

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ESCUELA DE AGRONOMÍA

MEMORIA DE TÍTULO

**DIAGNÓSTICO DE LA CLOROSIS FÉRRICA EN
DURAZNERO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE
HIERRO EN DISTINTOS TEJIDOS**

GRACIELA FELICIA VALDÉS NÚÑEZ

SANTIAGO – CHILE
2004

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA

DIAGNÓSTICO DE LA CLOROSIS FÉRRICA EN
DURAZNERO MEDIANTE EL ANÁLISIS DE
HIERRO EN DISTINTOS TEJIDOS

Memoria para optar al Título
Profesional de Ingeniero Agrónomo
Mención: Fruticultura

GRACIELA FELICIA VALDÉS NUÑEZ

PROFESOR GUÍA	Calificaciones
Sr. Bruno Razeto M. Ingeniero Agrónomo, M. S.	6,9
PROFESORES CONSEJEROS:	
Sr. Rodrigo Callejas R. Ingeniero Agrónomo, Dr. Sc. Agr.	6,8
Sr. Gabino Reginato M. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc.	6,8

SANTIAGO – CHILE
2004

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
Palabras clave.....	1
SUMMARY.....	2
Key words.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
Objetivos.....	4
MATERIALES Y MÉTODO.....	5
PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	8
Color y contenido de clorofila en la hoja.....	8
Contenido de hierro total y soluble en la hoja.....	11
Contenido de hierro total y soluble en el fruto.....	12
Contenido de hierro total y soluble en el brote.....	15
Tamaño y madurez del fruto.....	17
Producción de fruta.....	18
Fecha de cosecha	19
CONCLUSIONES.....	22
LITERATURA CITADA.....	23

RESUMEN

El presente ensayo se realizó la temporada 2003 – 2004, en una huerta de durazneros ubicado en un suelo con alto contenido de carbonato de calcio, en la Comuna de Talagante, Región Metropolitana. Se analizó la concentración de hierro, total y soluble en HCL, en materia seca de hoja, fruto y brote de la temporada, como posibles herramientas para diagnosticar clorosis férrica en duraznero. Para ello se muestrearon 12 árboles, con distinto grado de clorosis férrica: 4 árboles con clorosis severa, 4 árboles con clorosis de mediana intensidad y 4 árboles con follaje normal. En cada árbol, el 7 de enero de 2004, se colectaron 80 hojas con peciolo, 20 frutos y 12 brotes de la temporada. Además, en la hoja se midió contenido de clorofila en campo, con equipo SPAD, y color en la misma, con colorímetro triestímulo.

En cosecha se colectó 12 frutos por árbol, a los cuales se les midió peso, concentración de sólidos solubles y firmeza de pulpa. También, se midió el perímetro del tronco, para determinar el área de sección transversal del tronco, y la producción, tanto en kilos como en número de frutos.

El color de la hoja, en sus valores b^* y L^* , se mostraron muy relacionados con la concentración de clorofila en la misma ($R^2= 0,88$ y $0,87$, respectivamente). La concentración de hierro total y hierro soluble en la hoja no presentó relación con el nivel de clorosis en el árbol. En cambio, la concentración de hierro total en la pulpa del fruto fue mayor en los árboles sin clorosis y presentó una buena correlación con el contenido de clorofila en la hoja ($R^2=0,51$). A su vez, la concentración de hierro soluble en el brote también fue mayor en los árboles normales, encontrándose una alta relación entre la concentración de hierro soluble en el brote y el contenido de clorofila en la hoja ($R^2=0,83$). Adicionalmente, se encontró que la clorosis férrica causa una reducción en la producción por árbol y un retraso en la maduración del fruto.

Estos resultados permiten concluir, que la concentración de hierro total en la pulpa del fruto y la concentración de hierro soluble en HCL en el brote, al estado seco, se presentan como promisorios indicadores de la clorosis férrica y el nivel de abastecimiento de hierro en el árbol de duraznero.

Palabras clave: análisis químico, hoja, fruto, brote, hierro total, hierro soluble.

SUMMARY

The present trial was carried out during the 2003-2004 in a peach orchard located in a soil with high calcium carbonate content, at Talagante Commune, Metropolitan Region. The purpose was to analyse total iron and soluble iron in HCL concentration, on dry matter basis of leaf, fruit and shoot as possible tools to diagnose iron chlorosis in peach. Samples were obtained from 12 trees, with varying degrees of iron chlorosis: 4 trees with severe chlorosis, 4 trees with medium chlorosis, and 4 trees with normal foliage. On January 7, 2004, 80 leaves with petiole, 20 fruits and 12 shoots of the current season were collected from each tree. Moreover, the leaf chlorophyll content in the field was measured with a SPAD equipment and leaf color was determined with a tri-stimulus colorimeter.

At harvest time, 12 fruits per tree were collected to measure their weight, soluble solids concentration and pulp firmness. Also, the trunk perimeter was measured to determine the cross sectional area of the trunk and production, both in kilograms and in number of fruits.

Leaf color in its b^* and L^* values were found to be highly related to leaf chlorophyll concentration ($R^2 = 0.88$ and 0.87 , respectively). The concentrations of total iron and soluble iron in the leaf were not related to the chlorosis level in the tree. Conversely, the concentration of total iron in the fruit pulp was greater in the trees without chlorosis and presented a good correlation the leaf chlorophyll content ($R^2 = 0.51$). In turn, the concentration of soluble iron in shoots was also greater in the normal trees, with a high relationship being found between the concentration of soluble iron in the shoot and the leaf chlorophyll content ($R^2 = 0.83$). In addition, it was found that iron chlorosis causes a decreased production per tree and a delayed fruit maturation.

With these results it can be concluded that the concentration of total iron in the fruit pulp and that of soluble iron in HCL in the shoot (dry matter), appear as promising indicators of iron chlorosis and the iron level in the peach tree.

Key words: chemical analysis, leaf, fruit, shoot, total iron, soluble iron.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia de hierro es un problema nutricional que, por su sintomatología, también se denomina clorosis férrica. Afecta a numerosas especies frutales disminuyendo el rendimiento, la calidad y el tamaño de los frutos (Abadía *et al.*, 2000; Razeto, 1993; Sanz *et al.*, 1997). A igualdad de suelo, los durazneros resultan más afectados, comparativamente a perales, ciruelos y damascos (Ruíz *et al.*, 1984).

Los lugares donde habitualmente se presenta el problema corresponden a suelos de naturaleza calcárea, en todo el perfil o en alguna profundidad del perfil, texturas finas o con problemas de drenaje (Gatti, 1981). En durazneros, basta la presencia de CaCO_3 libre en el suelo a niveles del 1 o 2% para comenzar a generar problemas (Ruíz, 2000).

