



**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**

**EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE PARA  
CORREGIR EL DÉFICIT DE HIERRO EN ARÁNDANO (*Vaccinium  
corymbosum* L.) ‘EMERALD’ E IMPLICANCIAS EN VARIABLES  
VEGETATIVAS, REPRODUCTIVAS Y FISIOLÓGICAS ASOCIADAS**

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

**LUCÍA MICHEL GÓMEZ**

Director de Tesis  
JOSÉ IGNACIO COVARRUBIAS PEÑA

Profesores consejeros  
NICOLÁS FRANCK BERGER  
MARÍA CECILIA PEPPI

SANTIAGO - CHILE  
2016

**UNIVERSIDAD DE CHILE**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**ESCUELA DE POSTGRADO**

**EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE PARA CORREGIR  
EL DÉFICIT DE HIERRO EN ARÁNDANO (*Vaccinium corymbosum* L.) ‘EMERALD’  
E IMPLICANCIAS EN VARIABLES VEGETATIVAS, REPRODUCTIVAS  
Y FISIOLÓGICAS ASOCIADAS**

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

**LUCÍA MICHEL GÓMEZ**

	Calificaciones	Firma
<b>DIRECTOR DE TESIS</b>		
José Ignacio Covarrubias Peña Ingeniero Agrónomo, MS, Dr.	Aprobado	
<b>PROFESORES CONSEJEROS</b>		
Nicolás Franck Berger Ingeniero Agrónomo, MS, Dr.	Aprobado	
María Cecilia Peppi Ingeniero Agrónomo, MS, Ph.D.	Aprobado	

Santiago, Chile  
2016

*A mis queridos padres, Jorge y Eliana,  
... por hacerlo posible.*

## AGRADECIMIENTOS

Finalizando lo que considero la experiencia más enriquecedora de mi vida, no quisiera pasar por alto la oportunidad de agradecer a todas aquellas personas que, de una u otra forma, contribuyeron para llevar a buen término este arduo trabajo. Quienes me acompañaron desde el principio, saben con certeza que no fue sencillo, pero gracias a su ayuda, comprensión, apoyo y cariño pude superar cada obstáculo con éxito y, por ello, el mérito también es suyo.

En primer lugar, quiero agradecer a mi familia, principal pilar de mi vida. A mis padres, Jorge y Eliana, a quienes quiero y admiro profundamente... gracias por ser más de lo que uno puede pedir, por creer y confiar ciegamente en mí, y entregarme no sólo los valores que hoy me forman como persona, sino también las herramientas que me permiten ser un buen profesional. Gracias por ser el mejor ejemplo a seguir y por permitirme dar este importante paso. A mis queridas hermanas, Paula y Eliana, por su apoyo constante e incondicional, sus palabras de aliento y confianza, por estar siempre para mí, por ser mis mejores amigos.

A mi estimado profesor guía, José Ignacio Covarrubias, por aceptarme sin reparo en su laboratorio, por depositar plena confianza en mí e incentivar mi gusto por la investigación. Gracias por sus enseñanzas, consejos y cariño entregados en todo este tiempo. Con aprecio, agradezco a mi profesor consejero, Nicolás Franck, por salir al rescate en el momento justo, y por su predisposición, perseverancia y ayuda clave para finalizar este trabajo.

A mis compañeros de Magíster, José Ángel, Edouard, Aletia, Héctor, Óscar, por todos los momentos de alegría, diversión y risas compartidos. En especial, gracias a Kotexita, Enrique, Julio, Lenny, Fernando y Geovanny, por ser incondicionales a la hora de ir a medir y por compartir conmigo, conservando la sonrisa intacta, todas esas horas bajo el sol de Catemu. A mi amiga Florencia, gracias por escucharme durante horas sin cansarte, por tu sensatez, por ayudarme a elegir e impulsarme a tomar la decisión y dar el paso final.

A los funcionarios de la Facultad, Carlos Mesa y Miguel Madrid, por estar dispuestos a acompañarme numerosas veces, por su colaboración, gentileza y simpatía.

A la gente del campo, Mario Guajardo y José Luis Gómez de Segura, por su constante predisposición, ayuda y amabilidad en todo lo que estuvo a su alcance. Gracias por su compromiso con el ensayo.

Finalmente, quisiera brindar un agradecimiento muy especial a mi más grande mentor en todo este proceso, Víctor Beyá, por su inagotable paciencia, constante ayuda, inmenso apoyo y cariño, por ser mi mayor fuente de paz y consuelo. Gracias por prestarme al 'Chimuelo' en numerosas ocasiones y por enseñarme más que nadie durante todo este camino. Velaste por mí y por la tesis desde el inicio, entregando tiempo, esfuerzo y una completa dedicación. Gracias por hacer que cada día sea más maravilloso que el anterior.

Por último, mis sinceras gracias a FONDECYT, por financiar la presente investigación.

## ÍNDICE

CAPÍTULO I: EL DÉFICIT DE HIERRO EN ESPECIES FRUTALES .....	1
Déficit de hierro .....	1
Causas .....	2
Síntomas.....	4
Efectos.....	5
Técnicas de manejo tradicional.....	6
Aplicación de quelatos de hierro.....	6
Aplicación de ácidos.....	7
Técnicas de manejo sostenible.....	8
Aplicación de productos a base de sangre animal.....	8
Asociación del cultivo con especies gramíneas .....	9
LITERATURA CITADA.....	13
CAPÍTULO II: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA Y EL INTERCAMBIO GASEOSO FOLIAR DE ARÁNDANOS ‘EMERALD’ .....	26
RESUMEN.....	26
ABSTRACT .....	27
INTRODUCCIÓN .....	28
Hipótesis.....	30
Objetivos .....	30
MATERIALES Y MÉTODO .....	31
Ubicación del estudio.....	31
Material biológico .....	32
Tratamientos y diseño experimental .....	32
Manejo del experimento.....	32
Evaluaciones .....	33
Intercambio gaseoso foliar .....	34
Bajo condiciones de déficit de hierro.....	34
Bajo el efecto de estrategias de manejo sostenible del déficit de hierro.....	34
Concentración foliar de clorofila .....	35
Análisis estadístico.....	35
RESULTADOS.....	37

Intercambio gaseoso foliar .....	37
Bajo condiciones de déficit de hierro.....	37
Bajo el efecto de estrategias de manejo sostenible del déficit de hierro.....	42
Concentración foliar de clorofila .....	45
DISCUSIÓN .....	47
CONCLUSIONES .....	53
LITERATURA CITADA.....	54
APÉNDICE I.....	65
CAPÍTULO III: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE ARÁNDANOS ‘EMERALD’ .....	68
RESUMEN.....	68
ABSTRACT .....	69
INTRODUCCIÓN .....	70
Hipótesis.....	73
Objetivo.....	73
MATERIALES Y MÉTODO .....	74
Ubicación del estudio.....	74
Material biológico .....	75
Tratamientos y diseño experimental .....	75
Manejo del experimento.....	75
Evaluaciones .....	76
Radiación interceptada ( $PAR_i$ ) .....	77
Área foliar .....	78
Longitud de brotes de primavera.....	78
Crecimiento de verano .....	78
Cañas por planta y longitud de caña .....	78
Ramificaciones por caña y longitud de ramificación.....	79
Crecimiento total.....	79
Estado nutricional.....	79
Biomasa seca aérea de gramíneas .....	79
Análisis estadístico.....	80
RESULTADOS.....	81
Radiación interceptada ( $PAR_i$ ) y área foliar .....	81
Longitud de brotes de primavera.....	82

Crecimiento de verano .....	83
Cañas por planta y longitud de caña .....	83
Ramificaciones por caña y longitud de ramificación .....	84
Crecimiento total .....	84
Estado nutricional.....	85
Biomasa seca aérea de gramíneas .....	86
DISCUSIÓN .....	88
CONCLUSIONES .....	94
LITERATURA CITADA.....	95
APÉNDICE II .....	105
CAPÍTULO IV: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN VARIABLES PRODUCTIVAS Y CALIDAD DE BAYAS DE ARÁNDANOS ‘EMERALD’ .....	107
RESUMEN.....	107
ABSTRACT .....	108
INTRODUCCIÓN .....	109
Hipótesis.....	111
Objetivo.....	111
MATERIALES Y MÉTODO .....	112
Ubicación del estudio.....	112
Material biológico .....	113
Tratamientos y diseño experimental .....	113
Manejo del experimento.....	113
Evaluaciones .....	114
Radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$ ; 1).....	115
Variables productivas.....	115
Carga frutal.....	115
Tamaño de fruto .....	115
Producción por planta .....	115
Productividad .....	115
Calidad de bayas .....	115
Firmeza.....	116
Porcentaje de materia seca .....	116
Concentración de sólidos solubles .....	116
Acidez titulable .....	116

pH.....	117
Relación SS/Acidez.....	117
Análisis estadístico.....	117
RESULTADOS.....	119
Radiación interceptada a inicios de cosecha ( <i>PAR<sub>i</sub></i> 1).....	120
Variables productivas.....	120
Carga frutal.....	120
Tamaño de fruto .....	120
Curva de regresión peso-diámetro .....	120
Producción por planta .....	121
Productividad .....	121
Curva de distribución de calibre .....	121
Curva de distribución de cosecha.....	122
Calidad de bayas .....	123
Firmeza.....	123
Porcentaje de materia seca .....	124
Concentración de sólidos solubles, acidez titulable y pH.....	124
Relación SS/Acidez.....	124
DISCUSIÓN .....	125
CONCLUSIONES .....	130
LITERATURA CITADA.....	131
APÉNDICE III.....	139
CAPÍTULO V: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN EL CONTENIDO, CONCENTRACIÓN Y COMPOSICIÓN FENÓLICA DE BAYAS EN ARÁNDANOS ‘EMERALD’ .....	141
RESUMEN.....	141
ABSTRACT .....	142
INTRODUCCIÓN .....	143
Hipótesis.....	146
Objetivos .....	146
MATERIALES Y MÉTODO .....	147
Ubicación del estudio.....	147
Material biológico .....	148
Tratamientos y diseño experimental .....	148
Manejo del experimento.....	148



Evaluaciones .....	149
Concentración foliar de clorofila .....	150
Carga frutal.....	150
Peso de fruto.....	150
Porcentaje de materia seca de fruto.....	150
Relación piel/pulpa.....	151
Extracción de compuestos fenólicos .....	151
Análisis y cuantificación de compuestos fenólicos.....	151
Intensidad colorante .....	151
Fenoles totales.....	151
Antocianos totales .....	151
Taninos totales .....	152
Perfil de antocianinas .....	152
Fenoles de bajo peso molecular .....	152
Análisis estadístico.....	153
RESULTADOS.....	154
Concentración foliar de clorofila .....	155
Carga frutal y peso de fruto.....	155
Porcentaje de materia seca de fruto.....	156
Relación piel/pulpa e intensidad colorante .....	156
Fenoles totales.....	157
Antocianos totales .....	157
Taninos totales .....	158
Perfil de antocianinas .....	159
Fenoles de bajo peso molecular .....	163
DISCUSIÓN .....	170
CONCLUSIONES .....	175
LITERATURA CITADA.....	176
APÉNDICE IV .....	186
ANEXO I .....	188

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.....	31
Cuadro 2. Coeficientes y estadísticos asociados a la regresión lineal entre la eficiencia de uso de la clorofila como variable independiente y la inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa, y fotosíntesis neta relativa, como variables dependientes.....	41
Cuadro 3. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.....	74
Cuadro 4. Incremento de la radiación interceptada ( $m^2 PAR_i$ ) y del área foliar ( $cm^2$ ), entre inicio y final de temporada, de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	81
Cuadro 5. Componentes del crecimiento vegetativo de verano, expresado como número y longitud de caña principal, número y longitud de ramificaciones, y crecimiento total de verano, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	84
Cuadro 6. Concentración de macronutrientes, expresada en porcentaje, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. El muestreo se realizó en febrero del 2015.....	85
Cuadro 7. Concentración de micronutrientes, expresada en $mg\ kg^{-1}$ , en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. El muestreo se realizó en febrero del 2015.....	86
Cuadro 8. Requerimiento hídrico, expresado en $m^3\ m^{-2}$ , consumo de nitrógeno, fósforo y potasio, expresados en $g\ m^{-2}$ , y eficiencia de uso del nitrógeno, expresado en $g\ b.s.\ g^{-1}$ , de <i>Festuca rubra rubra</i> y <i>Poa pratensis</i> utilizadas como cultivos de cobertura en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro. ....	87
Cuadro 9. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.....	112
Cuadro 10. Carga frutal, expresada en frutos/planta, en función de la concentración foliar de clorofila (CFC) y la radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$ 1), en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro. ....	119
Cuadro 11. Tamaño de fruto, expresado en g, en función de la concentración foliar de clorofila (CFC), de la radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$ 1) y la carga frutal, expresada en frutos/planta, en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro. ....	119
Cuadro 12. Radiación interceptada a inicios de cosecha, en $m^2\ PAR_i$ ; producción, como g/planta; carga frutal, en frutos/planta y frutos/ $m^2\ PAR_i$ ; tamaño de fruto en gramos de peso y milímetros de diámetro ecuatorial, y productividad, en $kg/m^2\ PAR_i$ , de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	121

Cuadro 13. Materia seca, expresada en %; firmeza, expresada en Newton; sólidos solubles, en °Brix; pH; acidez, en % de ácido cítrico, y relación SS/acidez en bayas de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	124
Cuadro 14. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm. ....	147
Cuadro 15. Matriz de correlación de Pearson entre la concentración foliar de clorofila, carga frutal, peso de fruto, relación piel/pulpa, intensidad colorante, contenido de fenoles totales, antocianos totales y taninos totales de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	155
Cuadro 16. Concentración foliar de clorofila al momento de muestreo de las bayas (88 DDIB), carga frutal en frutos/m <sup>2</sup> PAR <sub>i</sub> , peso de fruto de la muestra en gramos, porcentaje de materia seca, relación piel/pulpa e intensidad colorante en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	157
Cuadro 17. Contenido y concentración de fenoles y antocianos totales, expresados en mg EAG/fruta, mg EAG/g fruta y mg EAG/g piel; mg malvidina/fruta y mg malvidina/g fruta y mg malvidina/g piel, respectivamente, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	158
Cuadro 18. Contenido porcentual de las nueve antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	160
Cuadro 19. Matriz de correlación de Pearson entre las diferentes antocianinas (Delf= delfinidina; Cian= cianidina; Pet= petunidina; Malv= malvidina; glucós= glucósido; galact= galactósido; arabinós= arabiósido) del perfil antociánico en las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	161
Cuadro 20. Contenido, expresado en mg/fruta, de las distintas antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	162
Cuadro 21. Concentración, expresada en mg/g piel, de las distintas antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	162
Cuadro 22. Contenido, expresado en mg/fruta, y concentración, expresada en mg/g fruta y mg/g piel del total de los fenoles de bajo peso molecular seleccionados del perfil de pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	164
Cuadro 23. Contenido porcentual de los ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, flavanoles y flavonoles más importantes, presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, de pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	165
Cuadro 24. Matriz de correlación de Pearson entre la concentración foliar de clorofila, peso de fruto, contenido de ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, flavanoles, flavonoles y cumarinas totales en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	166

