reportaron incrementos en los valores de SPAD ante tal tratamiento atribuibles a aplicaciones de sulfato de amonio + DMPP. Es probable que la alta concentración de clorofila para el tratamiento con sulfato de amonio + DMPP se deba a una combinación de los dos efectos esperados para tal tratamiento, por un lado la absorción directa de NH_4^+ produjo una acidificación en la rizósfera debido a la emisión de protones vía H^+ -ATPasa (Jiménez et al., 2007), y a la vez la porción restante de N en el suelo se nitrificó acidificando el mismo (Tong y Xu, 2012), como lo demostró el análisis de pH del suelo, facilitando la movilización del Fe y otros nutrientes (Blaya y García, 2003).

El tratamiento con urea indujo en los paltos un efecto variable a través del tiempo, en enero y febrero indujo una concentración de clorofila foliar baja en comparación con los paltos tratados con sulfato de amonio + DMPP y nitrato de calcio + quelato Fe-EDDHA, mientras en los meses restantes no se diferenciaron estadísticamente de los tratamientos antes mencionados, presentando por lo tanto una elevada concentración de clorofila. Al respecto Gardiazabal et al. (2007), no encontraron diferencias significativas entre paltos “Hass” tratados con urea y sulfato de amonio + DMPP. Sin embargo, no se menciona el pH del suelo en el cual realizó el ensayo, lo cual podría explicar en parte tales resultados. Es importante considerar que la urea es una amida y cuando se aplica al suelo pasa por el proceso conocido como hidrólisis, convirtiendo el nitrógeno en forma de NH_4^+ , como resultado de la enzima ureasa (Hewitt, 2006). Sin embargo, la urea es susceptible a volatilización, altamente dependiente de las condiciones del suelo y del medio ambiente (Koenig et al., 2007), y por tal motivo, es probable que procesos como la hidrólisis y la volatilización hayan influido en la variabilidad de la respuesta a la concentración de clorofila para este tratamiento.

El tratamiento con sulfato de amonio mostró también un comportamiento variable en sus valores SPAD a lo largo de las mediciones. Es probable que dicho comportamiento se deba a que este tratamiento redujo notablemente el pH del suelo y tal condición influyó

en la disponibilidad de los nutrientes (Figura 6). Es decir, un pH muy bajo puede contribuir a la solubilidad de ciertos elementos (mayoritariamente micro-elementos) pero comprometer la disponibilidad de otros (preferentemente macro-elementos). Ante una reducción en el pH del suelo, se puede verificar una disminución en la disponibilidad de P, ya que, a medida que el pH decrece se produce la precipitación del P como fosfatos insolubles. Así también, la absorción de K podría verse afectada bajo estas condiciones de pH (Blaya y García, 2003). Por el contrario, Rodríguez et al. (1998) reportaron incrementos en valor SPAD en suelos calcáreos como respuesta a aplicaciones de sulfato de amonio, reduciendo síntomas de clorosis en un cultivo de sorgo, lo cual también se observó en el presente estudio en los meses de diciembre de 2014 y marzo de 2015 (Figura 5). A pesar de que en el ensayo no se evaluaron variables biológicas de suelo, es importante considerar que efectos del azufre y acidificación del suelo pueden alterar el ciclo biogeoquímico de los elementos y también causar efectos negativos sobre la biota (Tong y Xu, 2012).