Romera *et al.* (1991), en un estudio realizado en duraznero, indican que el portainjerto Nemaguard es más susceptible a clorosis férrica inducida por bicarbonato que el híbrido GF677.

Los síntomas pueden presentarse en algunos árboles en forma aislada, o estar generalizados en todo el huerto, y se manifiestan como una amarillez o clorosis que comienza en las hojas nuevas sin incluir a las venas, que se mantienen como un reticulado verde. Por lo general, las hojas basales mantienen su coloración verde, pero en casos severos se presenta en todo el follaje, además de defoliación y muerte de ramillas (Razeto, 1993). La sintomatología descrita deriva, entre otras funciones, de la necesidad de hierro que la planta tiene para sintetizar la clorofila. Además, como el hierro es un elemento de muy baja movilidad en la planta, las hojas más afectadas son las nuevas (Razeto, 1984).

Una de las técnicas utilizadas para diagnosticar la deficiencia de hierro es la determinación de la concentración de hierro total en hojas, mediante análisis foliar. Sin embargo, en el caso de árboles frutales con deficiencia de hierro, esta herramienta no es útil, ya que las hojas cloróticas tienen, a menudo, altas concentraciones de hierro, que causan una mala correlación entre la concentración de clorofila y hierro foliar (Abadía *et al.*, 2000; Hurley *et al.*, 1986; Koseoglu, 1995). Este hecho puede ser explicado por una sobreestimación de la concentración de hierro en la hoja como consecuencia de una reducción en su tamaño. También, se relaciona al pH del apoplasto en la hoja que inactiva al hierro (Toselli *et al.*, 2000).

A su vez, Ruíz *et al.* (1980), en duraznero, señalaron que el análisis del contenido foliar de hierro total no guarda relación con el grado de clorosis férrica de las hojas que se pueda determinar por apreciación visual. Lucena (1997), reportó que una buena correlación fue encontrada en hojas de duraznero entre clorofila total y hierro activo, pero no para hierro total. Esto, según Terry y Abadía (1986), podría deberse a que la síntesis de clorofila se relaciona a una especial forma del hierro en la hoja,

llamado “hierro activo”. De esta forma, las hojas pueden presentar clorosis y, sin embargo, tener un alto contenido de hierro, ya que la cantidad de hierro activo sería sólo una fracción del hierro total de la hoja, determinado por el análisis foliar. Koseoglu y Acikgoz (1995), probaron tres métodos para extraer hierro activo en hojas de duraznero, donde la extracción con 1N HCL en hojas secas presentó la más alta correlación con el contenido de clorofila ($r = 0,93$), seguido por la extracción con O-fenantrolina al 1,5% y 1N HCL en hojas frescas, con un $r = 0,92$ y $0,82$ respectivamente.

Existen otras opciones distintas al análisis foliar para detectar la deficiencia de hierro, dentro de las cuales se encuentra el análisis de clorofila, en laboratorio. Ruíz *et al.* (1980), trabajando en duraznero, encontraron que el contenido de clorofila en la hoja descende consistentemente a medida que se acentúa el síntoma de deficiencia; sin embargo, este método es destructivo y laborioso. Un método no destructivo y rápido, para estimar clorofila foliar, es el uso de equipo Minolta SPAD 501 (Singha y Townsend, 1989), el cual determina la cantidad relativa de clorofila presente, midiendo la transmitancia de la hoja en dos regiones de longitud de onda (600-700 nm y 400-500 nm). Yadava (1986), encontró que en hojas de duraznero existe una buena correlación entre las lecturas del SPAD y la concentración de clorofila determinada con técnicas convencionales. A su vez, la relación entre clorofila y hierro activo en la hoja sugiere que este aparato es adecuado para cuantificar la severidad de la clorosis férrica (Peryea y Kammereck, 1997). Sin embargo, la concentración de clorofila en las hojas también es afectada por otros nutrientes, como el nitrógeno, magnesio y manganeso, lo cual resta confiabilidad a esta herramienta de diagnóstico (Porro *et al.*, 2001; Turner y Jund, 1991).

Junto al análisis foliar y de clorofila, se encuentra en desarrollo la técnica del análisis de frutos. Al respecto, Palacios (2003), en palto, obtuvo una alta relación ($R^2=0,67$) entre la concentración de hierro en la pulpa y el nivel de clorofila en la hoja.

Con relación al análisis de madera, Silva y Rodríguez (1995), indican que, en la vid, el análisis del contenido de N-total y/o arginina del sarmiento (sector entre el 4° y 5° nudo) ha demostrado ser un indicador útil de las reservas nitrogenadas. Shelton y Zeger (1970), citado por Lucena (1997), señalan que la composición de la madera ha sido relacionada al desorden mineral en la fruta.

En consideración a todos estos antecedentes, se realizó la presente investigación, cuyos objetivos fueron:

- Evaluar el análisis de hierro total y hierro activo, en hoja, brote de la temporada y fruto, como herramientas indicadoras de la clorosis férrica en duraznero.
- Determinar el efecto de la clorosis férrica en el tamaño y madurez del fruto.

MATERIALES Y MÉTODO

Esta investigación se realizó entre el año 2003 y 2004 en una huerta de nectarinas, variedad August Red, ubicada en el Fundo Las Rosas, Comuna de Talagante, Región Metropolitana (33°; 40' de latitud sur y los 70°; 50' de longitud oeste). La huerta fue plantada en el año 1995, sobre portainjerto Nemaguard, a una distancia de $7 \times 3,5$ m; el riego es por surcos, con agua proveniente del canal Varela, Río Mapocho.

Se realizó un análisis de suelo entre 0 – 50 cm de profundidad y una calicata en la huerta, por separado en los sectores donde se encontraban árboles con clorosis y árboles normales. Los resultados indicaron que el suelo, en el sector con árboles cloróticos, corresponde a una textura franco-arcillosa y color café oscuro en la superficie; a mayor profundidad el color cambia a café más claro, con un alto contenido de CaCO_3 (24%), un pH 8,0, y moteados negros que indicarían alta humedad en el suelo. Estos factores, junto a una alta concentración de bicarbonato ($5,05 \text{ meq} \cdot \text{L}^{-1}$) en el agua de riego, probablemente, sean la causa de la clorosis férrica en el huerto. En el sector con árboles verdes, el suelo es de textura franca, color café oscuro parejo y ausencia de moteados; a los 55 cm de profundidad comienza un subsuelo de ripio que permite un buen drenaje. En este sector el contenido de CaCO_3 es de 1,4%.

En la huerta, muchos árboles estaban afectados con distinto grado de clorosis férrica, la cual se determinó por los síntomas característicos (amarillez intervenal que afecta principalmente a las hojas nuevas) y se confirmó mediante la aplicación de quelato Fe-EDDHA al suelo, en los surcos de riego, en tres árboles cloróticos contiguos al ensayo. La dosis fue de 500 g por árbol. Dos semanas después de la aplicación, realizada el día 11 de noviembre de 2003, los árboles tratados presentaban su follaje totalmente verde, mientras que los demás árboles cloróticos continuaban en su condición.