Cuadro 25. Contenido, expresado en mg/fruta fresca, de los ácidos cinámicos y benzoicos presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	167
Cuadro 26. Concentración, expresada en mg/g piel, de los ácidos cinámicos y benzoicos presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	168
Cuadro 27. Contenido, expresado en mg/fruta fresca, de los principales flavanoles, flavonoles y cumarinas presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	169
Cuadro 28. Concentración, expresada en mg/g piel, de los principales flavanoles, flavonoles y cumarinas presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	169

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mecanismo de adquisición del hierro en plantas ‘Estrategia II’ (Mori, 1998).....	11
Figura 2. Evolución diaria de la radiación incidente ( <i>PPFD</i> ), en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , el día en que se midió el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’. Barras verticales indican el error estándar.....	37
Figura 3. Evolución diaria de la (A) fotosíntesis neta; (B) conductancia estomática; (C) transpiración y (D) temperatura foliar en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Medias ajustadas con letras diferentes en cada hora indican diferencias significativas según la prueba DGC ( $p<0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento*hora significativa.....	38
Figura 4. Media diaria de la (A) fotosíntesis neta; (B) conductancia estomática; (C) transpiración; (D) temperatura foliar; (E) eficiencia de uso de la clorofila; (F) eficiencia intrínseca de uso del agua en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Medias ajustadas con letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas según la prueba LSD Fisher ( $p<0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. ....	39
Figura 5. Media diaria de la (A) fotosíntesis neta; (B) conductancia estomática; (C) $\text{CO}_2$ interno; (D) eficiencia de uso del agua y (E) eficiencia de uso de la clorofila como función de la concentración foliar de clorofila. (F) Eficiencia de uso de la clorofila como función de la relación clorofila <i>a/b</i> . Relaciones significativas ( $p<0,05$ ). ....	40
Figura 6. Media diaria de la inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa, y fotosíntesis neta relativa, como función de la eficiencia de uso de la clorofila, en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Relaciones significativas ( $p<0,05$ ). .	41
Figura 7. Media diaria de la (A) inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa y (B) fotosíntesis neta relativa en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Medias ajustadas con letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas según la prueba LSD Fisher ( $p<0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. ....	42
Figura 8. Evolución diaria de la (A; E) fotosíntesis neta, (B; F) conductancia estomática, (C; G) transpiración y (D, H) temperatura foliar, en arándanos ‘Emerald’ bajo distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro, a los 66 DDIB (A, B, C, D) y 123 DDIB (E, F, G, H). Medias ajustadas con letras diferentes cada hora indican diferencias significativas según la prueba DGC ( $p<0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento*hora significativa.....	44
Figura 9. Evolución diaria de la radiación incidente ( <i>PPFD</i> ), en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , a los (A) 66 DDIB y (B) 123 DDIB, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Barras verticales indican el error estándar. ....	45
Figura 10. Concentración foliar de clorofila, en hojas completamente expandidas de arándano ‘Emerald’, en función del índice SPAD ( $p<0,0001$ ). ....	45

Figura 11. Evolución del índice SPAD y la concentración foliar de clorofila, durante la temporada, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes cada fecha indican diferencias significativas según la prueba DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican error estándar. Interacción tratamiento*día significativa ( $p < 0,0001$ ). .....	46
Figura 12. Esquema de medición de la radiación solar interceptada por las plantas de la UO, en el espacio asignado a cada una ellas.....	77
Figura 13. Crecimiento de primavera, de verano y total de plantas, expresado como $\Delta PAR_i$ , en arándanos ‘Emerald’ sometidos a tratamientos de corrección del déficit de hierro. Barras verticales indican el error estándar.....	82
Figura 14. Longitud de los brotes durante la temporada 2014 en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes cada fecha indican diferencias significativas según la prueba de DGC ( $p < 0,05$ ). Interacción tratamiento*fecha significativa ( $p < 0,0001$ ). Barras verticales indican el error estándar.....	83
Figura 15. Producción de biomasa seca aérea, expresada en $g\ m^{-2}$ , entre 151 días después de siembra y hasta el final de temporada, de <i>Festuca rubra rubra</i> y <i>Poa pratensis</i> , utilizadas como cultivos de cobertura en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro. Barras verticales indican el error estándar.....	87
Figura 16. Diámetro ecuatorial, expresado en mm, en función del peso, expresado en g, de bayas maduras de arándano ‘Emerald’ ( $p < 0,0001$ ). $n=100$ . .....	120
Figura 17. Distribución de calibres, expresada como porcentaje de frutos cosechados dentro de cada categoría, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes por calibre indican diferencias significativas según la prueba de comparación múltiple DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento*calibre significativa ( $p < 0,0001$ ). .....	122
Figura 18. Distribución de la cosecha, expresada como porcentaje de frutos cosechados en cada fecha de cosecha, en arándanos ‘Emerald’ bajo tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes por fecha indican diferencias significativas según prueba de comparación múltiple DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento*fecha significativa ( $p < 0,0001$ ). .....	123
Figura 19. Biplot del ACP para los distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro en arándanos ‘Emerald’, considerando concentración foliar de clorofila, piel/pulpa, intensidad colorante, contenido de fenoles totales, antocianos totales y taninos totales, carga frutal y peso de fruto de cada repetición de los tratamientos ( $n=25$ ). .....	154
Figura 20. Cromatograma del perfil antociánico de la piel de arándanos ‘Emerald’. .....	159
Figura 21. Contenido porcentual de cada antocianidina presente en el perfil antociánico de la piel de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	160
Figura 22. Biplot del ACP para los distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro en arándanos ‘Emerald’, considerando el perfil antociánico de cada repetición de los tratamientos ( $n=25$ ). .....	161

Figura 23. Cromatograma del perfil fenólico de bajo peso molecular en las pieles de arándanos ‘Emerald’.....	163
Figura 24. Contenido porcentual de cada uno de los principales grupos de compuestos fenólicos presentes en el perfil fenólico de la piel de arándanos ‘Emerald’, es decir antocianinas, ácidos cinámicos, ácidos benzoicos, flavanoles, flavonoles y cumarinas....	164
Figura 25. Biplot del ACP para los distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro en arándanos ‘Emerald’, considerando el perfil fenólico de bajo peso molecular de cada repetición de los tratamientos (n=25).....	166

## ÍNDICE DE APÉNDICES

Foto 1. (A) Síntomas de clorosis férrica en planta de arándano ‘Emerald’ al inicio del experimento. (B) Clorosis férrica en un brote apical. Las fotografías fueron tomadas en febrero de 2014. ....	65
Foto 2. (A) Aplicación manual de las soluciones de Fe-EDDHA y formulado a base de sangre bovina a plantas de arándano ‘Emerald’. (B) Detalle de la planta una vez realizada la aplicación. ....	65
Foto 3. Asociación del arándano ‘Emerald’ con especies gramíneas. (A) <i>Poa prantesis</i> L. (B) <i>Festuca rubra</i> spp. <i>rubra</i> L. ....	65
Figura 1. Esquema del diseño experimental del ensayo. Asignación de tratamientos.....	66
Figura 2. Índice SPAD de las hojas utilizadas para la curva de calibración del <i>chlorophyll meter</i> portátil. ....	66
Figura 3. Rango de índice SPAD de las hojas usadas para la caracterización del intercambio gaseoso foliar del arándano ‘Emerald’ bajo condiciones de déficit de hierro. ....	66
Foto 4. (A) Síntomas asociados a intoxicación por exceso de nitrógeno en plantas con aplicación del formulado a base de sangre bovina. (B) Detalle de brote apical. Fecha: diciembre 2015.....	67
Figura 4. (A) Fotosíntesis neta y (B) $CO_2$ interno, como función de la conductancia estomática, en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Relaciones significativas ( $p < 0,05$ ). ....	67
Figura 5. Evolución de la temperatura máxima, media y mínima, expresada en °C, y precipitación mensual, en mm, desde mayo del 2014 a abril del 2015. Catemu, San Felipe, Región de Valparaíso. ....	105
Cuadro 1. Composición nutricional de la sangre bovina, dividida en macronutrientes, expresados en porcentaje, y micronutrientes, expresados en $mg\ kg^{-1}$ .....	105
Figura 6. Área foliar, en $cm^2$ , como función de la longitud, en cm, de brotes de primavera, sin y con brotes anticipados, en arándanos ‘Emerald’ ( $p < 0,0001$ ). ....	105
Figura 7. Evolución de la evapotranspiración de referencia ( $E_{t_0}$ ) mensual promedio, expresada en mm/día, desde abril del 2014 a abril del 2015. Catemu, San Felipe, Región de Valparaíso. ....	106
Foto 5. (A) Evolución del color de piel en bayas de arándano ‘Emerald’ según su estado de maduración o desarrollo. (1): baya completamente inmadura; (5): baya completamente madura. (B) Bayas con el estado de madurez adecuado para ser cosechadas.....	139
Foto 6. Caja plástica con tapa, de 125 g, para arándano. ....	139
Figura 8. Producción, expresada en kg/planta, en función de la carga frutal, expresada en frutos/planta, en plantas de arándano ‘Emerald’ de 4 años ( $p < 0,0001$ ). $n=150$ . ....	139
Figura 9. Productividad, expresada en $kg/m^2 PAR_i$ , en función de la carga frutal, expresada en frutos/ $m^2 PAR_i$ , en plantas de arándano ‘Emerald’ de 4 años ( $p < 0,0001$ ). $n=150$ .....	140



Figura 10. Peso de fruto, expresado en gramos, en cada fecha de cosecha de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	186
Figura 11. Porcentaje de humedad de fruto en bayas de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. ....	186
Figura 12. Peso de la piel, expresado en gramos, en función del peso de fruto, expresado en gramos, en bayas maduras de arándanos ‘Emerald’ (p=0,002; n=21). ....	186
Figura 13. Relación hollejo/pulpa (A), contenido y concentración de fenoles totales, expresados en mg EAG/fruta (B), mg EAG/g fruta (C) y mg EAG/g piel (D); relación hollejo/fruto (E), contenido y concentración de antocianos totales, expresados en mg mv/fruta (F), mg mv/g fruta (G) y mg mv/g piel (H), como función del peso de fruto, expresado en gramos, en bayas maduras de arándanos ‘Emerald’ (p<0,05; n=21). ....	187

## ÍNDICE DE ANEXOS

Figura 1. Función particular de cada metabolito secundario en la protección de las plantas frente a condiciones de estrés (Tadeo y Gómez-Cadenas, 2008).....	188
Figura 2. Clasificación de los compuestos fenólicos. ....	188
Figura 3. Grupos de compuestos fenólicos, estructura molecular, predominancia en las distintas partes de la fruta y función en la planta (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2010a; González, 2012). ....	189
Figura 4. Estructura química de las seis antocianidinas más abundantes y coloración característica (Adaptado de Von-Elbe y Schwartz, 1996). ....	190
Figura 5. Metabolismo primario y secundario de las plantas. Síntesis de compuestos fenólicos a través de la vía del ácido siquímico y vía del ácido malónico (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2010a). ....	190
Figura 6. Ruta del ácido siquímico (Adaptado de Piñol et al., 2008). ....	191
Figura 7. Ruta de síntesis de compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides, desde el aminoácido precursor, la fenilalanina, y las enzimas involucradas (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2010a; González, 2012).....	192

## CAPÍTULO I: EL DÉFICIT DE HIERRO EN ESPECIES FRUTALES

Los numerosos efectos benéficos que tiene el arándano para la salud (Zafra-Stone et al., 2007; Seeram, 2008), debido a la riqueza de sus bayas en una amplia variedad de compuestos fenólicos antioxidantes (Zafra-Stone et al., 2007; Paredes-López et al., 2010), han llevado a que, desde hace varios años, el consumo per cápita nacional aumente progresivamente (Orellana, 2013). Así, por la importancia que ha adquirido la especie, tanto a nivel nacional como mundial, fue necesario expandir la superficie de cultivo (Bañados, 2006; Strik, 2007). En Chile, principal país productor y exportador de arándanos del Hemisferio Sur (Bañados 2006; Brazelton y Strik, 2007; Orellana, 2013), alrededor del 85% de la superficie cultivada con arándanos se ha encontrado, tradicionalmente, en la zona sur, es decir entre las regiones VII-X y XIV (Bañados, 2006; ODEPA/CIREN, 2012). Sin embargo, debido a factores agronómicos, tales como la búsqueda de cosechas más tempranas, condiciones climáticas más benignas y una menor susceptibilidad a las enfermedades fúngicas (Bañados, 2009), los nuevos huertos de arándano comenzaron a establecerse, también, en la zona central, es decir entre la IV y VI Región (Bañados, 2006; ODEPA/CIREN, 2012). En esta zona, donde los suelos predominantes son calcáreos y alcalinos, algo salinos y de textura media a pesada (Luzio et al., 2010; Retamales et al., 2014), las características vegetativas, reproductivas y fisiológicas del arándano (*Vaccinium* sp.) se ven afectadas (Retamales y Hancock, 2012a), debido a su condición de especie calcífuga (Mengel et al., 2001), es decir, adaptada a condiciones ácidas del suelo y, por lo tanto, a su baja tolerancia a suelos alcalinos y calcáreos (Font Quer, 1985; Parker et al., 1991). De hecho, el arándano alto o “highbush” (*Vaccinium corymbosum* L.), especie a la que pertenece ‘Emerald’ (Retamales y Hancock, 2012b), requiere un pH de suelo en el rango de 4,5 a 5,5 para lograr un crecimiento, desarrollo y productividad adecuados (Horneck et al., 2004; Retamales y Hancock, 2012a; Hirzel, 2014). Debido a que el pH del suelo influye, entre otras cosas, en la disponibilidad de los elementos minerales para las plantas (Sims, 1985; Tan, 1998; Mortvedt, 2000; Mengel et al., 2001; Altland et al., 2008; Taiz y Zeiger, 2010), los productores de arándano de la zona central han tenido y tienen que enfrentarse a un problema nutricional importante: el déficit de hierro.