El tratamiento con urea + DMPP indujo en los paltos la concentración de clorofila más baja junto con el tratamiento control (nitrato de calcio) en todas las fechas de medición (Figura 5). Los tratamientos urea + DMPP y urea fueron similares en enero y marzo de 2015, y significativamente diferentes los meses restantes siendo más efectivo el tratamiento que llevó únicamente urea. Al respecto, García-Castro et al. (2013), no encontraron diferencias estadísticas significativas para los tratamientos de urea y urea + DMPP en los valores de SPAD en un cultivo de rosa. Así también, Canali et al. (2014), no encontraron diferencias en los valores de SPAD entre tales tratamientos en cultivo de espinaca, pero a la vez indican que el tratamiento que sólo contenía urea se comportó mejor que el tratamiento con urea + DMPP. Los autores del trabajo atribuyeron tal efecto a una mejor absorción de N y eficiencia de uso de este por una parte, y por otra a que la disponibilidad de NO_3^- en el suelo no estaba sincronizada con las necesidades de N del cultivo. Algo similar pudo ocurrir en el presente ensayo. En tal contexto, la urea es propiamente una amida que cuando se aplica al suelo pasa por una hidrólisis en la cual el N es convertido rápidamente a una forma amoniacal. Una vez como NH_4^+ , los iones son adsorbidos por las partículas de arcilla y humus, siendo temporalmente resistentes a la lixiviación (Hewitt, 2006). Sin embargo, la hidrólisis ocasiona una elevación en el pH y consecuentemente ese incremento desplaza el equilibrio del NH_4^+ y NH_3 favoreciendo la volatilización del NH_3 a la atmósfera (Schlegel y Nelson, 1987). Es importante considerar que todos los fertilizantes basados en NH_4^+ tienen potencial de volatilizarse, pero la urea presenta los mayores potenciales de volatilización, siendo más significativa durante las 2 a 3 semanas después de haber sido aplicada. Así también, condiciones de pH alcalino de suelo y altas temperaturas incrementan la tasa de volatilización (Koenig, et al. 2007). Tales evidencias, sugieren que en el presente estudio hubo condiciones que pudieron predisponer una mayor volatilización del N en el tratamiento de urea al adicionar DMPP, el cual impidió el proceso de nitrificación provocando acumulación de NH_4^+ y pérdidas por volatilización reduciendo la eficiencia de uso del N. Por tal motivo, es posible que este tratamiento haya presentado los valores más bajos de SPAD de forma similar al testigo (nitrato de calcio).

Por su parte, los paltos testigos presentaron el comportamiento esperado, vale decir, menores concentraciones de clorofila, lo cual concuerda con lo mencionado por varios autores (Mengel, 1994; Smolders et al. 1997; Kosegarten et al. 1998; Jimenez et al. 2007, Covarrubias et al. 2014), quienes reportan que el NO_3^- puede inducir carencias de Fe. Al respecto, Aktas y Van Egmond (1979), estudiaron el efecto de la fertilización nitrogenada sobre genotipos de soya con diferentes susceptibilidades a la clorosis férrica en suelos calcáreos y reportaron que, un aumento en la cantidad de NO_3^- suministrado a plantas susceptibles agravaron los síntomas de clorosis, mientras que en variedades resistentes aumentó el crecimiento. Por lo tanto, al ser el palto una especie susceptible, se esperaba encontrar bajos niveles de clorofila como respuesta a aplicaciones de NO_3^- y se ratifica que esta fuente de N puede influir negativamente en la concentración de clorofila de plantas establecidas en suelos alcalinos y calcáreos.

Con respecto a la fotosíntesis y sus variables relacionadas, no se encontraron diferencias estadísticas como respuesta a los tratamientos (Cuadro 5). Los resultados no coinciden con Bavaresco et al. (2006), quienes encontraron diferencias en las variables antes mencionadas en hojas apicales de vid, presentando menores valores en hojas cloróticas de plantas que crecieron en suelo calcáreo en comparación con las que crecieron no cloróticas en suelo no calcáreo. Es probable que en el presente estudio no se encontraron diferencias debido a que la medición se realizó en hojas adultas y funcionales insertas en el tercio medio del brote de los paltos, y tales hojas presentaban síntomas leves de clorosis. Sin embargo, se debe mencionar que a pesar de que se conoce que el déficit de Fe altera tanto la estructura del cloroplasto como la tasa de fotosíntesis en las plantas superiores, el conocimiento del impacto de la homeostasis del Fe en la eficiencia de la fotosíntesis, y por lo tanto, sobre la producción de biomasa, es aún muy limitado (Briat et al., 2015). Así también, habría sido conveniente el poder realizar más mediciones durante la temporada o en periodos posteriores de forma de hacer un correcto seguimiento sobre esta variable.