El 7 de enero de 2004 se tomaron muestras de 12 árboles con distinto grado de clorosis férrica (en base a apreciación visual): cuatro severamente cloróticos, cuatro moderadamente cloróticos y cuatro con su follaje verde (normal). Cada muestra estuvo constituida por 80 hojas con pecíolo, del tercio medio de brotes de la temporada; 20 frutos; y 12 brotes de la temporada, las cuales fueron puestas en bolsas plásticas y transportadas en envase refrigerado al Laboratorio de Análisis Foliar de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile.

El mismo día de la recolección de muestras se midió concentración de clorofila, en el campo, con equipo SPAD, marca Opti - Sciences, modelo CCM –200, a 15 hojas por cada árbol. Para construir la curva de calibración se obtuvo de cada árbol un disco de hoja (sin incluir la nervadura), con un sacabocado de 9 mm de diámetro, los cuales fueron medidos con equipo SPAD y luego fueron puestos en bolsas plásticas y transportadas en envase refrigerado al Laboratorio de Bioquímica de la Facultad, donde

se almacenaron por 43 días a -80°C . Posteriormente, se analizaron mediante el método de Lichtenthaler y Wellburn (1983), modificado, donde cada muestra fue molida en un mortero de porcelana, con adición de etanol más cuarzo, y mantenida en frío dentro de un recipiente con hielo en una cámara oscura. Luego de centrifugar por 5 minutos se midió, en el sobrenadante, absorbencia a 665 y 649 nm (clorofila *a* y *b* respectivamente), en un espectrofotómetro marca Shimadzu UV-1601. Después de realizar la curva de calibración, todos los valores del SPAD fueron convertidos a concentración de clorofila por unidad de área foliar ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$).

El 8 de enero de 2004 se midió color en 15 hojas por cada muestra, mediante colorímetro triestímulo marca Minolta, modelo CR 200 b.

Por otro lado, se determinó concentración de hierro total en las muestras de hoja, brote de la temporada y fruto. Las muestras de hoja y brote fueron lavadas con agua destilada y luego con agua bidestilada; posteriormente, fueron secadas en bolsas de papel, en una estufa, con circulación forzada de aire a 70°C , por 36 horas.

Para el análisis de fruto se obtuvieron trozos de pulpa, sin piel, desde cada muestra, los que luego fueron secados en estufa, con circulación forzada de aire a 70°C , por 60 horas. Todas las muestras fueron molidas en un molinillo de acero y almacenadas en una desecadora de vidrio. El contenido de hierro total se determinó por el método convencional de calcinación, en horno mufla a 520°C por 15 horas, extracción con ácido clorhídrico, y determinación por absorción atómica con un espectrofotómetro marca GBC, modelo 905AA.

Además, se midió la concentración de hierro activo en hoja, brote y fruto, de acuerdo al método utilizado por Koseoglu y Acikgoz (1995). Para ello se usó 2g de materia seca, la cual fue agitada con 25 mL de ácido clorhídrico 1N, por 4 horas. Luego de centrifugar por 30 minutos, la fase líquida fue filtrada y aforada con agua destilada a 25 mL y se analizó mediante absorción atómica, con un espectrofotómetro marca GBC, modelo 905AA.

La cosecha se realizó en forma escalonada, desde el día 2 de febrero hasta el día 13 de febrero de 2004, a medida que la fruta iba adquiriendo madurez para exportación. En la primera cosecha, realizada el día 2 de febrero, se evaluó tamaño y madurez de la fruta en 12 frutos representativos por árbol, los cuales fueron puestos en bolsas plásticas y transportados en envase refrigerado. A cada fruto se le determinó su peso, en una balanza eléctrica, el % de sólidos solubles, con un refractómetro termocompensado, y la firmeza de la pulpa, con un penetrómetro con émbolo 5/16" de diámetro.

Se determinó la producción total de cada árbol, tanto en kilos de fruta cosechada, como en número de frutos obtenidos. Se midió el perímetro del tronco sobre la unión patrón-injerto, con huincha de medir, calculándose el área de sección transversal de tronco (ASTT).

El diseño experimental fue totalmente al azar, con 4 repeticiones por cada nivel de clorosis. La unidad experimental correspondió a un árbol. Para el análisis estadístico se utilizaron los programas estadísticos Minitab y Sigma stat.

Los resultados fueron analizados mediante análisis de varianza (ANDEVA) y covarianza, más pruebas de comparación múltiple de Duncan. Adicionalmente, se realizó análisis de regresión entre las diferentes variables estudiadas.

PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Color y contenido de clorofila en la hoja

En el Cuadro 1 se presenta el color de las hojas medido con colorímetro triestímulo, en sus tres valores (L^* , a^* y b^*), donde un valor L^* mayor indica tendencia al color blanco, un valor a^* más negativo representa un color más verde y un valor b^* más positivo tendencia hacia el amarillo (Singha y Townsend, 1989; Voss, 1992). En él, se puede observar que los valores L^* , a^* y b^* presentaron diferencias significativas entre grupos de árboles. Sin embargo, el valor a^* no se relacionó con el grado de clorosis férrica, ya que el valor a^* , con un nivel de clorosis medio, fue más negativo que el grupo de árboles normales. Por otro lado, el valor b^* fue aquel con mayores diferencias entre los tres niveles de clorosis, lo cual lo indica como el parámetro de color más adecuado para diferenciar hojas afectadas con clorosis férrica, al menos en duraznero.

Cuadro 1. Color y contenido de clorofila total de las hojas según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero.

Nivel de clorosis	Color			Clorofila ($\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$)
	L^*	a^*	b^*	
Severo	59,3 a	-10,5 a	47,1 a	28,7 c
Medio	51,5 b	-14,1 c	35,6 b	49,4 b
Ausente	41,7 c	-12,5 b	20,3 c	163,7 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

La concentración de clorofila, medida en campo con equipo SPAD, presentó diferencias significativas entre los tres niveles de clorosis (Cuadro 1), lo cual coincide con los resultados obtenidos por Peryea y Kammereck (1997), en peral. Ellos señalan que la determinación indirecta del nivel de clorofila en la hoja, con equipo SPAD, es una buena opción para cuantificar la clorosis férrica. Sin embargo, es importante considerar que las deficiencias de otros nutrientes también influyen en las lecturas del SPAD. Por ejemplo, la de fósforo, zinc o manganeso, en arroz (Turner y Jund, 1991), y la de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio en hojas de vid y manzano (Porro *et al.*, 2001).