### Déficit de hierro

El déficit de hierro en las plantas frutales, que son cultivadas en suelos calcáreos, es un problema que ha sido descrito desde comienzos del siglo XIX (Molz, 1907, citado por Mengel, 1994). A pesar de que, por ser un micronutriente, el hierro es requerido por las plantas en cantidades relativamente bajas (Taiz y Zeiger, 2010; Kirkby, 2011), el déficit de hierro es la principal limitante para la producción exitosa de varias especies frutales en áreas de producción de todo el mundo (Rombolà y Tagliavini, 2006). Se ha realizado una gran cantidad de trabajos sobre la disponibilidad del hierro en el suelo, su adquisición y absorción por las raíces de las plantas, y la utilización del mismo una vez absorbido. Sin embargo, el problema de la clorosis férrica, o clorosis calcárea como también se le llama, aún no es totalmente entendido (Mengel, 1994). De hecho, todavía no se ha encontrado

ninguna estrategia para resolver la clorosis férrica en forma satisfactoria, convirtiéndola en una de las deficiencias nutricionales más complejas (Pestana et al., 2003).

Uno de los tantos factores que dificultan la comprensión del déficit de hierro es la variabilidad, tanto espacial como temporal, que presenta. La variabilidad espacial se debe, en parte, a que la textura, pH, concentración de  $\text{CaCO}_3$ , contenido de materia orgánica, aireación y demás propiedades del suelo pueden variar a pocos metros de distancia (Rombolà y Tagliavini, 2006). De hecho, en un determinado huerto, una planta en particular puede desarrollar clorosis férrica, mientras que otra especie, otra variedad de la misma especie o, incluso, otra planta cercana de la misma especie y variedad, puede comportarse de una manera considerablemente más tolerante (Chen y Barak, 1982). Por su parte, la variabilidad temporal, es decir, que los síntomas de clorosis férrica varíen de año a año, e incluso en la misma temporada, es resultado de la interacción que existe entre la planta y las condiciones ambientales (Rombolà y Tagliavini, 2006). A su vez, debido a la baja movilidad que tiene el hierro en el floema de la planta (Taiz y Zeiger, 2010; Broadley et al., 2011), se ha supuesto que los árboles reciclan sólo una cantidad limitada de este elemento de año a año y, por ende, la mayor parte del hierro, necesario para el crecimiento vegetativo y reproductivo, debe provenir de la absorción del mismo durante la temporada (Rombolà y Tagliavini, 2006).

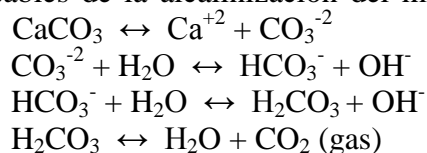
## Causas

La principal causa del déficit de hierro no radica en la ausencia del mismo en el suelo, debido a que no sólo es el cuarto elemento más abundante en la corteza terrestre, luego del oxígeno, silicio y aluminio, sino que, además, posee la capacidad para formar numerosos compuestos estables con todos ellos (Krauskopf, 1983; Loué, 1988; Essington, 2004). Así, esta carencia se debe, más bien, a una menor disponibilidad del hierro activo en el suelo y en la planta, desencadenada por la interacción de factores químicos, físicos y biológicos presentes tanto en el suelo como dentro de la especie vegetal (Vose, 1982; Coulombe et al., 1984; Loué, 1988; Broadley et al., 2011).

Si se considera sólo el hierro inorgánico presente en el suelo, éste puede encontrarse bajo las formas ferrosa, o reducida ( $\text{Fe}^{+2}$ ), y férrica, u oxidada ( $\text{Fe}^{+3}$ ), siendo la primera, la forma metabólicamente activa y con mayor solubilidad (Rowell, 1992; Brennan y Lindsay, 1998; Navarro, 2003; Essington, 2004; Ruíz, 2006). Debido a esto, todas las plantas superiores, incluyendo las gimnospermas, dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas absorben el hierro bajo su forma ferrosa (Curie y Briat, 2003; Navarro, 2003; Thomine y Lanquar, 2011). Sin embargo, en los suelos aireados, el hierro está principalmente presente en su estado oxidado (Loué, 1988; Essington, 2004), por lo cual debe ser previamente reducido al estado ferroso ( $\text{Fe}^{+3} \rightarrow \text{Fe}^{+2}$ ) para ser absorbido por las raíces de las plantas. Esta reducción es un paso obligatorio para las especies Fe-eficientes (Curie y Briat, 2003; Thomine y Lanquar, 2011) y es llevada a cabo por la enzima ferroquelato reductasa, la cual está localizada en la membrana plasmática (Moog y Brüggemann, 1994; Mukherjee et al., 2006) y cuya actividad es dependiente del pH, viéndose afectada en condiciones de pH alcalino (Mengel, 1994). A su vez, se ha señalado que con un pH de suelo superior a 4,0 existe una disminución en la solubilidad del  $\text{Fe}^{+3}$  en solución, en una magnitud cercana a unas mil

veces por cada unidad de aumento en el pH (Vose, 1982; Loué, 1988; Ma y Nomoto, 1996; Mortvedt, 2000), valor que presenta una gran variabilidad porque depende de los factores formadores del suelo, tales como material parental, clima, topografía, actividad biológica, manejo y tiempo (Rowell, 1992). Así, la disponibilidad de hierro para la planta está determinada por el pH del suelo, tornándose menos disponible con valores de pH mayores a 7,0, es decir, cuando el suelo es alcalino (Taiz y Zeiger, 2010; Retamales y Hancock, 2012a).

Los suelos alcalinos poseen, generalmente, un horizonte cálcico a cierta profundidad, debido a la acumulación de carbonato y/o sulfato de calcio en el perfil; en este caso, los suelos se denominan calcáreos (Brady y Weil, 2008). Los suelos calcáreos se encuentran en todo el mundo (Lombi et al., 2004) y, de hecho, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) estima que la extensión de éstos alcanza las 800 millones de hectáreas, y que están concentrados, principalmente, en zonas de clima árido o mediterráneo (FAO-Land and Plant Nutrition Management, 2000), donde las lluvias son menores que la evapotranspiración potencial, lo que conduce a la acumulación de los cationes liberados por la meteorización de minerales, debido a la ausencia de precipitaciones suficientes para lixiviarlos (Porta et al., 2003; Brady y Weil, 2008). Así, la solución del suelo está formada, por un lado, por los cationes del complejo de cambio:  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ , los cuales no son hidrolizables y, por ende, no producen  $\text{H}^+$  al reaccionar con agua y, por el otro, por los aniones carbonatos ( $\text{CO}_3^{-2}$ ) y bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), ambos generadores de grupos hidroxilo ( $\text{OH}^-$ ). Estos aniones se originan a partir de la disolución de minerales como la calcita ( $\text{CaCO}_3$ ), conocida también como carbonato de calcio, o de la disociación del ácido carbónico ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ) (Faust; 1989; Brady y Weil, 2008). De esta manera, el carbonato de calcio presente en estos suelos, el cual es relativamente insoluble, puede controlar el pH del suelo al hidrolizarse, alcanzándose valores entre 7,3 a 8,5 y generando, entonces, deficiencias nutricionales (Loué, 1988; Faust, 1989; Rowell, 1992; Rodríguez et al., 1998; Imas, 2000). Si bien los carbonatos de calcio, al igual que los de magnesio, no se disuelven fácilmente en agua pura (Porta et al., 2003), sí lo hacen en agua con anhídrido carbónico, a través de la reacción expresada por varios autores:  $\text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 \leftrightarrow \text{Ca}^{+2} + 2\text{HCO}_3^-$  (Boxma, 1972; Faust, 1989; Loeppert y Suárez, 1996), la cual es sucedida por una serie de reacciones que conducen a la formación de grupos  $\text{OH}^-$ , responsables de la alcalinización del medio (Brady y Weil, 2008), de la siguiente manera:



Se ha determinado que los bicarbonatos formados en los suelos calcáreos son el factor más importante del suelo asociado con el desarrollo de clorosis férrica en especies frutales como el manzano (*Malus domestica* M.), peral (*Pyrus communis* L.) y la vid (*Vitis vinifera* L.), entre otras (Mengel et al., 1984; Faust 1989; Nikolic y Kastori, 2000). En suelos calcáreos cultivados, la dinámica de formación del bicarbonato es mucho mayor, debido a las altas presiones de  $\text{CO}_2$  en el suelo, proveniente de la respiración de las plantas, y de la hidrólisis de los carbonatos (Boxma, 1972; Brady y Weil, 2008). A su vez, los suelos calcáreos presentan altos contenidos de caliza activa, que es aquella parte de los carbonatos totales que posee un tamaño inferior a 20  $\mu\text{m}$  y, por lo tanto, una gran área superficial activa,

capaz de interactuar fácilmente con los óxidos de hierro en el suelo (Chen y Barak, 1982; Rowell, 1992; Mendoza, 2000). Por otro lado, este tipo de suelos se caracteriza por presentar el nitrógeno bajo la forma de nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), debido a que el nitrógeno amoniacal es rápidamente nitrificado y/o se volatiliza como amoníaco (Brady y Weil, 2008). Tanto el nitrato como el bicarbonato son aniones y, por ende, son capaces de neutralizar los protones hidrógeno ( $\text{H}^+$ ) que bombea el sistema radical de las plantas, mediante la actividad de una proteína ATP-asa, evitando, así, la disminución del pH (Mengel, 1994).

En las especies frutales que son cultivadas en suelos calcáreos, Tagliavini y Rombolà (2001) señalan que, por un mecanismo aún desconocido, parte del hierro proveniente de las raíces no es capaz de atravesar la membrana plasmática de las hojas, ubicándose en el apoplasto celular, lo que justificaría la existencia de hierro inactivo ( $\text{Fe}^{+3}$ ) en hojas cloróticas de vid (*Vitis vinifera* L). Asociado a esto, Mengel et al. (1994) y Mendoza (2000) plantean que la absorción de bicarbonatos y nitratos por parte de la planta determina un aumento en el pH de los tejidos, especialmente a nivel de apoplasto, transformando el  $\text{Fe}^{+2}$  a  $\text{Fe}^{+3}$ , lo que inmoviliza el hierro y genera, de esta forma, los síntomas característicos.

## Síntomas

El síntoma típico de la carencia de hierro es la aparición de un color amarillento, de intensidad progresiva, entre las nervaduras de la hoja (Krewer y NeSmith, 2006; Horneck et al., 2004; Taiz y Zeiger, 2010), lo que se conoce como “clorosis férrica” (Rombolà y Tagliavini, 2001). Ésta se manifiesta en las hojas apicales de la planta, es decir, jóvenes (Hell y Stephan, 2003; Hart et al., 2006; Fageria, 2009; Taiz y Zeiger, 2010), debido a la baja movilidad del hierro en la planta (Navarro, 2003; Fageria, 2009; White, 2011); sin embargo, si la carencia es prolongada y nuevas hojas son formadas, entonces la clorosis también aparece en las hojas del tercio medio y basal (Rombolà y Tagliavini, 2006). Las nervaduras usualmente permanecen verdes, a no ser que el déficit sea extremadamente severo; en este caso, la hoja entera se torna blanca y translúcida (Fageria, 2009; Taiz y Zeiger, 2010). En algunas especies, como el peral, la clorosis férrica es atípica, ya que se extiende en toda la lámina de la hoja, incluyendo las nervaduras (Abadía et al., 1989; Rombolà y Tagliavini, 2001). Las hojas cloróticas frecuentemente son más pequeñas de lo normal y, a menudo, se vuelven marrones y caen antes de que termine la temporada; a su vez, se produce poco crecimiento de la planta e, incluso, algunas pueden morir (Retamales y Hancock, 2012a). Las plantas afectadas por un elevado pH del suelo, por lo general, no se recuperan, incluso cuando éste logra ser reducido (Hart et al., 2006). De hecho, cuando el síntoma de la clorosis férrica se manifiesta, a menudo es demasiado tarde para evitar los efectos negativos de esta carencia nutricional sobre el rendimiento y calidad de la fruta (Pestana et al., 2003).

Los métodos más adecuados para determinar si el síntoma observado corresponde a un déficit de hierro consisten en mediciones de clorofila foliar en laboratorio y en el uso de fotómetros portátiles, como el SPAD, mediante los cuales se comprueba que la clorosis no se debe a un problema nutricional distinto (Abadía et al., 2004). Sin embargo, para estar razonablemente seguro de que la clorosis se debe a un déficit de hierro, las hojas cloróticas deben rociarse con quelatos de hierro y, al poco tiempo, éstas deben recuperar el color

verde (Rombolà y Tagliavini, 2006). En este punto es importante mencionar que, en condiciones de campo, la concentración foliar de hierro no es un indicador confiable del estado de hierro de la planta, debido a que no se correlaciona con la concentración foliar de clorofila (Mengel et al., 1984; Häussling et al., 1985; Krewer y NeSmith, 2006). Así, plantas con concentraciones foliares dentro del ‘rango de deficiencia’ pueden no exhibir clorosis, y hojas cloróticas, a menudo, presentan mayores concentraciones de hierro que las no cloróticas (Hanson y Hancock, 1996); el problema radica en que parte de ese hierro no está disponible para el metabolismo (Krewer y NeSmith, 2006). A este fenómeno se lo conoce como “paradoja de la clorosis férrica” y, para explicarlo, se han propuesto dos hipótesis: (1) un incremento en el pH del apoplasto de las hojas, inducido por la presencia de nitratos y bicarbonatos, conduce a la inactivación del hierro e imposibilita su entrada a la célula (Mengel, 1994; Kosergarten et al., 2001) y (2) el área foliar se ve afectado por la carencia de hierro, de manera que las hojas cloróticas son más pequeñas y, así, su concentración de hierro es mayor que la de una hoja verde, pero el contenido es el mismo (Römheld, 2000; Nikolic y Römheld, 2003).

## Efectos

La importancia del déficit de hierro en las plantas superiores radica en que puede tener una gran variedad de efectos negativos, tanto a nivel radical como foliar (Abadía, 1992). Este fenómeno es más complicado en las especies leñosas, como frutales y vides, debido a que el transporte de hierro debe superar largas distancias en estas plantas, en las que, luego de ser absorbido desde el suelo, debe alcanzar sucesivamente los tejidos de la raíz, tronco, ramas y hojas (Tagliavini y Rombolà, 2001).

Dentro de los numerosos perjuicios que implica la carencia de hierro destacan una drástica reducción en la longevidad y productividad de los huertos frutales, la disminución del crecimiento de raíces y brotes, y pérdidas en el rendimiento y calidad de la fruta (Pestana et al., 2003; Álvarez-Fernández et al., 2006a).

En el palto (*Persea americana* Mill), una deficiencia severa puede provocar desecación de brotes y cambio de color de los frutos hacia verde pálido (Lahav y Whiley, 2007). Palacios (2003) corrobora que la clorosis férrica no sólo disminuye la producción y calibre de los frutos, sino que reduce su contenido de aceite. Lo mismo afirma Fernández-Escobar (2008) para el caso del olivo (*Olea europea* L.) y, además, señala que la aceituna de mesa suele ser rechazada no sólo por su menor tamaño sino por la presencia de manchas cloróticas.