En lo que respecta el estado nutricional de los paltos, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas para la concentración de N total determinado en hojas. Tal resultado podría ser esperable, e indica que la aplicación de dosis iguales de N pero de distintas fuentes no afectaría tal variable en hoja de palto. En cuanto a la concentración de N-nítrico, el tratamiento con sulfato de amonio + DMPP fue el que presentó la menor concentración y esto podría atribuirse a una menor absorción del N en esta forma, lo que indicaría la eficacia del DMPP como inhibidor de la nitrificación. A pesar de que los resultados indican una menor absorción de NO_3^- en este tratamiento, debe considerarse que el NO_3^- puede ser reducido a NH_4^+ en la misma raíz y también puede ser transportado a la hoja por el xilema para ser reducido y asimilado (Diaz et al., 2002). Por tal motivo, en el actual estudio no es posible conocer la relación $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ absorbido, ni cuánto NO_3^- se transportó directamente a la hoja y cuanto se redujo en la raíz. Una situación similar sucede con el contenido de nitrógeno amoniacal, pero en este caso el NH_4^+ se asimila en proteínas y puede hacerlo tanto en la raíz como en las hojas (Diaz et al., 2002). Sin embargo, debe observarse que los paltos tratados con nitrato de calcio y urea + DMPP tienen mayor concentración de N amoniacal y a la vez menor nitrógeno metabolizado, lo que sugiere que el NH_4^+ se acumuló debido a una baja transformación y asimilación a

aminoácidos. A la vez, estos tratamientos son los que presentaron menor valor de SPAD durante todas las mediciones, sugiriendo menor actividad de enzimas GS/GOGAT. Sería entonces de utilidad evaluar la actividad de estas enzimas en investigaciones futuras, así como observar explicaciones posibles a estos efectos.

En cuanto a la concentración de Fe^{2+} en el tejido foliar, las aplicaciones de nitrato de calcio + quelato de Fe incrementaron significativamente la concentración en comparación con el resto de los tratamientos. Es altamente probable que esto se deba al efecto de la aplicación del quelato de Fe al suelo y al menor crecimiento del brote registrado en los paltos asociados a este tratamiento, provocando el aumento en la concentración del Fe^{2+} . Tal hipótesis podría ser respaldada por la alta correlación negativa significativa entre el Fe^{2+} foliar y el largo de brote, la cual arrojó un $r = -0,95$; $p\text{-valor} = 0,003$; es decir que la concentración del Fe^{2+} estaría más asociada al suministro del elemento vía quelato y al crecimiento del órgano, que a otras variables como concentración de clorofila, fotosíntesis o pH del suelo. Por tal motivo no se encontraron correlaciones entre tales variables y los resultados para el resto de tratamientos arrojaron una tendencia o concordancia. Al respecto, Palacios (2003), señala que el análisis de Fe activo es un proceso complicado y que no ha sido posible determinar niveles estándares para utilizarlo como técnica de diagnóstico del déficit de Fe.

A nivel de suelo, los análisis indicaron una reducción del pH para el tratamiento con sulfato de amonio. Los datos son concordantes con lo indicado por Ruiz (1999), quien menciona el importante efecto acidificante del sulfato de amonio en la solución suelo. Respecto a la menor concentración de carbonatos y caliza activa en el tratamiento con sulfato de amonio, a pesar de no poder haber sido posible el análisis estadístico es factible obtener dicho resultado, Mariscal-Sancho y Ginés (2002) mencionaron efectos descalcificantes del ion SO_4^{-2} en el suelo mediante su reacción con el Ca de los bicarbonatos presentes, dando paso a la formación de CaSO_4 .

Las concentraciones de N-total, NH_4^+ y NO_3^- en el suelo fueron muy diferentes entre los tratamientos, por lo cual no se logró construir una explicación válida sobre el efecto de los tratamientos en tal variable. Un aspecto que pudo incidir en los resultados fue que la recolección de muestras se realizó tres semanas después de haber aplicado los tratamientos y es posible que hasta tal fecha los efectos y reacciones de nitrificación hayan sucedido en su mayor parte. Al respecto, Tagliavini et al. (1995) no encontraron diferencias en la concentración de NO_3^- al confrontar suelos calcáreos tratados con sulfato de amonio o nitrato de calcio en cultivo de duraznero. Sin embargo, las plantas fertilizadas con nitrato de calcio presentaron clorosis en comparación con aquellas fertilizadas con sulfato de amonio, el cual se señala puede mejorar la absorción de micronutrientes en estas condiciones, corroborando los resultados encontrados en el presente ensayo.