Se detectó una alta relación entre las lecturas del SPAD y la concentración de clorofila medida en laboratorio con método Lichtenthaler y Wellburn (1983), modificado, presentándose un $R^2 = 0,92$ (Figura 1). Este resultado concuerda con lo obtenido por Yadava (1986), en duraznero, quien encontró una alta correlación entre concentración de clorofila en la hoja y las lecturas del SPAD. Así, la concentración de clorofila en la hoja, medida en campo con equipo SPAD, aparece como un buen indicador del nivel de clorosis férrica en el árbol de duraznero.

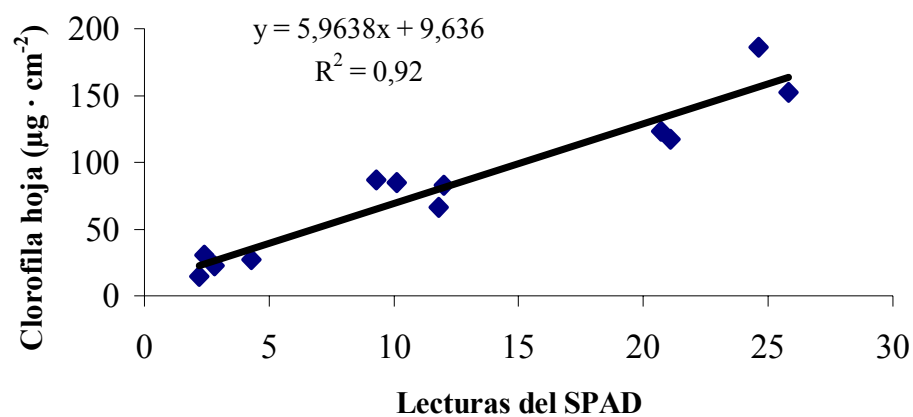


Figura 1. Relación entre lecturas del SPAD y concentración de clorofila en la hoja de duraznero.

Además, el color de la hoja se presentó muy relacionado con la concentración de clorofila en la misma, con un $R^2 = 0,88$, para el valor b^* ; y $0,87$ para L^* (figuras 2 y 3). Estos resultados confirman lo obtenido por Palacios (2003), quien sostiene que el color de la hoja, medido con colorímetro triestímulo, especialmente el valor b^* , es un buen indicador de la clorosis férrica en el árbol de palto. Así, el color de las hojas en sus valores b^* y L^* serían representativos del grado de clorosis férrica en el árbol de duraznero.

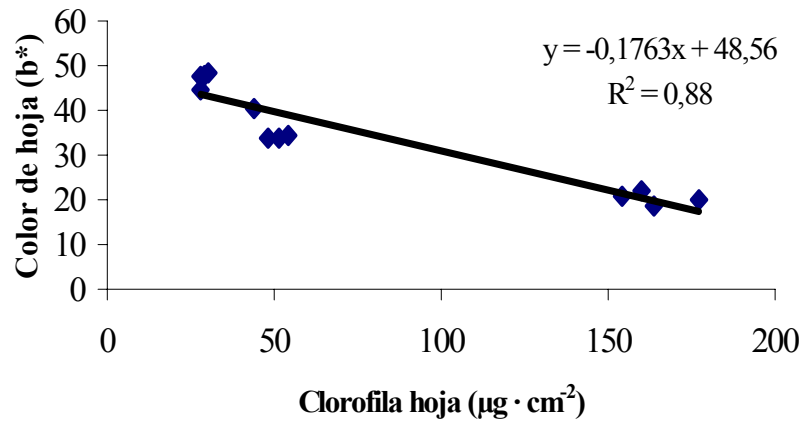


Figura 2. Relación entre concentración de clorofila y valor b* de color en la hoja de duraznero.

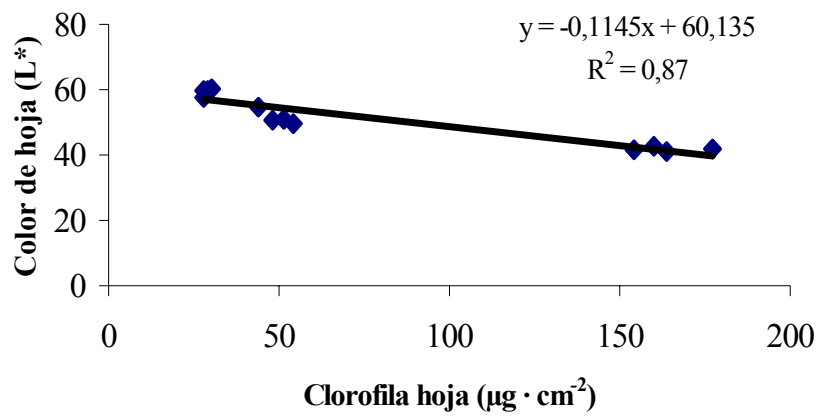


Figura 3. Relación entre concentración de clorofila y valor L* de color en la hoja de duraznero.

Concentración de hierro total y hierro soluble en la hoja

La concentración de hierro total en la hoja fue mayor a medida que se intensifica el grado de clorosis (Cuadro 2). Incluso se detectó diferencia significativa entre árboles severamente cloróticos y los otros grupos de árboles, confirmándose lo obtenido por otros autores (Morales *et al.*, 1998; Römheld, 2000; Palacios, 2003), quienes señalan que las hojas cloróticas tienen a menudo una mayor concentración de hierro (base peso seco) que las hojas verdes.

Cuadro 2. Concentración en la hoja de hierro total y hierro soluble extraído con HCL, según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero. Base peso seco.

Nivel de clorosis	Hierro total	Hierro soluble	Proporción de hierro soluble
	(mg · kg ⁻¹)	(mg · kg ⁻¹)	(%)
Severo	127,75 a	10,40 b	8,17 b
Medio	97,25 b	7,25 c	8,00 b
Ausente	95,00 b	12,40 a	13,05 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

Por su parte, la concentración de hierro soluble mostró diferencia significativa entre los distintos niveles de clorosis (Cuadro 2). Sin embargo, en los dos grupos de árboles cloróticos la concentración de hierro soluble en la hoja no se relaciona directamente con el grado de clorosis, ya que con un nivel severo de clorosis se encontró mayor concentración de hierro soluble que con un nivel medio de clorosis. No obstante lo anterior, el grupo de árboles sanos se diferenció de los cloróticos con una mayor concentración de hierro soluble en la hoja. Estos resultados no coinciden con lo obtenido por otros autores (Koseoglu y Acikgoz, 1995; Gezgin y Er, 2001), quienes trabajando en duraznero y vid, respectivamente, encontraron que el contenido de hierro soluble en las hojas disminuye, significativamente, con el incremento del nivel de clorosis, indicando que el contenido de hierro soluble es un parámetro confiable para evaluar el estado del hierro en duraznero y vid. A su vez, Oserkowsky (1933), citado por Lang y Reed (1987), concluyó que la fracción de hierro extraída con 1N HCL en material foliar seco, indica mejor el estado del hierro en la planta que el contenido de hierro total.