Por su parte, Álvarez-Fernández et al. (2003) encontraron que la carencia de hierro en dos variedades de duraznero provocó una importante disminución en el número de frutos por árbol, los cuales, a su vez, tuvieron un menor peso fresco, lo que se tradujo en una drástica reducción del porcentaje de frutos comercialmente aceptables. Asimismo, no sólo se redujo la firmeza de los frutos y el color rojo de la piel, parámetros determinantes de la calidad, sino que se observó una mayor concentración de aniones orgánicos (especialmente succinato y quinato), vitamina C y compuestos fenólicos, y una relación azúcares totales/ácidos totales más baja.

Por otro lado, se ha visto que la clorosis férrica afecta aspectos de la fisiología de la hoja en árboles frutales; de hecho, la reducción en la fotosíntesis neta, mediada por la deficiencia de hierro, ha sido reportada en muchas especies (Terry y Abadía, 1986; Abadía, 1992; Morales et al., 2000; Larbi et al., 2006). En peral (*Pyrus communis* L.), la disminución de la fotosíntesis en hojas cloróticas se ha atribuido a una disminución de la eficiencia del Fotosistema II (PSII), debido, por un lado, al cierre de los centros de reacción del PSII y, por el otro, a una reducción de la eficiencia intrínseca del PSII (Morales et al., 2000). A su vez, la eficiencia de absorción de la luz y la actividad de carboxilación de la Rubisco se reduce en respuesta a la falta de hierro (Larbi et al., 2006). Por su parte, en hojas cloróticas de manzano (*Malus pumila* Mill.), Faust (1989) reportó un menor tamaño de cloroplastos y la presencia de estomas poco desarrollados, es decir, sin su estructura característica.

### **Técnicas de manejo tradicional**

Dentro de las técnicas de manejo tradicionales que utilizan los productores de la zona central de Chile, para sobrellevar el déficit de hierro de las plantas, se destacan las aplicaciones de quelatos sintéticos de hierro, tanto foliares como edáficos, y la adición de ácidos inorgánicos al agua de riego, principalmente, sulfúrico y fosfórico (Rodríguez et al., 1998; Tagliavini y Rombolà, 2001; Pestana et al., 2003; Retamales y Hancock, 2012a; Ruiz et al., 2012).

**Aplicación de quelatos de hierro.** Los quelatos son compuestos capaces de mantener iones metálicos, como hierro, zinc, manganeso y cobre, rodeados de una molécula orgánica, denominada agente quelante, de modo que queden protegidos del entorno, evitando su precipitación en forma de hidróxidos insolubles y no disponibles para la planta (Chen y Barak, 1982; Lucena, 2006). Así, se ha supuesto que los quelatos de hierro sirven como transportadores del hierro nativo del suelo, desde los minerales del suelo hasta las raíces de las plantas (Lindsay, 1995; Lucena, 2003).

Existen dos tipos de quelatos de hierro sintéticos: aquellos que son aplicados al suelo, vía riego, y los que se aplican directamente a la planta, vía foliar (Lucena, 2006). En el primer caso, los más usados son los EDDHA (Yunta et al., 2013; Álvarez-Fernández et al., 2005), que presentan dos isómeros posicionales: el orto-orto (o,o-EDDHA- ácido etilendiamino-N,N'-di[(ortohidroxifenil)acético], de alta estabilidad, y el orto-para (o,p-EDDHA- ácido etilendiamino-N,-[(orto-hidroxifenil)acético]-N'-[(parahidroxifenil) acético], de menor estabilidad, pero de rápida respuesta (García-Marco et al., 2006). Es importante tener en cuenta la riqueza del producto en los isómeros y no el dato de hierro soluble, debido a que si no está quelado, precipitará y no será usado por las plantas (Hernández-Apaolaza et al., 2000; García-Marco y Lucena, 2009). En el segundo caso, dentro de los quelatos foliares, destacan el EDTA (ácido etilendiamino tetraacético), HEEDTA (ácido N-(2-hidroxietil)etilendiamino triacético) y DTPA (ácido dietilentriamino pentaacético), los cuales son usados en cultivos poco sensibles o sustratos no tan calcáreos, por su menor estabilidad a pH sobre 6,0 (Lucena 2006; Lucena et al., 2008). En caso de ser aplicado al suelo, se han recomendado dosis de 17 a 34 kg ha<sup>-1</sup> (Hart et al., 2006) y, en caso de aplicación foliar, dos aplicaciones de 1 kg, en 400 L de agua, por hectárea (Krewer y NeSmith, 2006). Sin embargo, debido a que existen numerosas formulaciones de quelatos de hierro, la dosis a



aplicar debe ajustarse según la concentración del producto utilizado (Retamales y Hancock, 2012a).

La aplicación de quelatos es una técnica que ha probado tener una alta eficacia (Chen y Barak, 1982; Nikolic et al., 1998; Lucena, 2003; Pestana et al., 2003; Álvarez-Fernández et al., 2006b; Lucena, 2006), la cual está relacionada con su elevada estabilidad, incluso cuando el pH del suelo está por encima de 9,0, previniendo la precipitación del hierro (Lucena et al., 1992). Por otro lado, los agentes quelantes permanecen en el suelo después de que el hierro es absorbido por las plantas, por lo que quedan disponibles para reaccionar con otros metales, tales como manganeso, cobre y níquel, aumentando, así, su biodisponibilidad (Wallace et al., 1992). Sin embargo, el problema de los quelatos se encuentra en su alto costo (Lahav y Whiley, 2007), y en los riesgos ambientales y de salud que implican (Rombolà y Tagliavini, 2006). Debido a que son productos caros, representan el 60% de los costos totales de fertilización en los huertos ubicados en suelos calcáreos (Tagliavini et al., 2000) y, por lo tanto, su uso sólo está justificado, económicamente, en cultivos de muy alto valor (Tagliavini et al., 2000; Lucena, 2006). Además, debido a su alta solubilidad, presentan un elevado potencial de lixiviación de agentes quelantes hacia las capas profundas del suelo y de la napa freática, lo que conduce no sólo a la contaminación, sino también a la necesidad de aplicaciones repetidas (Rombolà et al., 2002; Rombolà y Tagliavini, 2006). A su vez, algunos de ellos tienen potencial para unirse a metales pesados, como plomo, zinc y cadmio, ocasionando la contaminación de las aguas subterráneas por una incontrolada disolución y lixiviación de los mismos (Grčman et al., 2001). Sumado a ello, algunos quelatos tienen una escasa foto-, quimio- y biodegradabilidad en el suelo (Nörtemann, 1999), lo que puede causar efectos tóxicos en las plantas, microorganismos del suelo y micorrizas (Grčman et al., 2001). Por otra parte, se ha reportado que el EDDHA puede ser absorbido directamente por algunas especies de plantas, acumulándose en las hojas y conduciendo, así, a cambios en su fisiología y a la presencia de trazas del quelato en los frutos (Bienfait et al., 2004).

**Aplicación de ácidos.** La aplicación de ácido sulfúrico o fosfórico al agua de riego, o precursores de ellos, como el azufre elemental, al suelo, son técnicas utilizadas para disminuir temporalmente el pH de una zona específica, aumentando la disponibilidad de algunos nutrientes (Miyamoto, 1998; Nikolic et al., 1998; Mendoza, 2000) y mejorando ciertas características físicas, como la capacidad de infiltración (Mendoza, 2000).

El ácido sulfúrico no es una fuente de hierro, por lo que su mecanismo de acción está asociado, exclusivamente, a la disminución del pH mediante la liberación de protones en la rizósfera, los cuales neutralizan los bicarbonatos presentes en el medio, de la siguiente manera:  $\text{H}_2\text{SO}_4 \rightarrow \text{SO}_4^{-2} + \text{H}^+ \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ . Además, reacciona con los carbonatos presentes, conduciendo a la acumulación de sulfato de calcio, a través de la reacción:  $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CaSO}_4 + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  (Nikolic et al., 1998). En ambos casos, la principal consecuencia es un incremento en las emisiones de  $\text{CO}_2$  del suelo a la atmósfera. A su vez, el sulfato de calcio resultante conduce al aumento de la salinidad del suelo, debido a un incremento en el contenido de aniones y cationes (Miyamoto, 1998).

Por otro lado, si bien el ácido sulfúrico, incorporado a través del riego por goteo, acidifica los suelos rápidamente, su efecto es cortoplacista (Álvarez-Fernández et al., 2004) y, por

sus características corrosivas, este material es peligroso y difícil de usar por los operadores (Rodríguez et al., 1998; Horneck et al., 2004). Además, el efecto correctivo que tiene la acidificación del agua ha resultado ser nulo en árboles con síntomas de clorosis moderada y fuerte, con costos superiores a los beneficios generados (Ferreya et al., 2008). De hecho, en los pocos casos en que el ácido sulfúrico resultó efectivo en el control de la clorosis férrica fue en plantas jóvenes, es decir que se trató, más bien, de una prevención y no de una corrección; por otro lado, se necesitaron cantidades superiores a 6.000 L ha<sup>-1</sup> para lograr los cambios deseados (Nikolic et al., 1998; Ruiz et al., 2006), lo cual no sólo implica un alto costo sino que también incrementa considerablemente la salinidad del suelo (Ferreya et al., 1998; Ruiz et al., 2006). De esta manera, al momento de la aplicación, debe considerarse que los efectos del tratamiento con ácidos dependen de las propiedades del suelo, especie cultivada, método de aplicación y proporción de éste (Horneck et al., 2006).

Por su parte, la transformación del azufre elemental a ácidos, a través de la siguiente reacción:  $S + 1\frac{1}{2}O_2 + H_2O \rightarrow H_2SO_4 \rightarrow 2H^+ + SO_4^{-2}$ , es un proceso mediado por los microorganismos del suelo, principalmente del género *Thiobacillus*, por lo que requiere tiempo, humedad y temperaturas cálidas para que haya un cambio de pH (Miyamoto, 1998). Además, dependiendo del pH inicial y la capacidad de amortiguación del suelo, o CIC, pueden ser necesarias cantidades extremadamente altas de azufre para cambiar el pH (Retamales y Hancock, 2012a); de hecho, las dosis comerciales se calculan considerando que, para disminuir una unidad de pH, deben aplicarse alrededor de 390 kg ha<sup>-1</sup>S, en un suelo arenoso, y 1790 kg ha<sup>-1</sup>S, en uno arcilloso (Longstroth, s.f.). La literatura reporta que la incorporación de azufre elemental en suelos calcáreos no logra aumentar de manera importante la disponibilidad de micronutrientes y, además, conduce a un incremento significativo de la salinidad, como consecuencia de la mayor solubilidad de las sales presentes (Sierra et al., 2007).

Debido a lo expuesto anteriormente, se hace necesario encontrar nuevas técnicas de manejo del déficit de hierro que sean viables, le permitan al productor disminuir los costos de producción y, sobre todo, que tengan un bajo impacto ambiental (Pestana et al., 2003; López-Rayó et al., 2015).

### **Técnicas de manejo sostenible**

Teniendo en cuenta que las nuevas estrategias de corrección de la clorosis férrica deben estar orientadas a un manejo sostenible, que permita obtener producciones constantes y de calidad, sin ocasionar efectos perjudiciales al medioambiente (Rombolà y Tagliavini, 2006), se ha evaluado el uso de fuentes orgánicas de hierro, tales como la harina de sangre animal (Sorrenti et al., 2012; López-Rayó et al., 2015), y el intercalado del cultivo con especies gramíneas perennes (Cesco et al., 2006; Rombolà y Sorrenti, 2006; Bavaresco et al., 2010; Covarrubias et al., 2014).

**Aplicación de productos a base de sangre animal.** Los compuestos derivados de sangre animal son subproductos de la industria ganadera y de alimentos que no están destinados al consumo humano (Regulation EC N°1774, 2002). Son materiales ricos en proteínas y contienen un 10-13% de nitrógeno, por lo que tienen potencial para ser utilizados como

fertilizantes orgánicos de nitrógeno (Ciavatta et al., 1997; Gaskell y Smith, 2007; Mondini et al., 2008). De hecho, algunos de estos residuos están disponibles, en forma comercial, como fertilizantes orgánicos certificados (Van-Camp et al., 2004). A su vez, estos productos están formados, principalmente, por una proteína globular, denominada hemoglobina, la cual se caracteriza por la presencia de un grupo prostético, conocido como protoporfirina, que contiene hierro ( $\text{Fe}^{+2}$ ). De esta manera, la harina de sangre tiene una concentración de hierro quelado de alrededor de un 0,2 a 0,3% (p/p) de hierro, es decir, 20 a 30 g Fe/kg producto (Tessarini et al., 2013; Yunta et al., 2013), la cual, a pesar de no ser muy alta, garantiza que el hierro sea absorbido por las raíces de las plantas (Kalbasi y Shariatmadari, 1993). Según Mori (1999), la incorporación del hierro presente en la molécula de hemoglobina, por las células de la raíz, seguiría un mecanismo similar al de la absorción del hierro en las células animales, conocido como endocitosis.

Según Horesh et al. (1991), la materia orgánica es capaz de prevenir la clorosis férrica por su capacidad para acomplejar el hierro y luego solubilizarlo. Sin embargo, la eficacia del tratamiento dependerá de la composición de la materia orgánica, de su capacidad para captar el hierro y de la estabilidad del hierro quelado formado (Hagstrom, 1984).

Recientemente, se han investigado formulaciones innovadoras, basadas en sangre bovina fluida con un contenido de 0,125 % de Fe y 5% de N, con una alta estabilidad y capacidad de mantener el hierro disponible para las plantas en un suelo calcáreo (Yunta et al., 2013). A pesar de que, a la fecha, existen estudios que han evaluado el potencial de estos productos para inmovilizar metales pesados (Sneddon et al., 2008) y suprimir patógenos (Tenuta y Lazarovitis, 2004), así como los cambios químicos y biológicos producidos en el suelo luego de la aplicación de los mismos (Mondini et al., 2008; Cayuela et al., 2010), ninguno ha considerado sus posibles efectos en el arándano. De hecho, los estudios realizados con harina de sangre se han centrado en su eficiencia como fertilizantes de nitrógeno o como materia orgánica para el mejoramiento del suelo (Gaskell y Smith, 2007), pero hay poca información disponible acerca de su aplicación como fuente de hierro para las plantas (López-Rayó et al., 2015).

**Asociación del cultivo con especies gramíneas.** Entre los numerosos beneficios que implica el uso de cultivos de cobertura, como la reducción de la erosión, el aumento del contenido de materia orgánica y de la retención de agua, el manejo de la compactación, el control de malezas y control biológico de plagas, entre otros, destaca el aumento en el contenido de nutrientes del suelo, incluido el hierro (Baginsky et al., 2010). Siguiendo este objetivo, la familia de plantas recomendada es *Poaceae*, a la cual pertenecen las especies gramíneas (Stanley, 1999). Esto se basa en la estrategia de adaptación, característica de estas especies, para mejorar la adquisición del hierro en condiciones de carencia del mismo.