Finalmente, el pH en el suelo mostró una correlación positiva con la concentración de carbonatos y caliza activa, así como una alta correlación negativa con la concentración de Fe en el suelo. Tales resultados, confirman que menores valores de pH y carbonatos solubilizan el Fe, incrementando su disponibilidad (Lemus et al., 2005; Astudillo, 2008; Ferreyra et al., 2008). En tal sentido, las aplicaciones de sulfato de amonio con y sin

DMPP indujeron mayores concentraciones de Fe en la solución suelo. Es importante mencionar que para cuantificar el contenido de Fe en el suelo se utilizó el método DTPA (ácido dietilentríaminopentaacético), el cual extrae metales de las fracciones más lábiles del suelo, y ha sido ampliamente utilizado para determinar la biodisponibilidad de muchos metales, obteniendo en numerosos casos buenas correlaciones entre las concentraciones de metales extraídos con él y las cantidades tomadas por la planta (González et al., 2009).

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en las cuales se realizó el presente experimento, es posible concluir que:

El sulfato de amonio + DMPP, incrementan la concentración de clorofila de forma análoga al quelato de Fe.

El uso continuo de fertilizantes de fuente amoniacal durante la temporada, particularmente del sulfato de amonio, reduce de forma sustancial el pH de suelos alcalinos, así como la concentración de carbonatos totales y caliza activa, y a su vez promueven la solubilización del Fe en el suelo.

La aplicación de fertilizantes amoniacales no logra alcanzar concentraciones de Fe foliar similares a las registradas con el uso de quelatos de Fe. Sin embargo, en el tratamiento con Fe-EDDHA la mayor concentración de Fe foliar está íntimamente asociada al aporte de este elemento en el quelato, y no presenta correlación alguna a aspectos relativos al síntoma de clorosis férrica como concentración de clorofila, pH del suelo y carbonatos en el suelo.

No existe correlación alguna entre el contenido de Fe^{2+} foliar y el Fe disponible en el suelo, así como tampoco con la concentración de clorofila, dejando aún pendientes los cuestionamientos sobre la “Paradoja de la clorosis” en las que el contenido de Fe en la hoja no es indicador fidedigno del síntoma por carencia de Fe.

Durante el tiempo en el cual se desarrolló el experimento, las fuentes de N implementadas no alteraron la fotosíntesis, conductancia estomática y evapotranspiración de las hojas.

LITERATURA CITADA

- Aktaş, M. and F. Van Egmond, 1979. Effect of nitrate nutrition on iron utilization by an Fe-efficient and an Fe-inefficient soybean cultivar. *Plant and soil*, 51(2): 257-274.
- Astudillo, P. (2008). Clorosis férrica en árboles frutales: Actualización de sus causas, efectos y soluciones propuestas. Memoria Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía, Estación Experimental La Palma, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, 59p.
- Barker, A.V. and D.J. Pilbeam, (Eds.). 2015. Handbook of plant nutrition. CRC press, 613p.
- Bavaresco, L.; M. Bertamini and F. Iacono. 2006. Lime-induced chlorosis and physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot blanc) leaves. *VITIS-Journal of Grapevine Research*, 45(1): 45.
- Blaya, S. and G. García. 2003. Química Agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Mundi-Prensa Libros. 487 p.
- Briat, J.; C. Dubos and F. Gaymard. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in plant science*, 20(1): 33-40.
- Campillo, R. y A. Sadzawka. 2009. La acidificación de los suelos, origen y mecanismo involucrados. . [En línea]. Instituto de Investigaciones Agropecuarias - INIA. 17 p. Recuperado en: < <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/serieactas/NR33853.pdf>> Consultado el 20 de noviembre de 2015.
- Canali, S.; M. Diacono; C. Ciaccia; O. Masetti; F. Tittarelli and F. Montemurro. 2014. Alternative strategies for nitrogen fertilization of overwinter processing spinach (*Spinacia oleracea* L.) in Southern Italy. *European Journal of Agronomy*, 54: 47-53.
- Covarrubias, J.; A. Pisi and A. Rombolá. 2014. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20: 149–159.
- Diaz, P.; S. Gonnet; P. Irisarre; F. Milnitsky y J. Monza. 2002. Consideraciones sobre el metabolismo de nitrógeno en plantas. Manual curso de Bioquímica. Facultad de ciencias exactas y agrimensura. Universidad nacional del Nordeste. Consultado el 24-nov-2015
Recuperado en:
<<http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Consideraciones%20sobre%20el%20metabolismo%20del%20nitrogeno%20en%20plantas.pdf>>
- Ferreira, R.; G. Selles; R. Ruiz; P. Gil y C. Barrera. 2008. Manejo de la clorosis férrica en palto. Boletín INIA N° 181. La Cruz, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 60 p.