Por otro lado, el valor absoluto del hierro soluble extraído con 1N HCL, en los distintos niveles de clorosis, en ningún caso se aproximó a los niveles críticos señalados por Ruiz *et al.*, (1993), citado por Lemus (1993), para hojas de duraznero severamente cloróticas, medianamente cloróticas y verdes ($<45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; $45\text{-}57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; y $>70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectivamente), probablemente debido a diferentes sistemas de extracción. En efecto, ellos extraen desde tejido fresco, mientras que el método empleado en la presente investigación utilizó tejido seco.

Además, interesante resulta destacar que, si bien las hojas verdes presentaron un menor contenido de hierro total que las hojas severamente cloróticas, un mayor porcentaje de éste corresponde a hierro soluble. De hecho, la proporción de hierro soluble en estas hojas fue significativamente mayor que en las cloróticas (Cuadro 2). Estos resultados son similares a los obtenidos por Koseoglu (1995), quien, en hojas cloróticas de duraznero, encontró mayor concentración de hierro total y un porcentaje más bajo de hierro soluble en HCL comparando con hojas verdes. Al respecto Lucena (1997), señala que sólo la fracción de hierro soluble, también denominada hierro activo, es usada en procesos metabólicos; por lo tanto, el problema no radica en la cantidad, sino en la funcionalidad de este elemento en la planta. Terry y Abadía (1986), indican que las hojas pueden presentar clorosis y, sin embargo, tener un alto contenido de hierro, ya que la cantidad de hierro activo sería sólo una fracción del hierro total de la hoja.

Concentración de hierro total y hierro soluble en el fruto

La concentración de hierro total en la pulpa del fruto fue estadísticamente igual en los árboles cloróticos, y menor que el encontrado en los árboles sanos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Concentración en la pulpa del fruto de hierro total y hierro soluble extraído con HCL, según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero. Base peso seco.

Nivel de clorosis	Hierro total	Hierro soluble	Proporción de hierro soluble
	($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	(%)
Severo	10,75 b	2,01 a	18,82 a
Medio	13,00 ab	3,27 a	22,97 a
Ausente	17,25 a	3,25 a	18,67 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

Al relacionar la concentración de hierro total del fruto y la concentración de clorofila en la hoja se obtuvo un $R^2 = 0,51$ (Figura 4). Estos resultados coinciden con lo obtenido por Palacios (2003), quien, además de encontrar diferencias significativas entre árboles sanos y cloróticos, obtuvo una alta correlación lineal ($R^2 = 0,67$) entre la concentración de hierro total en la pulpa del fruto y la concentración de clorofila en la hoja, señalando al fruto como un tejido promisorio para indicar el nivel de clorosis férrica en el palto.

También, fue posible encontrar relación entre la concentración de hierro total y de sólidos solubles ($R^2 = 0,65$) y entre concentración de hierro total y kilos de fruta cosechada por árbol ($R^2 = 0,73$) (figuras 5 y 6).

En consideración a los resultados expuestos, el análisis de hierro total en la pulpa del fruto aparece como una herramienta interesante y más certera que el tradicional análisis foliar para diagnosticar el nivel de hierro en el árbol de duraznero. El nivel crítico, bajo el cual se presentaría clorosis férrica en el duraznero, se encontraría alrededor de $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ en la pulpa del fruto. Esta cifra es algo mayor a la que postula Palacios (2003), en palto (aproximadamente $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$).

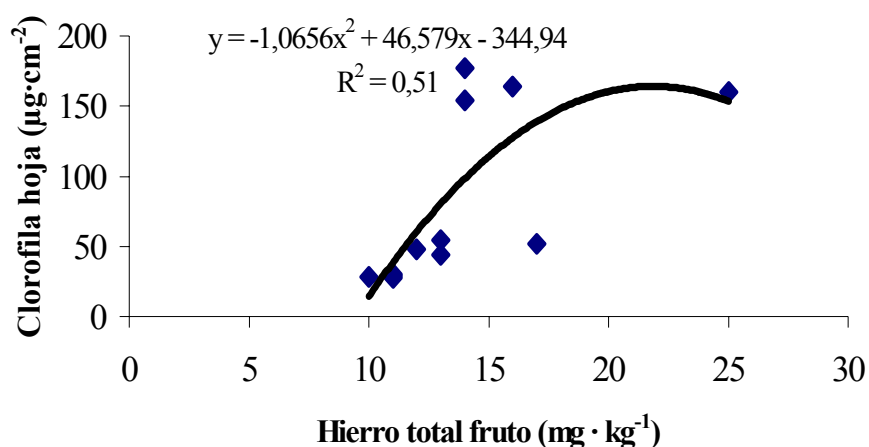


Figura 4. Relación entre la concentración de hierro total en la pulpa del fruto y la concentración de clorofila en la hoja de duraznero.

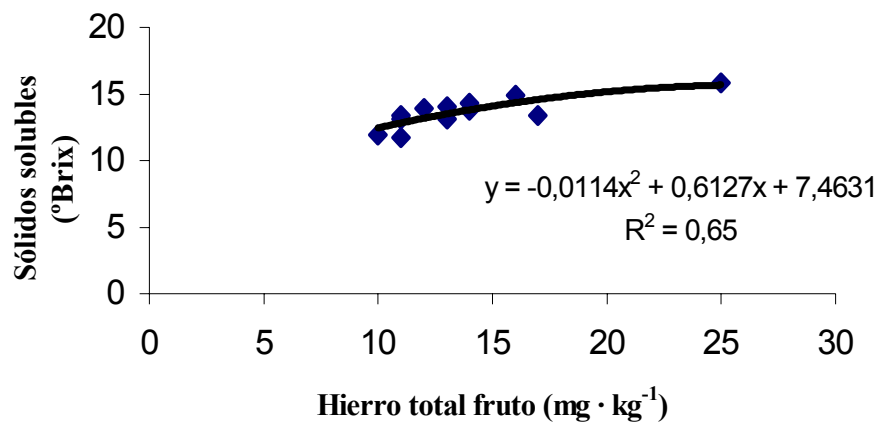


Figura 5. Relación entre la concentración de hierro total en la pulpa del fruto y el contenido de sólidos solubles en el fruto de duraznero.