Las plantas superiores han desarrollado distintos mecanismos de adaptación para movilizar el hierro ubicado en la interfase suelo-raíz o 'rizosfera'. Así, en función de la estrategia utilizada, las plantas fueron clasificadas en dos grupos: plantas de estrategia I y plantas de estrategia II (Marschner et al., 1986). La denominada 'Estrategia I' es llevada a cabo por especies dicotiledóneas y monocotiledóneas no gramíneas (Marschner y Römheld, 1994), y consiste de cuatro acciones conjuntas: 1) un incremento en la reducción del  $\text{Fe}^{+3}$  en la superficie de la raíz, con la consecuente absorción preferencial del  $\text{Fe}^{+2}$  (Römheld, 1987;

Marschner y Römheld, 1994; Moog y Brüggemann, 1994; Schmidt, 1999; Rombolà et al., 2002); 2) una exudación de  $H^+$ , mediada por una ATP-asa, con el fin de disminuir el pH y, así, promover la reducción del  $Fe^{+3}$ , (Römheld et al., 1984; Römheld, 1987; Toulon et al., 1992; Marschner y Römheld, 1994); 3) en algunos casos, una exudación radical de sustancias quelantes y/o reductoras, tales como polifenoles, citrato y malato (Hether et al., 1984; Römheld, 1987; Mori, 1999; Dasgan et al., 2002), y 4) en algunos casos, una proliferación de raíces laterales y un aumento del diámetro de la zona apical radical para incrementar el área de absorción del Fe, debido a una mayor superficie de contacto (Welkie y Miller, 1993; Schmidt, 2001). La característica más importante de esta estrategia es el incremento en la reducción del  $Fe^{+3}$  en la superficie de la raíz, la cual es llevada a cabo por la enzima ferroquelato reductasa, la cual se activa frente a un déficit de hierro, y está ubicada en la membrana plasmática (Moog y Brüggemann, 1994) y, presumiblemente, en la pared celular de la zona apical de la raíz (Bienfait et al., 1983; Tipton y Thowsen, 1985; Römheld y Marschner, 1986). Por su parte, la ‘Estrategia II’ es aquella utilizada por las especies monocotiledóneas gramíneas, o pastos, y se caracteriza por la exudación radical de compuestos quelantes naturales y específicos del hierro, denominados ‘fitosideróforos’ (Takagi et al., 1984; Marschner y Römheld, 1994), y un sistema de absorción de alta afinidad asociado a ellos (Römheld y Marschner, 1986). Desde un punto de vista evolutivo, la Estrategia II tiene la ventaja de no verse afectada por un suelo calcáreo, a diferencia de la Estrategia I (Römheld y Marschner, 1986), por lo que las especies gramíneas son más eficientes en la adquisición del hierro (Römheld, 1987).

Los fitosideróforos han sido identificados como ácidos iminocarboxílicos sustituidos por grupos hidroxilos y aminos, obteniéndose, así, ácidos mugineicos. Estos compuestos están químicamente relacionados con la nicotinamida, un aminoácido ampliamente presente en las plantas superiores (Sugiura y Nomoto, 1984). La ruta biosintética de los ácidos mugineicos (AM) comienza con la metionina (Higuchi et al., 1996), la cual ha sido reconocida como precursor (Mori y Nishizawa, 1987). Ésta es suministrada por las raíces a través del ciclo de la metionina (Ma et al., 1999), en el cual se genera metionina como precursor de la síntesis de etileno en condiciones de estrés ambiental (Yang y Hoffman, 1984). A su vez, se han identificado intermediarios químicamente de la ruta, tales como la S-adenosilmetionina (SAM), que se sintetiza a partir de la metionina mediante la SAM sintetasa. A continuación, la sintasa de nicotianamina (NAS) combina tres moléculas de SAM para formar una molécula de nicotianamina (NA) (Higuchi et al., 1996). Esta NA se convierte luego en 3-cetoácido por la aminotransferasa nicotianamina (NAAT). Finalmente, se sintetiza el ácido deoximugineico (DMA) a través de una reductasa desconocida; hasta aquí, la ruta es igual en todas las especies (Aguado-Santacruz et al., 2012). Luego, otros ácidos mugineicos se forman mediante la hidroxilación del DMA (Nakanishi et al., 2000) (Figura 1); la ruta de síntesis de cada uno de ellos difiere entre especies y variedades (Murata et al., 2006). La secreción de los ácidos mugineicos se produce en la rizósfera; luego, estos quelantes naturales se unen con el hierro insoluble ( $Fe^{+3}$ ) en el medio del suelo, volviéndolo un poco más soluble en agua; finalmente, el hierro es transportado hacia las células de la raíz a través de un sistema altamente específico (Singh et al., 2011), debido a que este sistema reconoce el complejo AM-Fe, pero no el de cobre, zinc y cobalto, principalmente por diferencias en su estereoestructura (Nomoto et al., 1981; Mino et al., 1983). Dicho complejo, al ser soluble en agua, se moviliza hasta la zona radicular e ingresa a las células de la raíz, donde es absorbido (Curie et al., 2001). Cabe destacar que, frente al

déficit de hierro, los ácidos mugineicos son sintetizados por las gramíneas antes de que la clorosis aparezca, y que la biosíntesis será mayor mientras mayor sea la carencia (Takaji, 1984; Ma y Nomoto, 1996). Asimismo, una vez que el requerimiento de hierro por la planta es satisfecho, la síntesis de ácidos mugineicos se detiene, evitando, así, una toxicidad por hierro, debida a la absorción excesiva del mismo (Ma y Nomoto, 1996).

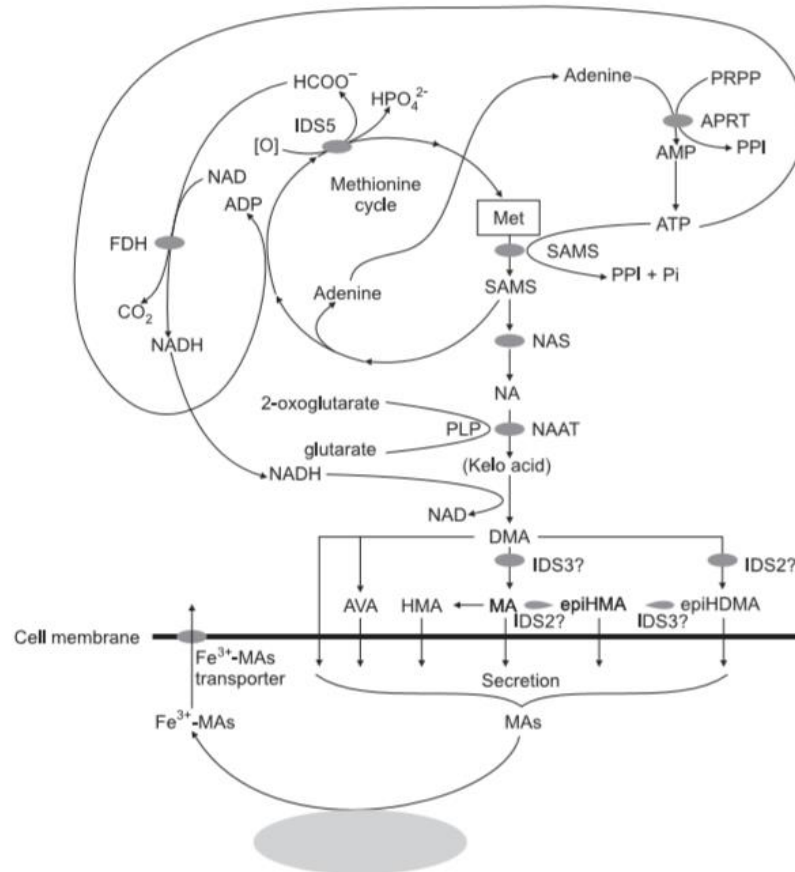


Figura 1. Mecanismo de adquisición del hierro en plantas 'Estrategia II' (Mori, 1998).

Numerosos estudios han reportado que la asociación del cultivo con especies gramíneas resulta una técnica eficiente para prevenir la clorosis férrica, tanto en especies anuales (Zuo et al., 2000; Inal et al., 2007; Zuo y Zhang, 2008) como en frutales (Tagliavini et al., 2000; Cesco et al., 2006; Ammari y Rombolà, 2008; Covarrubias et al., 2014). En este sentido, aunque se han llevado a cabo numerosos estudios con especies gramíneas anuales, tales como trigo (*Triticum aestivum* L.), maíz (*Zea mays* L.), sorgo (*Sorghum* spp.) y cebada (*Hordeum vulgare* L.), existe poca información disponible acerca de la respuesta de especies gramíneas perennes al déficit de hierro (Ma et al., 2003). Al respecto, los ensayos llevados a cabo en especies frutales han utilizado, generalmente, gramíneas perennes, como *Festuca rubra*, *Festuca ovina*, *Poa nemoralis*, *Poa pratensis*, *Lolium perenne* y *Bromus madritensis* (Cesco et al., 2006; Ammari y Rombolà, 2008; Bavaresco et al., 2010; Cañasveras et al., 2014; Covarrubias et al., 2014).

En general, la cantidad de ácidos mugineicos secretados por una especie gramínea es bastante consistente con su habilidad para tolerar el déficit de hierro (Kawai et al., 1988). Así, la *Festuca rubra* ha sido identificada como una especie altamente eficiente para la corrección de la clorosis férrica (Covarrubias y Rombolà, 2013), dada su elevada tasa de exudación de compuestos fitosideróforos (Ma et al., 2003). De hecho, Ma et al. (2003) caracterizaron la secreción de ácidos mugineicos de la *Festuca rubra* bajo condiciones de déficit de hierro y encontraron que la secreción de DMA está caracterizada por un ritmo diurno distintivo, produciéndose el ‘*peak*’ de secreción entre 2 y 5 horas después del amanecer, con una temperatura de 20°C. Asimismo, observaron que este ‘*peak*’ se retrasa 3 horas si la temperatura es baja (<10°C), y que se adelanta 3 horas cuando la temperatura es alta (30°C), confirmando que tanto la luz como la temperatura participan en la regulación diurna de la secreción de ácidos mugineicos (Takagi, 1990).

Cabe destacar que, hasta el momento, los productores de arándano de la zona central de Chile no han encontrado una técnica eficiente para controlar el déficit de hierro, que les permita producir con bajos costos y sin impactos negativos para el medioambiente. Sumado a ello, no existe en la literatura evidencia de que alternativas más sostenibles, tales como la aplicación de compuestos formulados a base de sangre bovina y la asociación del cultivo con especies gramíneas, hayan sido evaluadas como estrategias para corregir el déficit de hierro en el arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivado en un suelo calcáreo y alcalino, lo que vuelve novedosa, interesante e indispensable la siguiente investigación.

**LITERATURA CITADA**

Abadía, J.; A. Álvarez-Fernández; A.D. Rombolà; M. Sanz; M. Tagliavini and A. Abadía. 2004, dec. Technologies for the diagnosis and remediation of Fe deficiency. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(7): 965-971.

Abadía, J. 1992. Leaf responses to Fe deficiency: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 15(10): 1699–1713.

Abadía, A., M. Sanz, J. de las Rivas, and J. Abadía. 1989, oct. Pear yellowness; an atypical form of iron chlorosis? *Acta Horticulturae*, 256(1): 111-182.

Aguado-Santacruz, G.; B. Moreno-Gómez; B. Jiménez-Francisco; E. García-Moya y R. Preciado-Ortiz. 2012, ene-mar. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una síntesis. *Fitotecnia Mexicana*, 35(1): 9-21.

Altland, J.E.; M.G. Buamscha and D.A. Horneck. 2008, nov. Substrate pH affects nutrient availability in fertilized Douglas fir bark substrates. *Horticultural Science*, 43(7): 2171-2178.

Álvarez-Fernández, A.; J. Abadía and A. Abadía. 2006a. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. (cap. 4, pp. 85-101). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Álvarez-Fernández, A.; J. Abadía and A. Abadía. 2006b, apr. Evaluación química y agronómica de quelatos de hierro sintéticos. *Vida rural*, (227): 20-22 y 44-45.

Álvarez-Fernández A.; S. García-Marco and J.J. Lucena. 2005, jan. Evaluation of synthetic iron (III) - chelates (EDDHA/Fe<sup>+3</sup>, EDDHMA/Fe<sup>+3</sup> and EDDHSA/Fe<sup>+3</sup>) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy*, 22(2): 119-130.

Álvarez-Fernández, A.; P. García-Laviña; C. Fidalgo; J. Abadía and A. Abadía. 2004, jun. Foliar fertilization to control iron chlorosis in pear (*Pyrus communis* L.) trees. *Plant and Soil*, 263(1): 5-15.

Álvarez-Fernández, A.; P. Paniagua; J. Abadía and A. Abadía. 2003, sep. Effects of iron deficiency chlorosis on yield and fruit quality in peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(19): 5738–5744.

Baginsky, C.; O. Seguel y A. Contreras. 2010. Impacto de la utilización de cultivos y enmiendas orgánicas sobre la funcionalidad del suelo. Santiago, Chile: Universidad de Chile. 124p. (Serie Ciencias Agronómicas N°17).

- Bañados, M.P. 2009, mar. Expanding blueberry production into non-traditional production areas: northern Chile and Argentina, Mexico and Spain. *Acta Horticulturae*, 810(1): 439-444.
- Bañados, M.P. 2006, aug. Blueberry production in South America. *Acta Horticulturae*, 715(1): 165-172.
- Bavaresco, L.; M.I. Van Zeller; S. Civardi; M. Gatti and F. Ferrari, F. 2010, jun. Effects of traditional and new methods on overcoming lime-induced chlorosis of grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(2): 186-190.
- Bienfait, H.; J. Garcia-Mina and A.M. Zamarefio. 2004, jan. Distribution and Secondary Effects of EDDHA in Some Vegetable Species. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(7): 1103-1110.
- Bienfait, H.; R. Bino; A. van der Blik; J. Duiven-voorden and J. Fontain. 1983, oct. Characterization of ferric reducing activity in roots of Fe deficient *Phaseolus vulgaris*. *Physiology Plantarum*, 59(2): 196-202.
- Boxma, R. 1972, oct. Bicarbonate as the most important soil factor in the lime induced chlorosis in the Netherlands. *Plant and Soil*, 37(2): 233-243.
- Brady, N. and R. Weil. 2008. Soils of Dry Regions: Alkalinity, Salinity and Sodicty. (cap. 10, pp. 401-442). In: The nature and Properties of Soils. 14a. ed., rev. New Jersey, USA: Pearson Education, Inc. 975p.
- Brazelton, D. and B.C. Strik. 2007, jul. Perspective on the U.S. and global blueberry industry. *Journal of the American Pomological Society*, 61(3):144-147.
- Brennan, E. and W. Lindsay. 1998, jul. Reduction and oxidation effect on the solubility and transformation of iron oxides. *Soil Science Society of America Journal*, 62(4): 930-937.
- Broadley, M.; P. Brown; I. Cakmak; Z. Rengel and F. Zhao. 2011. Function of Nutrients: micronutrients. (cap. 7; pp.191-248). In: Marschner, H. (ed.). Mineral nutrition of higher plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.
- Cayuela, M.; G. Velthof; C. Mondini; T. Sinicco and J. van Groenigen. 2010, jul. Nitrous oxide and carbon dioxide emissions during initial decomposition of animal by-products applied as fertilisers to soils. *Geoderma*, 157(3-4): 235-242.
- Cesco, S.; A.D. Rombolà; M. Tagliavini; Z. Varanini and R. Pinton. 2006, sep. Phytosiderophores released by graminaceous species promote <sup>59</sup>Fe-uptake in citrus. *Plant and Soil*, 287(1): 223-233.
- Chen, Y. and P. Barak. 1982. Iron nutrition of plants in calcareous soils (cap. 7, pp. 217-240). In: Brady, N.C. (ed.). Advances in agronomy, Volume 35. London, England: Academic Press. 305p.