Fuentes, D., y C. Andres. 2000. Efecto de la dosis y fuentes de fertilización nitrogenada y la aplicación de potasio sobre la capacidad de predicción de bitter pit mediante infiltración de frutos con sales de magnesio, en manzanas cv. Braeburn. Memoria Ingeniero Agrónomo, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca 45 p.

García-Castro, A.; H. Restrepo-Díaz and V. Flórez-Roncancio. 2013. The use of the nitrification inhibitor 3, 4 dimethylpyrazol phosphate (DMPP) on the growth of rose plants cultivated in soil and coconut fibre. . In International Symposium on Growing Media, Composting and Substrate Analysis 1013, (pp. 285-290).

Gardiazabal, F. 2004. Riego y nutrición en paltos. Sociedad Gardiazábal y Magdahl Ltda. En 2º Seminario internacional de paltos. Quillota, 29-30.

Gardiazabal, F.; F. Mena y C. Magdahl. 2007. Efecto de la fertilización con inhibidores de la nitrificación (Entec® solub 21) en paltos (Persea americana Mill) cv. Hass. In Proc. VI World Avocado Congress. Palta Hass de Chile y Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. Viña del Mar, Chile.

González, D.; P. Almendros y J. Álvarez. 2009. Métodos de análisis de elementos en suelos: disponibilidad y fraccionamiento. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*. 105(3): 205-212.

Hanson, E.J. 2006. Nitrogen fertilization of highbush blueberry. Acta VIII International Symposium on Vaccinium Culture 715: 347-351.

Hewitt, W. 2006. Evaluation of strategies to match nitrogen release from urea fertiliser to plant Demand. Honours research project. School of Agriculture and Food Systems, University of Melbourne, 78 p.

Horneck, D.; J. Hart; R. Stevens; S. Petrie and J. Altland. 2004. Acidifying soil for crop production West of the Cascade Mountains (Western Oregon and Washington). Publication N° EM 8857-E. Oregon State University, Corvallis, Oregon.

Irigoyen, I.; C. Lamsfus; P. Aparicio-tejo and J. Muro. 2006. The influence of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate and dicyandiamide on reducing nitrate accumulation in spinach under Mediterranean conditions. *The Journal of Agricultural Science*, 144: 555.

Jiménez, S.; Y. Gogorcena; C. Hévin; A.D. Rombolà; and N. Ollat. 2007. Nitrogen nutrition influences some biochemical responses to iron deficiency in tolerant and sensitive genotypes of Vitis. *Plant Soil*, 290:343–355.

Koenig, R.; J. Ellsworth; B. Brown and G. Jackson. 2007. Management of urea fertilizer to minimize volatilization. Montana State University Extension. 12 p.

Kosegarten, H.; U. Schwed; G. Wilson and K. Mengel. 1998. Comparative investigation on the susceptibility of faba bean (*Vicia faba* L.) and sunflower (*Helianthus annuus* L.) to iron chlorosis. *Journal of plant nutrition*, 21(7): 1511-1528.

Lemus, G. R. Ferreyra; P. Gil; P. Maldonado; P. Toledo; C. Barrera; P. Sepúlveda y J. Celedón. 2005. El cultivo del palto. Boletín INIA N° 129, Segunda edición. La Cruz, Chile: Instituto de Investigaciones Agropecuarias. 76 p.

Lichtenthaler, H. and A. Wellburn. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11(5): 591-592.

Ling, Q.; W. Huang and P. Jarvis. 2011. Use of a SPAD-502 meter to measure leaf chlorophyll concentration in *Arabidopsis thaliana*. *Photosynthesis research*, 107(2): 209-214.

Mariscal-Sancho, I. y I. Ginés. 2002. Incidencia de los fertilizantes sobre el pH del suelo. [En línea]. Fertiberia S.A. Archivo Digital de la Universidad Politécnica de Madrid. 9 p. Recuperado en: < http://oa.upm.es/3176/2/MARISCAL_MONO_2002_01.pdf> Consultado el: 25 de noviembre de 2015.

Marschner, H. 1995. Mineral nutrition of higher plants. 2nd ed. Academic Press, London. 650 p.

Martínez, F.; P. Palencia; C.M. Weiland; D. Alonso and J.A. Oliveira. 2015. Influence of nitrification inhibitor DMPP on yield, fruit quality and SPAD values of strawberry plants. *Scientia Horticulturae*, 185: 233-239.