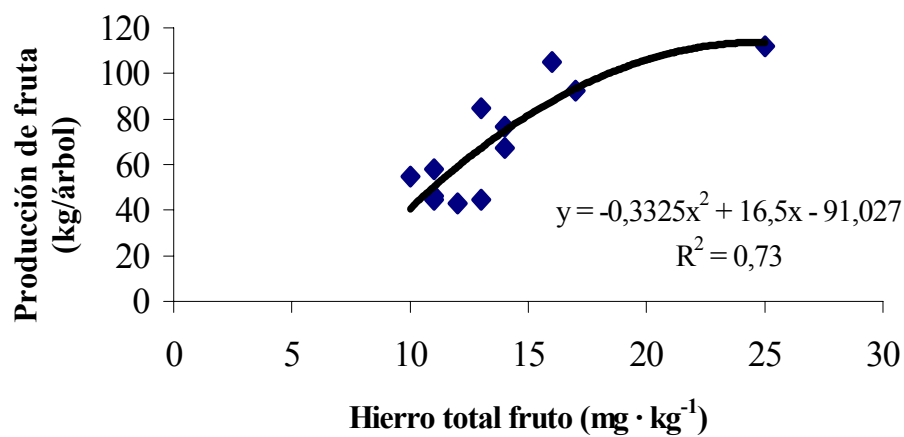


Figura 6. Relación entre la concentración de hierro total en la pulpa del fruto y la producción del árbol de duraznero.

En tanto, la concentración de hierro soluble en el fruto no presentó diferencias significativas entre los distintos grupos de árboles, y tampoco presentó una buena correlación con el nivel de clorofila en la hoja ($R^2= 0,38$). Incluso, se puede observar que los frutos de los árboles normales tuvieron menor porcentaje de hierro soluble que los árboles cloróticos, descartándolo como un parámetro indicador de la clorosis férrica en el árbol de duraznero.

Concentración de hierro total y hierro soluble en el brote

La concentración de hierro total en el brote no presentó diferencia significativa entre los árboles (Cuadro 4), ni tampoco tuvo relación con el nivel de clorofila en la hoja ($R^2= 0,002$). Por lo tanto se descarta el análisis de hierro total en este tejido como indicador de clorosis férrica en duraznero.

Cuadro 4. Concentración en el brote de hierro total y hierro soluble extraído con HCL, según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero. Base peso seco.

Nivel de clorosis	Hierro total	Hierro soluble	Proporción de Hierro soluble
	(mg · kg ⁻¹)	(mg · kg ⁻¹)	(%)
Severo	27,00 a	6,50 b	24,50 b
Medio	23,75 a	6,90 b	29,37 ab
Ausente	26,00 a	8,55 a	32,92 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

Por el contrario, se detectaron diferencias significativas entre árboles normales y cloróticos en cuanto a su concentración de hierro soluble, siendo ésta mayor en los primeros (Cuadro 4). A su vez, la concentración de hierro soluble en el brote presentó una alta asociación ($R^2= 0,83$) con el contenido de clorofila en la hoja (Figura 7). Otra relación interesante ($R^2= 0,62$) se obtuvo entre la concentración de hierro soluble en el brote y el contenido de sólidos solubles en el fruto a cosecha (Figura 8).

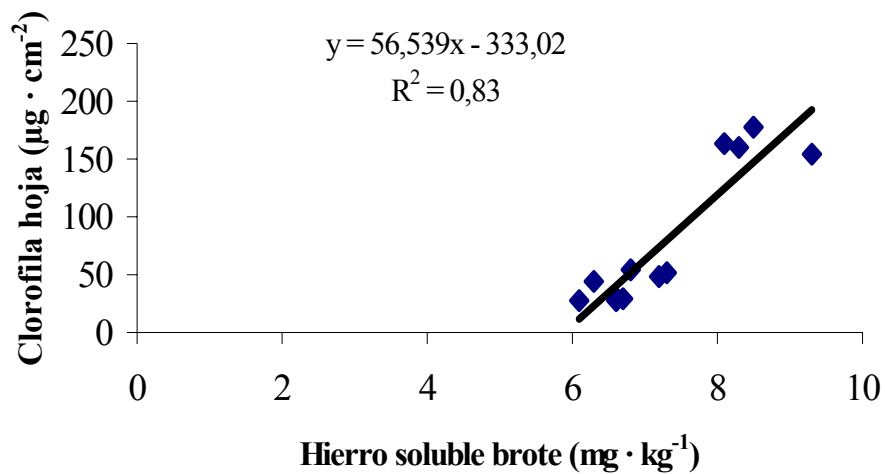


Figura 7. Relación entre la concentración de hierro soluble en el brote y el contenido de clorofila en la hoja de duraznero.

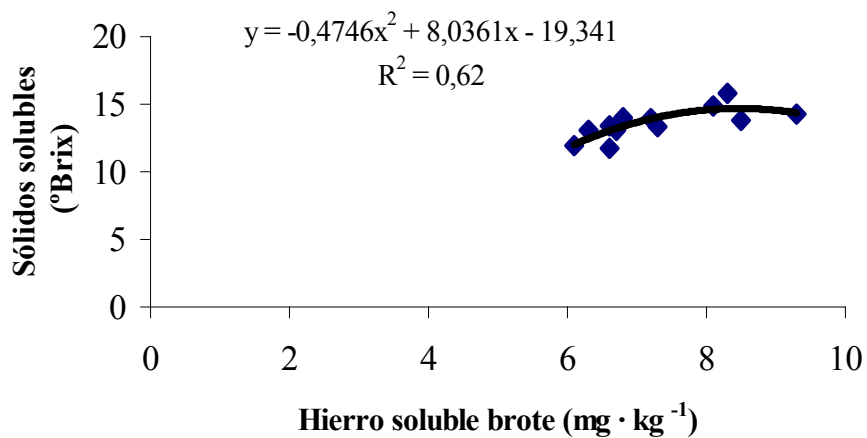


Figura 8. Relación entre la concentración de hierro soluble en el brote y el contenido de sólidos solubles del fruto en duraznero.

Estos resultados indican que la concentración de hierro soluble en HCL en el brote estaría directamente relacionada con el contenido de clorofila en la hoja y con el contenido de sólidos solubles del fruto, por lo que es posible señalar que la determinación de hierro soluble en HCL en brote, sería una alternativa interesante para diagnosticar la presencia del problema en duraznero.

De acuerdo al Cuadro 4 y Figura 8, el nivel crítico de hierro soluble en el brote se ubicaría cerca de los $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, aunque es necesario realizar este análisis en distintos huertos y en un mayor número de árboles afectados por clorosis férrica para determinar un valor estándar.

En general, se puede sostener que, en forma independiente al nivel de clorosis, la proporción de hierro soluble con relación al hierro total fue mayor en el brote, seguido por el fruto y luego la hoja, lo cual avala al brote como tejido indicador de la clorosis férrica.

Además, es importante destacar que, la extracción del hierro soluble en HCL, utilizada en este ensayo, se realizó empleando tejido seco, lo cual difiere totalmente del método habitual, que emplea tejido verde y recién colectado. El uso de tejido seco facilita y simplifica el proceso de análisis, lo cual hace más factible el empleo del hierro soluble como herramienta de diagnóstico de la clorosis férrica, en este caso utilizando brotes.