Ciavatta, C.; M. Govi; L. Sitti; and C. Gessa. 1997. Influence of blood meal organic fertilizer on soil organic matter: A laboratory study. *Journal of Plant Nutrition*, 20(11): 1573-1591.

Covarrubias, J.I.; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2014, feb. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1): 149-159.

Coulombe, B.; R. Chaney and W. Wiebold. 1984, nov. Bicarbonate directly induces iron chlorosis in susceptible soybean cultivars. *Soil Science Society of America Journal*, 48(6): 1297-1301.

Curie, C. and J.F. Briat. 2003, jun. Iron transport and signaling in plants. *Annual Review of Plant Biology*, 54: 183-206.

Curie, C.; Z. Panaviene; C. Loulergue; S. Dellaporta; J. Briat and E. Walker. 2001, jan. Maize yellow *stripe1* encodes a membrane protein directly involved in Fe(III) uptake. *Nature*, 409(6818): 346-349.

Dasgan, H.Y.; V. Römheld; I. Cakmak and K. Abak. 2002, apr. Physiological root responses of iron deficiency susceptible and tolerant tomato genotypes and their reciprocal F1 hybrids. *Plant and Soil*, 241(1): 97-104.

Essington, M. The soil chemical environment: an overview. (cap.1, pp. 1-34). In: Soil and water chemistry: an integrative approach. Florida, USA: CRC Press. 534p.

Fageria, N. 2009. Iron (cap. 10, pp. 301-325). In: The use of nutrient in crop plants. New York, USA: CRC Press. 448p.

FAO-Land and Plant Nutrition Management Service. 2000. Prosoil-problem soil database. [En línea]. Rome, Italy: FAO. Recuperado en: <<http://www.fao.org/ag/AGL/agll/prosoil/default.htm>> Consultado el: 15 de abril de 2014.

Faust, M. 1989. Nutrition of fruit trees. (cap. 2, pp. 53-132). In: Physiology of temperate zone fruit trees. New York, USA: John Wiley and Sons. 338p.

Fernández-Escobar, R. 2008. Fertilización. (cap. 9, pp. 297-336). En su: Barranco, D; R. Fernández-Escobar y L. Rallo (eds.). El cultivo del olivo. 6a. ed. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa. 846p.

Ferreira, R.; G. Selles; R. Ruiz; P. Gil y C. Barrera. 2008. Manejo de la clorosis férrica en palto. (Bol. INIA N°181), Estación Experimental V Región, Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA). La Cruz, Chile: Salesianos Impresores S.A. 60p.

Ferreira, R.; J. Peralta; A. Sadzawka; J. Valenzuela y C. Muñoz. 1998, abr-jun. Efecto de la aplicación de ácido sobre algunas características químicas de un suelo calcáreo. *Agricultura Técnica*, 58(2): 163-170.

Font Quer, P. 1985. “Calcífuga” (160 pp.). En su: Diccionario de botánica. Barcelona, España: Labor S.A. 1244p.

García-Marco, S. y J.J. Lucena. 2009, jan. Mercado español de quelatos férricos sintéticos: evolución de su calidad. *Phytoma*, (205): 32-36.

García-Marco, S.; N. Martínez; F. Yunta; L. Hernández-Apaolaza and J. Lucena. 2006, jan. Effectiveness of ethylenediamine-N-(o-hydroxyphenylacetic)-N’-(p hydroxyphenylacetic) acid (o,p-EDDHA) to supply iron to plants. *Plant and Soil*, 279(1): 31-40.

Gaskell, M. and R. Smith. 2007, oct-dec. Nitrogen sources for organic vegetable crops. *HortTechnology*, 17(4): 431-441.

Grčman, H.; Š. Velikonja-Bolta; D. Vodnik; B. Kos and D. Leštan. 2001, aug. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity. *Plant and Soil*, 235(1): 105–114.

Hagstrom, G.R. 1984. Current management practices for correcting iron deficiency in plants with emphasis on soil management. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5): 23-46.

Hanson, E. and J. Hancock. 1996, mar. Managing the nutrition of highbush blueberries. (Extension Bulletin E-2011), Michigan State University Extension. East Lansing, Michigan: Outreach Communications. 8p.

Hart, J.; B. Strik, L. White and W. Yang. 2006, nov. Nutrient management for blueberries in Oregon. (Nutrient Management guide, EM N° 8918), Oregon State University Extension Service. Covallis, Oregon: Oregon State University. 16p.

Häussling, M.; V. Römheld and H. Marschner. 1985. Relationship between chlorosis, iron and leaf growth in grapevines growing at different locations. *Vitis*, 24:158-168.

Hell, R. and U, Stephan. 2003, feb. Iron uptake, trafficking and homeostasis in plants. *Planta*, 216(4): 541–551.

Hernández-Apaolaza L.; Álvarez-Fernández, A. and Lucena, J.J. 2000. Chromatographic determination of commercial Fe(III)-chelates. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2035-2045.

Hether, N; R. Olsen and L. Jackson. 1984. Chemical identification of iron reductants exuded by plant roots. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5): 667-676.

Higuchi K.; K. Kanazawa; N. Nishizawa and S. Mori. 1996, jan. The role of nicotianamine synthase in response to Fe nutrition status in Gramineae. *Plant and Soil*, 178(2): 171–177.

Hirzel, J. (Ed.). 2014. El suelo como fuente nutricional. (cap. 2, pp. 69-109). En su: Diagnóstico nutricional y principios de fertilización en frutales y vides. 2a. ed., aum. y corr. Chillán, Chile: INIA Quilamapu. 322p. (Colección Libros INIA N°31).

Horesh, I.; Y. Levy and E. Goldschmidt. 1991. Correction of lime-induced chlorosis in container-grown citrus trees by peat and iron sulphate application to small soil volumes. (cap 5; pp. 345-349). In: Chen, Y. and Y. Hadar (*eds.*). Iron nutrition and interactions in plants. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 378p.

Horneck, D.; D. Wysocki; B. Hopkins; J. Hart and R. Stevens. 2006, oct. (EM N°8917-E). Acidifying soil for crop production East of the Cascades. Oregon State University Extension Service. Oregon, USA: Oregon State University. 15p.

Horneck, D.; J. Hart; R. Stevens; S. Petrie and J. Altland. 2004, feb. (EM N°8857-E). Acidifying Soil for Crop Production West of the Cascade Mountains. Oregon State University Extension Service. Oregon, USA: Oregon State University. 11p.

Imas, P. 2000. Integrated nutrient management for sustaining crop yields in calcareous soils. In: National Symposium on Balanced nutrition of groundnut and other field crops grown in calcareous soils of India (19-22 september 2000, Gujarat, India). [En línea]. Gujarat, India: International Potash Institute. Recuperado en: <<http://www.ipipotash.org/presentn/inmfscy.html>> Consultado el: 30 de abril de 2014.

Kalbasi, M. and H. Shariatmadari. 1993. Blood powder, a source of iron for plants. *Journal of Plant Nutrition*, 16(11): 2213-2223.

Kirkby, E. 2011. Introduction, definition and classification of Nntrients. (cap. 1, pp. 3-5). In: Marschner, H. (*ed.*). Mineral nutrition of higher plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.

Kosegarten, H.; B. Hoffmann and K. Mengel. 2001, apr. The paramount influence of nitrate in increasing apoplastic pH of young sunflower leaf to induce Fe deficiency chlorosis, and the re-greening effect brought about acid foliar sprays. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(2): 155-163.

Krauskopf, K. 1983. Geoquímica de los micronutrientes. (cap. 2, pp. 7-43). In: Mortvedt, J.; P. Giordano and W. Lindsay (*eds.*). Micronutrientes en agricultura. México D.F., México: Editorial A.G.P. 742p.

Krewer, G. and D. NeSmith. 2006. Blueberry Fertilization in Soil. (Fruit, N° 01-1), Georgia University Extension. Oregon, EE.UU: Georgia University Extension. 12p.

Lahav, E. y A. Whiley. 2007. Riego y nutrición mineral. (cap. 11, pp. 241-274). En: Whiley, A.; B. Schaffer and B. Wolstenholme (*eds.*). El palto: botánica, producción y usos. Valparaíso, Chile: CABI. 364p. (Ediciones Universitarias de Valparaíso).

Larbi, A.; A. Abadía; J. Abadía and F. Morales. 2006, sep. Down co-regulation of light absorption, photochemistry, and carboxylation in Fe-deficient plants growing in different environments. *Photosynthesis Research*, 89(2-3): 113–126.

Lindsay, W.L. 1995. Chemical reactions in soils that affect iron availability to plants: A quantitative approach. (cap. 2, pp. 7-14). In: Abadía, J. (ed.). Iron Nutrition in Soils and Plants. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 403p. (Developments in Plant and Soil Sciences Series N°59)

Loeppert, R.H. and D.L. Suarez. 1996. Carbonate and gypsum. (cap. 15, pp. 437-474). In: Sparks, D.L. (ed.). Methods of Soil Analysis: Part 3-Chemical Methods. Wisconsin, USA: American Society of Agronomy, Inc. 1390p. (Soil Science Society of America Book Series N°5).

Lombi, E.; M. Mc Laughlin; C. Johnston; R. Armstrong and R. Holloway. 2004, mar. Mobility and lability of phosphorus from granular and fluid monoammonium phosphate differs in a calcareous soil. *Soil Science Society of America Journal*, 68(2): 682–689.

Longstroth, M. s.f. Lowering the Soil pH with Sulfur. Michigan State University Extension. Michigan, USA: Michigan State University. 2p. Recuperado en: < [http://blueberries.msu.edu/uploads/files/Lowering\\_Soil\\_pH\\_with\\_Sulfur.pdf](http://blueberries.msu.edu/uploads/files/Lowering_Soil_pH_with_Sulfur.pdf) > Consultado el: 12 de Agosto de 2015.

López-Rayó, S.; M. Di Foggia; G. Bombai; F. Yunta; E. Rodrigues Moreira; G. Filippini; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2015, feb. Blood-derived compounds can efficiently prevent iron deficiency in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1): 135-142.

Loue, A. 1988. El hierro. (cap. 2, pp. 53-82). In: Los microelementos en la agricultura. Madrid, España: Mundi-Prensa. 354p.

Lucena J.J.; J.A. Sentís; M. Villén; T. Lao and M. Pérez-Sáez. 2008, jul. IDHA Chelates as a micronutrient source for green bean and tomato in fertigation and hydroponics. *Agronomy Journal*, 100(3): 813–818.

Lucena, J.J. 2006. Synthetic iron chelates to correct iron deficiency in plants. (cap. 5, pp. 103-128). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Lucena, J.J. 2003. Fe Chelates for Remediation of Fe Chlorosis in Strategy I Plants. *Journal of Plant Nutrition*, 26(10-11): 1969-1984.

Lucena, J.J.; M. Manzanares A. and Gárate. 1992. A test to evaluate the efficacy of commercial Fe-chelates. *Journal of Plant Nutrition*, 15(10):1553-1566.

Luzio, W.; O. Seguel y M. Casanova. 2010. Suelos de la zona mediterránea árida. (cap. 4, pp. 125-194). En: Luzio, W. (ed.). Suelos de Chile. Santiago, Chile: Universidad de Chile. 364p.

Ma, J.F.; H. Ueno; D. Ueno; A.D. Rombolà and T. Iwashita. 2003, sep. Characterization of phytosiderophore secretion under Fe deficiency stress in *Festuca rubra*. *Plant and Soil*, 256(1): 131-137.

Ma, J.F.; S. Takeda; Y. Chong; T. Iwashita; H. Matsumota; K. Takeda and K. Nomoto. 1999, feb. Gene controlling hydroxylations of phytosiderophores are located at the different chromosomes in barley (*Hordeum vulgare*). *Planta*, 207(4): 590–596.

Ma, J.F. and K. Nomoto. 1996, jul. Effective regulation of iron acquisition in graminaceous plants. The role of mugineic acids as phytosiderophores. *Physiologia Plantarum*, 97(3): 609-617.

Marschner, H. and V. Römheld. 1994, jun. Strategies of plants for acquisition of iron. *Plant and Soil*, 165(2): 261–274.

Marschner, H.; V. Römheld and M. Kissel. 1986. Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *Journal of Plant Nutrition*, 9(3-7): 695-713.

Mendoza, H. 2000. Alcalinidad y salinidad: diagnóstico, efecto sobre la producción y soluciones. En: Simposio Internacional Fertirrigación y control en frutales y viñas. (1º, agosto 2000, Santiago). Santiago, Chile: Bioamerica. 17p.

Mengel, K.; E. Kirkby; H. Kosegarten and T. Appel (Eds.). 2001. The soil as a plant nutrient medium (cap. 2, pp. 15-110) In: Principles of Plant Nutrition. 5a. ed. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 849p.

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

Mengel, K.; W. Bübl and H. Scheren. 1984. Iron distribution in vine leaves with  $\text{HCO}_3^-$  induced chlorosis. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5):715-724.

Mino, Y.; T. Ishida; N. Ota; M. Inoue; K. Nomoto; T. Takemoto; H. Tanaka and Y. Sugiura. 1983, jul. Mugineic acid - iron (III) complex and its structurally analogous cobalt (III) complex: characterization and implication for absorption and transport of iron in gramineous plants. *Journal of the American Chemical Society*, 105(14): 4671-4676.

Miyamoto, S. 1998. Use of acids and acidulants on alkali soils and water. (cap 8, pp. 217-255). In: Wallace, A. and R.E. Terry. (eds.). Handbook of soil conditioners: substances that enhance the physical properties of soil. New York, USA: Marcel Dekker. 600p.