Mengel, K. 1994. Iron availability in plant tissues-iron chlorosis on calcareous soils. *Plant and Soil*, 165(2): 275-283.

Palacios, J. 2003. Clorosis férrica y su relación con el nivel de clorofila y hierro en diferentes órganos en palto (*Persea americana* Mill.). Memoria de Título. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. Santiago de Chile. 22 p

Razeto, B., y J. Palacios. 2005. Efecto de la clorosis férrica en el tamaño y la concentración de aceite en el fruto del palto (*Persea americana* Mill.). *Agricultura Técnica*, 65(1): 105-111.

Reginato, G. 2009. La replantación de Frutales. Serie Ciencias Agronómicas N° 13, Universidad de Chile. Santiago-Chile. 56p.

Rodríguez, V.; M. Fonseca; J. Molina and L. Trillo. 1998. Aplicación de ácido sulfúrico en el riego corrige la clorosis férrica de los cultivos en suelos calcáreos. *Terra*, 16(2): 149-161.

Rombolà, A.D. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. In Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. *Springer Netherlands* pp. 61-83.

Ruiz, R. 1999. Características de algunos fertilizantes nitrogenados para su uso en goteo. INIA, La Platina. Serie la Platina N° 82. 2p. Santiago de Chile.

Salvo, J. y J. Martínez, 2008. Brotes del Palto, Instituto de Investigaciones Agropecuarias, (Boletín técnico) INIA-La Cruz. Valparaíso, Chile. 2p. Recuperado en: <<http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/informativos/NR35158.pdf>>

Schaffer, B.; A. Whiley and R. Kohli. 1991. Effects of leaf age on gas exchange characteristics of avocado (*Persea americana* Mill.). *Scientia horticultrae*, 48(1): 21-28.

Schlegel, A. and D. Nelson. 1987. Use of urease inhibitors and urea fertilizers on wheat. *Fertiliser Research*, 11: 97-111.

Smolders, A.; R. Hendriks; H. Campschreur and J. Roelofs. 1997. Nitrate induced iron deficiency chlorosis in *Juncus acutiflorus*. *Plant and Soil*, 196(1): 37-45.

Tagliavini, M.; A. Masia and M. Quartieri. 1995. Bulk soil pH and rhizosphere pH of peach trees in calcareous and alkaline soils as affected by the form of nitrogen fertilizers. *Plant and Soil*, 176(2): 263-271.

Tong, D., and R. Xu. 2012. Effects of urea and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ on nitrification and acidification of Ultisols from Southern China. *Journal of Environmental Sciences*, 24(4): 682-689.

Zerulla, W.; T. Barth; J. Dressel; K. Erhardt; K.H. von Locquenghien; G. Pasda; M. Rädle and A.H. Wissemeier. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) – a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. An introduction. *Biology and Fertility of Soils*, 34: 79–84.

APÉNDICE I

Resumen de distintos modelos de regresión analizados al medir la concentración de clorofila con valores del colorímetro triestímulo y SPAD.

Variabes	Modelo	R²	AIC	BIC	Ecuación
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y L*	lineal	0,90	156,1	159,6	$y = -1,67x + 111,02$
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y L*	cuadrático	0,94	144,6	149,3	$y = 0,04x^2 - 5,59x + 206,7$
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y a*		0,02			ns
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y b*	lineal	0,90	155,1	158,6	$y = -1,24x + 67,631$
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y b*	cuadrático	0,90	156,6	161,4	$y = 0,0055x^2 - 1,57x + 71,73$
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y SPAD	lineal	0,92	127,6	130,7	$y = 1,04x - 3,16$
$\mu\text{g cm}^{-2}$ y SPAD	cuadrático	0,93	128,2	131,4	$y = 0,0026x^2 + 0,88x - 1,35$
$\mu\text{g g}^{-1}$ y L*	lineal	0,80	352,0	355,5	$y = -67,03x + 4448,2$
$\mu\text{g g}^{-1}$ y L*	cuadrático	0,87	343,9	348,6	$y = 2,04x^2 - 274,16x + 9498,3$
$\mu\text{g g}^{-1}$ y a*		0,02			ns
$\mu\text{g g}^{-1}$ y b*	lineal	0,80	352,0	355,6	$y = -49,73x + 2701,62$
$\mu\text{g g}^{-1}$ y b*	cuadrático	0,81	352,3	357,0	$y = 0,64x^2 - 88,35x + 3176,7$
$\mu\text{g g}^{-1}$ y SPAD	lineal	0,81	298,2	301,3	$y = 33,31x + 29,04$
$\mu\text{g g}^{-1}$ y SPAD	cuadrático	0,81	300,1	304,3	$y = -0,07x^2 + 37,85x - 23,52$

APÉNDICE II

Valores SPAD para los diferentes tratamientos en diferentes fechas de toma de datos y las diferencias halladas mediante dos pruebas de comparación múltiple, Tukey y DGC.