Tamaño y madurez del fruto

El efecto de la clorosis férrica sobre la calidad y madurez del fruto se presenta en el Cuadro 5. Se puede apreciar que un nivel severo de clorosis férrica influyó negativamente en el peso del fruto.

El contenido de sólidos solubles que presentaron los árboles cloróticos fue estadísticamente igual entre sí, y menor que el obtenido en árboles normales, aunque este último no se diferenció del nivel de clorosis media.

En cuanto a firmeza de la pulpa, no se detectó un efecto de la clorosis férrica, ya que no existieron diferencias significativas entre los distintos grupos de árboles.

La reducción en el tamaño de los frutos, y la menor cantidad de sólidos solubles, coincide con los resultados obtenidos en investigaciones anteriores en duraznero (Razeto y Rojas, 1977; Sanz *et al.*, 1997) quienes, además, señalan que la clorosis férrica afecta el rendimiento, calidad y tamaño del fruto, como consecuencia de la menor capacidad fotosintética del follaje, pobre en clorofila.

Cuadro 5. Peso del fruto, firmeza de la pulpa y contenido de sólidos solubles, en una muestra de 12 frutos, según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero.

Nivel de clorosis	Peso fruto (g)	Firmeza pulpa (kg)	Sólidos solubles (°Brix)
Severo	161,1 b	10,2 a	12,5 b
Medio	226,5 a	11,2 a	13,6 ab
Ausente	223,4 a	9,4 a	14,6 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

Producción de fruta

La producción, en kg/árbol, fue mayor en los árboles normales que en los cloróticos (Cuadro 6), lo cual confirma el efecto negativo de la clorosis férrica sobre la producción de fruta en el duraznero (Abadía *et al.*, 2000; Razeto, 1993; Sanz *et al.*, 1997).

El peso promedio del fruto fue menor en los árboles severamente cloróticos, incluso al eliminar el efecto de la carga frutal (N° frutos/cm² ASTT) sobre esta variable, mediante un análisis de covarianza (Cuadro 6).

Cuadro 6. Producción por árbol y peso promedio del fruto, según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero.

Nivel de clorosis	Producción kg/árbol	Carga frutal Nº fr/árbol	Productividad kg/cm ² ASTT	Carga frutal Nº fr/cm ² ASTT	Peso fruto (g)
Severo	50,9 b	313,0 a	0,42 a	2,63 a	175,6 b
Medio	66,1 ab	298,8 a	0,39 a	1,77 b	214,6 a
Ausente	90,2 a	407,5 a	0,37 a	1,72 b	221,6 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

Fecha de cosecha

En lo referente a evolución de la cosecha, según el Cuadro 7 y las figuras 9, 10 y 11; una condición de clorosis férrica atrasaría la cosecha. También es posible aseverar que la cosecha en los árboles cloróticos fue más larga comparada con la de árboles sanos, cuya cosecha fue más concentrada; el día medio de cosecha fue aproximadamente de 8,1 en los árboles cloróticos, y 6,8 en los sanos.

Cuadro 7. Día medio de cosecha, según el nivel de clorosis férrica en árboles de duraznero.

Nivel de clorosis	Día medio cosecha (*)
Severo	8,1 a
Medio	8,2 a
Ausente	6,8 b

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, $p \leq 0,05$.

(*): Variable sometida al test Student-Newman-Keuls (SNK).

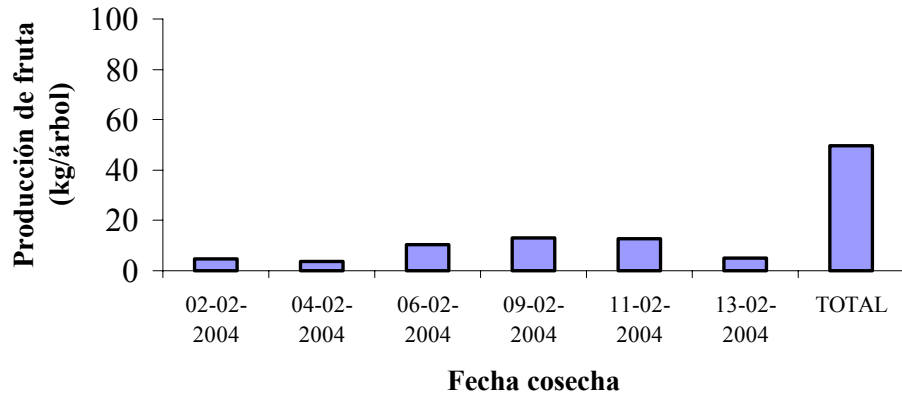


Figura 9. Cosecha de fruta según fecha y cosecha total en árboles de duraznero con clorosis férrica severa.

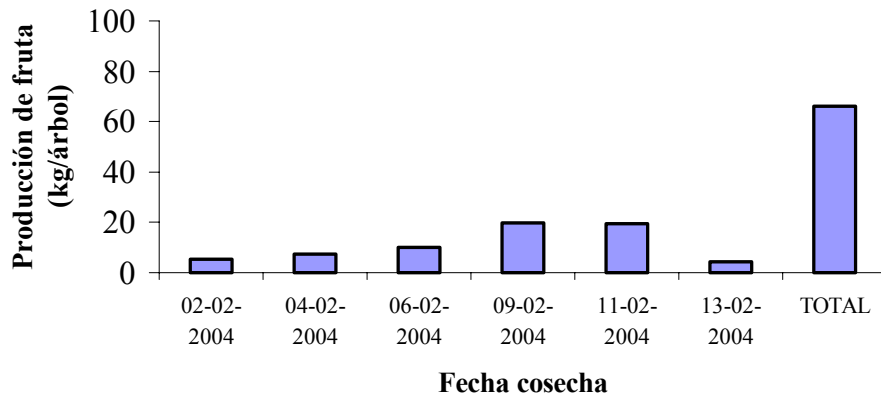


Figura 10. Cosecha de fruta según fecha y cosecha total en árboles de duraznero con clorosis férrica media.

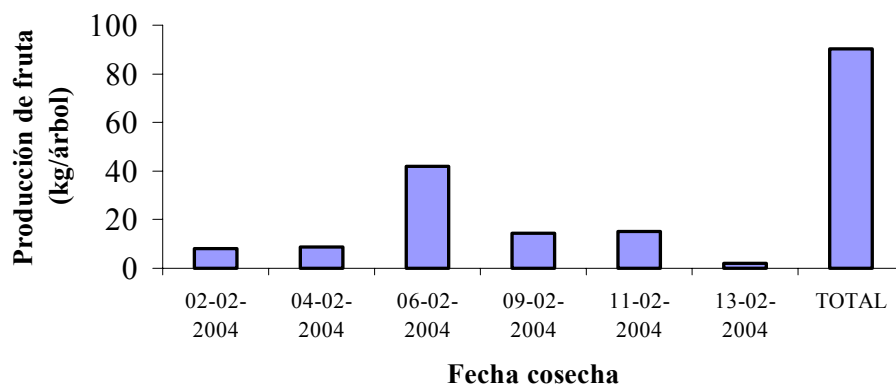


Figura 11. Cosecha de fruta según fecha y cosecha total en árboles de duraznero sin clorosis férrica.