Mondini, C.; M. Cayuela; T. Sinicco; M. Sánchez-Monedero; E. Bertolone and L. Bardi. 2008 feb. Soil application of meat and bone meal. Short term effects on mineralization

dynamics and soil biochemical and microbiological properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(2): 462-474.

Moog, P. and W. Brüggemann. 1994, jun. Iron reductase systems on the plant plasma membrane - A review. *Plant and Soil*, 165(2): 241-260.

Morales, F.; R. Belkhodja; A. Abadía and J. Abadía. 2000, jan. Photosystem II efficiency and mechanisms of energy dissipation in iron-deficient, field-grown pear trees (*Pyrus communis* L.). *Photosynthesis Research*, 63(1): 9–21.

Mori, S. 1999, jun. Iron acquisition by plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2(3): 250-253.

Mori, S. 1998. Iron transport in graminaceous plants. (cap 6; pp. 215-238). In: Sigel, A. and H. Sigel (eds.). Metal Ions in Biological System, Vol. 35: Iron transport and storage in microorganisms, plants and animals. New York, EE.UU: Marcel Dekker, Inc. 778p.

Mori, S. and N. Nishizawa. 1987, sep. Methionine as a dominant precursor of phytosiderophores in graminaceous plants. *Plant Cell Physiology*, 28(6): 1081-1092.

Mortvedt, J. 2000. Bioavailability of micronutrients. (sec. D, cap. 2, pp. D71-D78). In: Sumner, M. (ed.). Handbook of Soil Science. Florida, USA: CRS Press. 2048p.

Mukherjee, I.; N.H. Campbell; J.S. Ash and E.L. Connolly. 2006, may. Expression profiling of the *Arabidopsis* ferric chelate reductase (FRO) gene family reveals differential regulation by iron and copper. *Planta*, 223(6): 1178-1190.

Murata, Y.; J.F. Ma; N. Yamaji; D. Ueno; K. Nomoto and T. Iwashit. 2006, apr. A specific transporter for iron(III) - phytosiderophore in barley roots. *The Plant Journal*, 46(4): 563-572.

Nakanishi H.; H. Yamaguchi; T. Sasakuma; N. Nishizawa and S. Mori. 2000, sep. Two dioxygenase genes, IDS3 and IDS2, from *Hordeum vulgare* are involved in the biosynthesis of mugineic acid family phytosiderophores. *Plant Molecular Biology*, 44(2): 199–207.

Navarro, G. 2003. Química agrícola. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa. 487p.

Nikolic, M. and V. Römheld. 2003, jul. Nitrate Does Not Result in Iron Inactivation in the Apoplast of Sunflower Leaves. *Plant Physiology*, 132(3): 1303-1314.

Nikolic, M. and R. Kastori. 2000. Effect of bicarbonate and Fe supply on Fe nutrition of grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 1619–1627.

Nikolic, M.; R. Dzamic and D. Stevanovic. 1998, nov. Use of sulfuric acid to prevent iron chlorosis in grapevine grafts on calcareous soil. *Acta Horticulturae*, 477(1): 153-158.

Nomoto, K.; H. Yoshioka; M. Arima; S. Fushiya; S. Takagi and T. Takemoto. 1981. Structure of 2'-deoxymugineic acid, a novel amino acid possessing an iron-chelating activity. *Chimia*, 35: 249-250.

Nörtemann, B. 1999, jun. Biodegradation of EDTA. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 51(6): 751-759.

ODEPA/CIREN. 2012. Catastro frutícola 2012: Principales Resultados. Santiago, Chile: Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, Centro de Información de Recursos Naturales. 40p.

Orellana, J. 2013. Análisis de la exportación y concentración de mercados de empresas exportadoras de arándanos en Chile entre el periodo 2009-2012. Memoria Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 43h.

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

Paredes-López, O.; M. Cervantes-Ceja; M. Vigna-Pérez and T. Hernández-Pérez. 2010, sep. Berries: improving human health and healthy aging, and promoting quality life - A review. *Plant Foods for Human Nutrition*, 65(3): 299-308.

Parker, S.; J. Weil and B. Richman (Eds.). 1991. "Calcífuga". (68 pp.). En su: Diccionario McGraw-Hill de Biología: bilingüe (español-inglés, english-spanish). México: McGraw-Hill. 630p. (Diccionarios McGraw-Hill de ciencia y tecnología).

Pestana M.; A. De Varennes and E. Araújo. 2003, jan. Agriculture diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: a review. *Food, Agriculture and Environment*, 1(1): 46-51.

Porta, J.; M. López-Acevedo y C. Roquero. 2003. Salinización y sodificación: suelos de regadío. (cap. 24, pp. 727-776). En su: Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa. 929p.

Razeto, B. 2006. Nutrición mineral. (cap. 4, pp. 203-276). En su: Para entender la Fruticultura. 4a. ed., aum. y corr. Santiago, Chile: Salesianos S.A. 518p.

Regulation EC N° 1.774/2002. Health rules concerning animal byproducts not intended for human consumption. Union European: FAOLEX, 2002. [Published in Official Journal L273 on: October 10<sup>th</sup>, 2002].

Retamales, J.; M.J. Palma; Y. Morales; G. Lobos; C. Moggia and C. Mena. 2014, mar. Blueberry Production in Chile: Current Status and Future Developments. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1): 58-67.

Retamales, J. and F. Hancock. 2012a. Nutrition. (cap. 5, pp. 103-142). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Retamales, J. and F. Hancock. 2012b. Blueberry Taxonomy and Breeding. (cap. 2, pp. 19-49). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Rodríguez, V.; M. Beltrán; J. Lerma y M. Licón. 1998, mar. 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 G. Sorrenti. 2006. Fertilización y diagnosis del estado nutricional de las especies frutales. *Fruticultura profesional*, (161): 5-18.

Rombolà, A.D. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. (cap. 3, pp. 61-83). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Rombolà, A.D.; W. Brüggemann; A.F. López-millán; M. Tagliavini; J. Abadía; B. Marangoni and P.R. Moog. 2002, aug. Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology*, 22(12): 869-875.

Römheld, V. 2000, oct. The Chlorosis Paradox: Fe Inactivation as a Secondary Event in Chlorotic Leaves of Grapevine. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 1629-1643.

Römheld, V. 1987, jun. Different strategies for iron-acquisition in higher plants. *Physiology Plantarum*, 70(2): 231-234.

Römheld, V. and H. Marschner. 1986, jan. Evidence for a Specific Uptake System for Iron Phytosiderophores in Roots of Grasses. *Plant Physiology*, 80(1): 175-180.

Römheld, V.; C. Muller and H. Marschner. 1984, nov. Localization and capacity of proton pumps in roots of intact sunflower plants. *Plant Physiology*, 76(3): 603-606.

Rowell, D. 1992. Acidez y alcalinidad del suelo. (cap. 25, pp. 885-940). En: Wild, A. (ed.). Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Madrid, España: Mundi-Prensa. 1045p.

Ruíz, R.; R. Ferreyra; O. Reckman; F. Casado; C. Sotomayor y J. Castro. 2012, abr. Clorosis férrica en especies frutales: nuevas alternativas de corrección. *Revista Frutícola*, 33(1): 26-29.

Ruíz, R. 2006. Manejo de suelo y nutrición en suelos con problemas de aireación (cap. 8, pp. 93-106). En: Seminario Manejo del riego y suelo en el cultivo del palto (septiembre del 2006, Quillota, Chile). Santiago, Chile: Centro Regional de Investigación 'La Platina'. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. 20p.

Schmidt, W. 1999, jan. Review: Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. *New Phytologist*, 141(1): 1-26.



Schmidt, W. 2001, apr. From faith to fate: Ethylene signaling in morphogenic responses to P and Fe deficiency. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(2): 147-154.

Seeram, N. 2008, jan. Berry fruits: compositional elements, biochemical activities, and the impact of their intake on human health, performance and disease. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(3): 627-629.

Sierra, C.; A. Lancellotti e I. Vidal. 2007, abr-jun. Azufre elemental como corrector del pH y la fertilidad de algunos suelos de la III y IV Región de Chile. *Agricultura técnica*, 67(2): 173-181.

Sims, J.T. 1985, jul. Soil pH effects on the distribution and plant availability of Manganese, Copper and Zinc. *Soil Science Society of America Proceedings*, 50(2): 367-373.

Singh, K.; Y. Singh; A. Upadhyay and S. Mori. 2011, aug. Phytosiderophore-based molecular approach for enhanced iron acquisition to increase crop production under high pH calcareous soils. *Indian Journal of Agricultural Sciences*, 81(8): 679-689.

Sneddon, I.; M. Orueetxebarria; M. Hodson; P. Schofield and E. Valsami-Jones. 2008, ago. Field trial using bone meal amendments to remediate mine waste derived soil contaminated with zinc, lead and cadmium. *Applied Geochemistry*, 23(8): 2414-2424.

Sorrenti, G.; M. Toselli and B. Marangoni. 2012, mar. Use of compost to manage Fe nutrition of pear trees grown in calcareous soil. *Scientia Horticulturae*, 136(1): 87-94.

Stanley, K. 1999, jun-aug. Evolutionary Trends in the Grasses (*Poaceae*): A Review. *The Michigan Botany*, 38(1): 3-12.

Strik, B.C. 2007, jul. Horticultural practices of growing highbush blueberries in the ever-expanding U.S. and global scene. *Journal of the American Pomological Society*, 61(3):148-150.

Sugiura, Y. and K. Nomoto. 1984. Phytosiderophores: Structures and properties of mugineic acids and their metal complexes (cap. 4, pp. 107-135). In: Chimiak, A. (ed.). Siderophores from Microorganisms and Plants. Heidelberg, Germany: Springer. 143p. (Structure and Bonding Series N°58).

Tagliavini, M. and A.D. Rombolà. 2001, oct. Review: Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems. *European Journal of Agronomy*, 15(2): 71-92.

Tagliavini, M.; J. Abadía; A.D. Rombolà; A. Abadía; C. Tsipouridis and B. Marangoni. 2000. Agronomic means for the control of iron chlorosis in deciduous fruit trees. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2007-2022.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. Mineral nutrition (cap. 5, pp. 107-130). In: Plant physiology. 5a. ed. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc. 782p.

- Takagi S.; K. Nomoto and S. Takemoto. 1984. Physiological aspect of mugineic acid, a possible phytosiderophore of graminaceous plants. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5): 469–477.
- Tan, K.H. 1998. Soil reaction. (cap. 9, pp. 357-394). In: Principles of soil chemistry. 3a. ed., rev. and exp. New York, USA: Marcel Dekker, Inc. 560p.
- Tenuta, M. and G. Lazarovitis. 2004, mar. Soil properties associated with the variable effectiveness of meat and bone meal to kill microsclerotia of *Verticillium dahliae*. *Soil Ecology*, 25(3): 219-236.
- Terry, N. and J. Abadía. 1986. Function of iron in chloroplasts. *Journal of Plant Nutrition*, 9(3-7): 609–646.
- Tessarín, P.; F. Yunta; E. Ingrosso; A. Boliani; J.I. Covarrubias and A.D. Rombolà. 2013, apr. Improvement of grapevine iron nutrition by a bovine blood-derived compound. *Acta Horticulturae*, 1(984): 335-338.
- Thomine, S and V. Lanquar. 2011. Iron transport and signaling in plants (pt. II, pp. 99-131). In: Geisler, M and K. Venema (eds.). Transporters and pumps in plant signaling. Heidelberg, Germany: Springer. 388p. (Signaling and Communication in Plants Series N°7)
- Tipton, C and J. Thowsen. 1985, oct. Fe<sup>+3</sup> reduction in cell walls of soybean roots. *Plant Physiology*, 79(2): 432-435.
- Toulon, V.; H. Sentenac; J.B. Thibaud, J.C. Davidian; C. Moulineau and C. Grigno. 1992, jan. Role of apoplast acidification by the H<sup>+</sup> pump: Effect on the sensitivity to pH and CO<sub>2</sub> of iron reduction by roots of *Brassica napus* L. *Planta*, 186(2):212-218.
- Van-Camp, L.; B. Bujarrabal; A.R. Gentile; R.J. Jones; L. Montanarella; C. Olazabal and S.K. Selvaradjou (eds.). 2004. Reports of the technical working groups established under the thematic strategy for soil protection. Volume 3: Organic matter. Ispra, Italy: European Communities. 195p.
- Vose, P. 1982. Iron nutrition in plants: a world overview. *Journal of Plant Nutrition*, 5(4-7): 233-249.
- Wallace, A.; G.A. Wallace and J.W. Cha. 1992. Some modifications in trace metal toxicities and deficiencies in plants resulting from interactions with other elements and chelating agents - The special case of iron. *Journal of Plant Nutrition*, 15(10):1589-1598.
- Welkie, G.W. and G.W. Miller. 1993. Plant iron uptake physiology by nonsiderophore systems. (cap. 16, pp. 345-369). In: Barton, L. and B. Hemming (eds.). Iron chelation in plants and soil microorganisms. California, USA: Academic Press. 506p.

White, P. 2011. Long-distance Transport in the Xylem and Phloem (cap. 3, pp. 49-70). In: Marschner, H. (*ed.*). Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.

Yang, S.F. and N.E. Hoffman. 1984, jun. Ethylene Biosynthesis and its Regulation in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology*, 35(1): 155-189.

Yunta, F.; F. Di Foggia; V. Bellido; M. Morales; P. Tessarin; S. López-Rayó; A. Tinti; K. Kovács; Z. Klencsár; F. Fodor and A. Rombolà. 2013, apr. Blood meal-based compound. Good choice as iron fertilizer to be used in organic farming. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17): 3995-4003.

Zafra-Stone, S.; T. Yasmin; M. Bagchi; A. Chatterjee; J. Vinson and D. Bagchi. 2007, jun. Berry anthocyanins as novel antioxidants in human health and disease prevention. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(6): 675-683.

## **CAPÍTULO II: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN LA CONCENTRACIÓN DE CLOROFILA Y EL INTERCAMBIO GASEOSO FOLIAR DE ARÁNDANOS ‘EMERALD’**

### **RESUMEN**

El déficit de hierro es un problema nutricional común en suelos calcáreos y alcalinos, resultando particularmente perjudicial para las especies calcífugas, como el arándano alto, el cual ve afectadas su longevidad y productividad, crecimiento de raíces y brotes, y rendimiento y calidad de baya. Las técnicas de manejo tradicionales se basan en aplicaciones repetidas de quelatos de hierro y/o ácidos fuertes, las cuales implican altos costos, y riesgos ambientales y de salud. Como consecuencia, se evaluaron dos técnicas de manejo sostenible: (1) aplicación de un formulado a base de sangre bovina y (2) asociación del cultivo con especies gramíneas, siendo elegidas *Festuca rubra rubra* y *Poa pratensis*.