¹Letras distintas en sentido vertical indican diferencias significativas entre valores de SPAD según las pruebas de Tukey y DGC ($p \leq 0,05$).

05-Dic				03-Ene			
Tratamiento	SPAD	Tukey	DGC	Tratamiento	SPAD	Tukey	DGC
T1	44,05	a ¹	a	T1	54,46	a	a
T6	43,33	a	a	T6	50,41	a b	a
T4	42,18	a	a	T4	47,74	a b c	b
T3	40,89	a b	a	T3	46,39	b c	b
T5	37,15	b	b	T2	45,03	b c	b
T2	36,67	b	b	T5	42,22	c	b
03-Feb				06-Mar			
Tratamiento	SPAD	Tukey	DGC	Tratamiento	SPAD	Tukey	DGC
T6	53,08	a	a	T1	53,85	a	a
T1	52,33	a	a	T6	52,71	a b	a
T3	44,75	a b	b	T4	50,03	a b	a
T4	41,21	b	b	T3	49,95	a b	a
T5	40,34	b	b	T2	44,05	a b	b
T2	37,56	b	b	T5	43,05	b	b
25-Abr				16-May			
Tratamiento	SPAD	Tukey	DGC	Tratamiento	SPAD	Tukey	DGC
T6	55,03	a	a	T6	55,62	a	a
T1	51,98	a b	a	T1	53,41	a b	a
T3	51,40	a b	a	T3	51,91	a b	a
T4	47,86	a b	b	T4	48,54	a b	b
T2	44,18	a b	b	T2	43,70	a b	b
T5	41,09	b	b	T5	40,19	b	b
30-Ago							
Tratamiento	SPAD						
T3	49,39	ns					
T6	47,42	ns					
T1	46,88	ns					
T2	41,68	ns					
T4	41,58	ns					
T5	37,5	ns					

APÉNDICE III

Todas las correlaciones analizadas durante el estudio con el fin de encontrar variables relacionadas a la carencia de Fe.

variable 1	variable 2	Pearson	p-valor
Nitrato en suelo	Amonio en suelo	0,65	0,1609
N total en suelo	Amonio en suelo	0,74	0,0929
N total en suelo	Nitrato en suelo	0,99	0,0001
Fe en suelo	Amonio en suelo	0,18	0,7386
Fe en suelo	Nitrato en suelo	-0,27	0,6067
Fe en suelo	N total en suelo	-0,21	0,6891
Carbonato total suelo	Amonio en suelo	-0,54	0,2702
Carbonato total suelo	Nitrato en suelo	0,15	0,7816
Carbonato total suelo	N total en suelo	0,04	0,9343
Carbonato total suelo	Fe en suelo	-0,84	0,0369
Caliza activa en suelo	Amonio en suelo	-0,38	0,4623
Caliza activa en suelo	Nitrato en suelo	0,18	0,7301
Caliza activa en suelo	N total en suelo	0,10	0,8488
Caliza activa en suelo	Fe en suelo	-0,97	0,0012
Caliza activa en suelo	Carbonato total suelo	0,94	0,0059
N total foliar	Amonio en suelo	-0,86	0,0272
N total foliar	Nitrato en suelo	-0,85	0,0324
N total foliar	N total en suelo	-0,89	0,0169
N total foliar	Fe en suelo	0,11	0,8385
N total foliar	Carbonato total suelo	0,24	0,6431
N total foliar	Caliza activa en suelo	0,06	0,9089
N-nitrico foliar	Amonio en suelo	-0,39	0,4502
N-nitrico foliar	Nitrato en suelo	0,28	0,5900
N-nitrico foliar	N total en suelo	0,19	0,7222
N-nitrico foliar	Fe en suelo	-0,28	0,5903
N-nitrico foliar	Carbonato total suelo	0,69	0,1286
N-nitrico foliar	Caliza activa en suelo	0,43	0,3941
N-nitrico foliar	N total foliar	0,25	0,6367
N-amoniaco foliar	Amonio en suelo	-0,59	0,2200