CONCLUSIONES

- El color de la hoja, en sus valores b^* y L^* medido con colorímetro triestímulo, es indicativo del grado de clorosis férrica en el árbol de duraznero.
- La concentración de clorofila en la hoja, medida con equipo SPAD, es un buen indicador del nivel de clorosis férrica en el árbol de duraznero.
- La concentración de hierro total en la pulpa del fruto aparece como un indicador de la clorosis férrica en duraznero.
- La concentración de hierro soluble en HCL en el brote, al estado seco, es un indicador de la clorosis férrica en el árbol de duraznero.
- El hierro total y hierro soluble en HCL en la hoja, al estado seco, no tiene relación con el grado de clorosis férrica.
- La clorosis férrica causa una disminución en la producción de fruta en kg/árbol y retraso en su maduración.

LITERATURA CITADA

ABADÍA, J., M. TAGLIAVINI, R. GRASA, R. BELKHODJA, A. ABADÍA, M. SANZ, E. ARAUJO, C. TSIPOURIDIS and B. MARANGONI. 2000. Using the flower Fe concentration for estimating chlorosis status in fruit tree orchards: a summary report. *Journal of Plant Nutrition* 23 (11-12): 2023 - 2033.

GATTI, R. 1981. Clorosis férrica en frutales. *El campesino (Chile)* 112 (5): 35 - 41.

GEZGIN, S. and F. ER. 2001. Relationship between total and active iron contents of leaves and observed chlorosis in vineyards in Konya- Hadmalada region of Turkey. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 32 (9-10) : 1513 – 1521.

HURLEY, A., R. WALSER, T. DAVIS, and D. BARNEY. 1986. Net photosynthesis, chlorophyll, and foliar iron in apple trees after injection with ferrous sulfate. *HortScience* 21(4): 1029 – 1031.

KOSEOGLU, A. 1995. Effect of iron chlorosis on mineral composition of peach leaves. *Journal of Plant Nutrition* 18(4): 765 – 776.

KOSEOGLU, A. and V. ACIKGOZ. 1995. Determination of iron chlorosis with extractable iron analysis in peach leaves. *Journal of Plant Nutrition* 18 (1): 153 -161.

LANG, H. and D. REED. 1987. Comparison of HCL extraction versus total iron analysis for iron tissue analysis. *Journal of Plant Nutrition* 10(7): 795 – 804.

LEMUS, G. 1993. *El duraznero en Chile*. INIA (Instituto de Investigaciones Agropecuarias), Santiago, Chile. 332p.

LICHTENTHALER, H. and A. WELLBURN. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll *a* and *b* of leaf extract in different solvents. *Biochemical Society transaction* 603: 591 – 592.

LUCENA, J. 1997. Methods of diagnosis of mineral nutrition of plants: a critical review. *Acta Horticulturae* 448: 179 - 192.

MORALES, F., R. GRASA, A. ABADIA, and J. ABADIA. 1998. Iron chlorosis paradox in fruit trees. *Journal of Plant Nutrition* 21 (4): 815 – 825.

PALACIOS, J. 2003. Clorosis férrica y su relación con el nivel de clorofila y hierro en diferentes órganos en palto (*Persea americana* Mill.). Memoria Ing. Agr. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 20p.

- PERYEA, F. and R. KAMMERECK. 1997. Use of Minolta SPAD-502 chlorophyll meter to quantify the effectiveness of mid-summer trunk injection of iron on chlorotic pear trees. *Journal of Plant Nutrition* 20 (11): 1457 – 1463.
- PORRO, D., C. DORIGATTI, M. STEFANINI, and A. CESCHINI. 2001. Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. *Acta Horticulturae* 564: 243 - 252.
- RAZETO, B. y S. ROJAS. 1977. Tratamientos correctivos de la clorosis férrica en duraznero. *Investigación Agrícola (Chile)* 3 (1): 17 – 22.
- RAZETO, B. 1984. Deficiencia de hierro en frutales. *Aconex (Chile)* 8: 36 - 39.
- RAZETO, B. 1993. La nutrición mineral de los frutales. Deficiencias y excesos. SOQUIMICH, Chile. 105 p.
- ROMERA, F., E. ALCÁNTARA, and M. de la GUARDIA. 1991. Characterization of the tolerance to iron chlorosis in different peach rootstocks grown in nutrient solution. I. Effect of bicarbonate and phosphate. *Plant and Soil* 130 (1-2): 115 –119.
- 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.
- RUÍZ, R., M. HELLE, y R. ESPINOZA. 1980. Análisis de clorofila como índice indirecto de clorosis férrica en nectarinos. *Agricultura Técnica (Chile)* 40 (4): 161 - 163.
- RUÍZ, R., C. SOTOMAYOR, y G. LEMUS. 1984. Corrección de clorosis férrica en nectarinos y efecto residual. *Agricultura Técnica (Chile)* 44 (4): 305 – 309.
- RUÍZ, R. 2000. Uva de mesa en Chile. Nutrición mineral. INIA (Instituto de investigación agropecuaria), Santiago, Chile. 338p.
- SANZ, M., J. PASCUAL, and J. MACHÍN. 1997. Prognosis and correction of iron chlorosis in peach trees: influence on fruit quality. *Journal of Plant Nutrition* 20 (11): 1567 – 1572.
- SILVA, H. y J. RODRÍGUEZ. 1995. Fertilización de plantaciones frutales. Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago. 519p.
- SINGHA, S. and E. TOWNSEND. 1989. Relationship between chromaticity values and chlorophyll concentration in apple, grape and peach leaves. *HortScience* 24 (6): 1034.
- TERRY, N. and J. ABADÍA. 1986. Function of iron in chloroplast. *Journal of Plant Nutrition* 9 (3-7): 609 – 646.

TOSELLI, M., B. MARANGONI, and M. TAGLIAVINI. 2000. Iron content in vegetative and reproductive organs of nectarine trees in calcareous soils during the development of chlorosis. *European Journal of Agronomy* 13 (4): 279 – 286.

TURNER, F. and M. JUND. 1991. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semidwarf rice. *Agronomy Journal* 83: 926 – 928.

VOSS, D. 1992. Relating colorimeter measurement of plant color to the royal horticultural society color chart. *HortScience* 27 (12): 1252 – 1260.

YADAVA, U. 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 21 (6): 1449 – 1450.