N-amoniacal foliar	Nitrato en suelo	-0,78	0,0682
N-amoniacal foliar	N total en suelo	-0,79	0,0642
N-amoniacal foliar	Fe en suelo	-0,36	0,4870
N-amoniacal foliar	Carbonato total suelo	0,26	0,6203
N-amoniacal foliar	Caliza activa en suelo	0,38	0,4628
N-amoniacal foliar	N total foliar	0,63	0,1783
N-amoniacal foliar	N-nitrico foliar	-0,29	0,5740
N met foliar	Amonio en suelo	0,55	0,2622
N met foliar	Nitrato en suelo	0,68	0,1340
N met foliar	N total en suelo	0,69	0,1257
N met foliar	Fe en suelo	0,48	0,3381
N met foliar	Carbonato total suelo	-0,38	0,4613
N met foliar	Caliza activa en suelo	-0,49	0,3273
N met foliar	N total foliar	-0,61	0,1994
N met foliar	N-nitrico foliar	0,16	0,7670
N met foliar	N-amoniacal foliar	-0,97	0,0011
Fe++ foliar	Amonio en suelo	-0,46	0,3568
Fe++ foliar	Nitrato en suelo	0,22	0,6798
Fe++ foliar	N total en suelo	0,12	0,8221
Fe++ foliar	Fe en suelo	-0,47	0,3420
Fe++ foliar	Carbonato total suelo	0,77	0,0725
Fe++ foliar	Caliza activa en suelo	0,61	0,2008
Fe++ foliar	N total foliar	0,21	0,6831
Fe++ foliar	N-nitrico foliar	0,64	0,1739
Fe++ foliar	N-amoniacal foliar	-0,04	0,9436
Fe++ foliar	N met foliar	-0,01	0,9846
pH suelo	Amonio en suelo	-0,37	0,4688
pH suelo	Nitrato en suelo	0,15	0,7729
pH suelo	N total en suelo	0,08	0,8862
pH suelo	Fe en suelo	-0,98	0,0008
pH suelo	Carbonato total suelo	0,92	0,0086
pH suelo	Caliza activa en suelo	1,00	0,00001
pH suelo	N total foliar	0,07	0,8907
pH suelo	N-nitrico foliar	0,39	0,4458
pH suelo	N-amoniacal foliar	0,42	0,4116
pH suelo	N met foliar	-0,53	0,2837
pH suelo	Fe++ foliar	0,60	0,2120
SPAD	Amonio en suelo	0,74	0,0959

SPAD	Nitrato en suelo	0,78	0,0687
SPAD	N total en suelo	0,81	0,0509
SPAD	Fe en suelo	0,11	0,8353
SPAD	Carbonato total suelo	-0,20	0,7031
SPAD	Caliza activa en suelo	-0,20	0,6975
SPAD	N total foliar	-0,70	0,1244
SPAD	N-nitrico foliar	0,01	0,9788
SPAD	N-amoniaco foliar	-0,76	0,0822
SPAD	N met foliar	0,71	0,1125
SPAD	Fe ⁺⁺ foliar	0,20	0,6979
SPAD	pH suelo	-0,21	0,6921
Amonio en suelo	Largo Brote	0,33	0,5281
Nitrato en suelo	Largo Brote	-0,41	0,4247
N total en suelo	Largo Brote	-0,31	0,5518
Fe en suelo	Largo Brote	0,54	0,2698
Carbonato total suelo	Largo Brote	-0,82	0,0444
Caliza activa en suelo	Largo Brote	-0,65	0,1597
N total foliar	Largo Brote	-0,08	0,8745
N-nitrico foliar	Largo Brote	-0,79	0,0626
N-amoniaco foliar	Largo Brote	0,19	0,7175
N met foliar	Largo Brote	-0,09	0,8696
Fe ⁺⁺ foliar	Largo Brote	-0,95	0,0032
pH suelo	Largo Brote	-0,63	0,1785
SPAD	Largo Brote	-0,28	0,5903
Evapotranspiración	Conductancia estomática	0,81	<0,0001
Evapotranspiración	Fotosíntesis neta	0,90	<0,0001
Conductancia estomática	Fotosíntesis neta	0,82	<0,0001