Con el objetivo de estudiar el efecto de estas técnicas en la concentración de clorofila y el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’, se utilizó un diseño en cuadrado latino, con 5 tratamientos (testigo, quelato Fe-EDDHA, sangre bovina, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) y 5 repeticiones. Se estimó la concentración de clorofila foliar, a través de la medición del índice SPAD, durante toda la temporada. Asimismo, se evaluó fotosíntesis neta, conductancia estomática, transpiración, temperatura foliar y radiación incidente a inicios de cosecha y una vez finalizada la misma. Por otro lado, con el fin de determinar el efecto del déficit de hierro sobre el intercambio gaseoso foliar, se evaluaron estos mismos parámetros en hojas con distinto grado de clorosis férrica: intensa, moderada y sin clorosis.

Se observó que, mientras mayor es la severidad de la clorosis férrica, la intensidad del intercambio gaseoso foliar disminuye progresivamente, a excepción de la temperatura foliar, que evidencia el comportamiento opuesto. Asimismo, se encontró que la clorosis férrica aumenta en mayor medida la eficiencia de uso de la clorofila que la eficiencia intrínseca de uso del agua. Respecto de los tratamientos, la aplicación de un formulado a base de sangre bovina no logró incrementar la concentración de clorofila foliar, por lo cual no resultó una técnica eficaz para controlar la clorosis férrica en arándanos ‘Emerald’ y, por ende, tampoco favoreció el intercambio gaseoso foliar. En contraste, la asociación con ambas especies gramíneas aumentó la concentración de clorofila foliar, por lo cual representa una estrategia sostenible eficaz y eficiente para corregir la clorosis férrica, favoreciendo, así, el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’.

**Palabras clave:** asociación con gramíneas, clorosis férrica, fotosíntesis, índice SPAD, sangre bovina, *Vaccinium corymbosum*

## ABSTRACT

Iron deficiency is a common nutritional problem in calcareous and alkaline soils, being particularly harmful to calcifuges species such as highbush blueberry, being affected its longevity and productivity, root and shoot growth, and berry yield and quality. Traditional techniques are based on repeated applications of iron chelates and strong acids, which implies high costs and environmental and health risks. As a consequence, two sustainable techniques were evaluated: (1) application of a bovine blood meal compound and (2) intercropping with graminaceous species, being selected *Festuca rubra rubra* and *Poa pratensis*.

In order to study the effect of these techniques in chlorophyll concentration and leaf gas exchange on 'Emerald' blueberry, a latin square design was used, with 5 treatments (control, Fe-EDDHA chelate, bovine blood meal, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) and 5 replicates. Throughout the season, leaf chlorophyll concentration was estimated through its SPAD index. In addition, net photosynthesis, stomatal conductance, transpiration, leaf temperature and incident radiation were evaluated at the beginning and the end of harvest. Furthermore, in order to determine the effect of iron deficiency on leaf gas exchange, these parameters were evaluated in leaves with different degrees of iron chlorosis: severe, moderate and no chlorosis.

It was observed that, as severity of iron chlorosis increases, foliar gas exchange parameters decreases progressively, with the exception of leaf temperature, which has the opposite behavior. We also found that iron deficiency further increases chlorophyll use efficiency than intrinsic water use efficiency. Regarding the treatments, the application of bovine blood meal did not increase leaf concentration chlorophyll, so it was not an effective technique to control iron chlorosis in blueberry 'Emerald' and, therefore, did not improve foliar gas exchange. In contrast intercropping with both graminaceous species increased leaf chlorophyll concentration, so it represents an effective and efficient sustainable strategy to control iron chlorosis, improving leaf gas exchange in 'Emerald' blueberry.

**Keywords:** intercropping with graminaceous, iron chlorosis, photosynthesis, SPAD index, bovine blood meal, *Vaccinium corymbosum*

## INTRODUCCIÓN

El déficit de hierro (Fe) es un problema nutricional generalizado en muchas especies leñosas cultivadas en suelos calcáreos y alcalinos (Bertamini et al., 2002), donde su biodisponibilidad suele ser insuficiente para satisfacer las necesidades de las plantas (Lindsay y Schwab, 1982), debido a la baja solubilidad que presenta el elemento en estas condiciones (Eichert et al., 2010). En tal contexto, el arándano alto, especie calcífuga por excelencia (Mengel et al., 2001), se ve particularmente perjudicado frente a esta carencia, viendo afectados su crecimiento, desarrollo y productividad (Rombolà y Tagliavini, 2006). Esto se debe a que el Fe es un elemento que participa en múltiples procesos metabólicos y enzimáticos de la planta, de los cuales destacan el transporte de oxígeno, la biosíntesis de la clorofila y el ADN, la fijación de nitrógeno y la fotosíntesis (Briat, 2007; Jeong y Guerinot, 2009).

La fotosíntesis, uno de los procesos fisiológicos más importantes para el desarrollo, constituye la base principal para la formación de los carbohidratos que determinan el rendimiento y la calidad (Huairui et al., 1993, citado por Li et al., 2012). Así, su importancia radica en que el 90 a 95% del peso seco de las plantas está constituido por los compuestos de carbono que se producen como resultado de este proceso (Tromp, 2005). En este sentido, se ha señalado que el aparato fotosintético de las plantas es uno de los sistemas celulares más ricos en Fe (Behrenfeld et al., 1996; Varotto et al., 2002), puesto que alrededor del 80% del Fe foliar se localiza en los cloroplastos y, de éste, cerca del 60% está ubicado en las membranas tilacoidales (Terry y Abadía, 1986). Así, plantas que crecen con un limitado suministro de Fe exhiben marcados cambios en la estructura y funcionamiento del cloroplasto (Abadía, 1992) debido, principalmente, a una disminución en la concentración de los componentes de la membrana tilacoidal, en particular de los pigmentos fotosintéticos, es decir clorofilas y carotenos (Taiz y Zeiger, 2010).

Al respecto, se ha señalado que la clorofila foliar integra dos complejos supramoleculares formados por un pigmento y un polipéptido (Anderson et al., 1978; Camm y Green, 1981), los cuales han sido denominados ‘complejo centro de reacción’ y ‘complejo antena’ (Camm y Green, 1981). Si bien ambos contienen clorofila *a*, los ‘complejos antena’ poseen, además, clorofila *b* y xantofila, mientras que los ‘complejos centro de reacción’ poseen caroteno. Por lo tanto, los ‘complejos antena’ recogen la energía de la luz y la transfieren a través de los ‘complejos centros de reacción’. Estos complejos pigmento-proteína constituyen unidades llamadas fotosistema I y fotosistema II, cada una de las cuales es considerada una unidad estructural y funcional capaz de llevar a cabo la cosecha de luz y el transporte electrónico fotosintético (Terry y Abadía, 1986).

Bajo este contexto, la clorosis típica que causa el déficit de Fe en las hojas jóvenes se debe a una disminución en la concentración, por unidad de área, de clorofilas y carotenos (Terry y Abadía, 1986; Abadía y Abadía, 1993; Morales et al., 1994), viéndose particularmente afectados la neoxantina, el  $\beta$ -caroteno y la clorofila *a* (Morales et al., 1994; Abadía et al., 1999), lo que conlleva a una disminución en la capacidad de absorbancia de la hoja (Abadía

et al., 1999) y, como consecuencia, a la saturación de la fotosíntesis con una menor intensidad de luz (Terry, 1983; Morales et al., 1998).

Un método que ha sido ampliamente utilizado para estimar de manera rápida y no destructiva la concentración foliar de clorofila en varias especies es el índice SPAD (Campbell et al., 1990; Markwell et al., 1995; Richardson et al., 2002; Yamamoto et al., 2002). Éste se obtiene mediante un instrumento denominado *chlorophyll meter*, el cual funciona emitiendo luz a dos longitudes de onda, 650 y 940 nm, a través de la hoja (Sainz Rozas y Echeverría, 1998; Villar y Ortega, 2003). Una fracción de la luz emitida es absorbida por la clorofila contenida en el tejido foliar; por su parte, la fracción reflejada es censada como una señal eléctrica por la celda detectora. Así, la proporción de luz captada por la celda detectora es inversamente proporcional a la cantidad de luz absorbida por la clorofila. Luego, la señal es procesada, la absorbancia es cuantificada por el detector y es expresada mediante un valor adimensional que va de 0 a 199; éste valor es el índice SPAD (Krugh et al., 1994; Villar y Ortega, 2003). De esta manera, el índice SPAD que arroja el *chlorophyll meter* indica la intensidad del color verde del tejido vegetal, la cual se relaciona positiva y significativamente con la concentración de clorofila de la hoja (Yadava, 1986; Syvertsen, 1987), representando una herramienta potencialmente útil para cuantificar la severidad de la clorosis férrica en numerosas especies (Peryea y Kammereck, 1997).

Por otro lado, dado que el Fe no sólo está implicado en la síntesis de las clorofilas, sino que forma parte de las ferredoxinas y citocromos (Loue, 1988; Taiz y Zeiger, 2010; Broadley et al., 2011), una carencia de Fe afecta tanto los pigmentos colectores de luz (Morales et al., 1994; Abadía et al., 1999; Gogorcena et al., 2001) como los transportadores de electrones (Spiller y Terry, 1980; Terry, 1980). Asimismo, se ha reportado que el Fe participa en la regulación de las enzimas del ciclo de Calvin, por lo cual la clorosis férrica disminuye la capacidad de carboxilación de la ribulosa 1,5-bifosfato, debido a una menor activación de la enzima Rubisco (Taylor y Terry, 1986; Winder y Nishio, 1995). De esta manera, dados los numerosos puntos de acción del Fe en el aparato fotosintético de la planta, la carencia de este elemento conduce a una marcada reducción en la capacidad fotosintética de la misma (Morales et al., 1998; Abadía et al., 1999).

En este sentido, los parámetros que integran el proceso fotosintético, o bien, el intercambio gaseoso foliar, se encuentran estrechamente vinculados (Tromp, 2005). Así, numerosos trabajos han reportado una relación lineal positiva entre la fotosíntesis y la conductancia estomática (Chaumont et al., 1994; Schubert et al., 1996; Li et al., 2001; 2005) y, a su vez, entre esta última y la transpiración (Li et al., 2001, 2005; Duan et al., 2008). Por su parte, se ha observado que una menor transpiración conduce a un aumento de la temperatura foliar, con el consecuente daño fotooxidativo de los cloroplastos (Duan et al., 2008).

Cabe señalar que, bajo las mismas condiciones hídricas, nutricionales y ambientales, un factor que modifica la fotosíntesis neta es la presencia de fruta en la planta (Tromp, 2005), por lo que es importante considerar este aspecto al momento de evaluar el intercambio gaseoso foliar. Dado que los frutos representan el principal sumidero de fotoasimilados en los árboles frutales, siendo la materia seca de la fruta superior al 50% del total de un árbol al momento de cosecha (Pavel y Dejong, 1993), se ha observado que la actividad fotosintética de las especies frutales disminuye luego de la remoción de la fruta (Gucci et

al., 1995; Iglesias et al., 2002; Li et al., 2005; Duan et al., 2008); sin embargo, en ninguno de estos casos, se trabajó con plantas deficientes de Fe.

Si bien existen técnicas eficientes para controlar el déficit de Fe en campo, las cuales consisten, principalmente, en la acidificación del agua de riego y la aplicación de quelatos sintéticos vía riego y/o foliar (Pestana et al., 2003), estos métodos son cuestionados, actualmente, debido al alto costo, peligrosidad y elevado potencial contaminante que representan (Rombolà y Tagliavini, 2006). Así, con el objetivo de encontrar alternativas sostenibles que sean eficientes de una manera más económica y menos nociva para el ambiente, se ha evaluado el uso de formulados a base de sangre animal (Tagliavini et al., 2000; Sorrenti et al., 2012; Tessarin et al., 2013; López-Rayó et al., 2015) y la asociación del cultivo con especies gramíneas (Zuo et al., 2000; Zuo y Zhang, 2008; Cesco et al., 2006; Inal et al., 2007; Ammari y Rombolà, 2008; Covarrubias et al., 2014).

Al respecto, a pesar de que numerosos trabajos, realizados en distintas especies frutales, han demostrado la eficiencia de estas técnicas para controlar el déficit de Fe, no existen reportes de su efecto en el arándano alto y, a su vez, pocos han incluido mediciones del intercambio gaseoso foliar. Sumado a ello, en la actualidad, no se conoce del todo cómo el déficit de Fe afecta la asimilación de carbono en la hoja (Chen et al., 2004) e, incluso, no existen estudios acerca del efecto del déficit de Fe sobre el intercambio gaseoso foliar en el arándano ‘Emerald’, lo que le atribuye una especial relevancia al siguiente estudio.

### **Hipótesis**

El uso de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro, basadas en la aplicación de un compuesto derivado de sangre animal y en la asociación del cultivo con especies gramíneas, modifica la concentración foliar de clorofila y el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro.

### **Objetivos**

Caracterizar el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro.

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro en la concentración foliar de clorofila y en el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’.



## MATERIALES Y MÉTODO

### Ubicación del estudio

La investigación se llevó a cabo entre marzo del 2014 y abril del 2015.

La parte experimental se realizó en el huerto comercial “Los Fundos-Catemu S.A.”, ubicado en La Poza s/n, Localidad del Ñilhue, Comuna de Catemu, Provincia de San Felipe de Aconcagua, Región de Valparaíso (32°42'S y 70°54'O, 560 m.s.n.m.). El sector del huerto en el cual se ejecutó el estudio fue plantado en el año 2012, se encuentra en ladera y posee camellones de 0,9 m de ancho y 0,4 m de alto.

Cabe destacar que el huerto, y en particular el cuartel utilizado para el estudio, fue elegido en base a los resultados de un análisis químico de suelo (Cuadro 1), realizado en enero del 2014, el cual evidenció la presencia de elevadas concentraciones de carbonatos totales y caliza activa. En consecuencia, el suelo del sector presentó condiciones idóneas para inducir la carencia de hierro en las plantas.

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.

Variable	Unidad	Entre-hilera	Sobre-hilera	Condición*
pH	-	7,7	7,5	Alcalino
RAS	-	0,7	0,9	Normal
Cond. Eléctrica	dS m <sup>-1</sup>	3,3	3,2	Lev. salino
Materia orgánica	%	1,1	1,9	Bajo
Calcio	meq/100 g	21,1	20,6	Alto
	% CIC	70	79	
Magnesio	meq/100 g	4,1	3,6	Alto
	% CIC	14	14	
Bicarbonatos	mg L <sup>-1</sup>	159	104	Regular
Carbonato total	% CaCO <sub>3</sub>	1,2	2,0	Alto
Caliza activa	% CaCO <sub>3</sub>	1,0	1,0	Alto

\* Según nivel adecuado para huerto de arándanos (Hirzel, 2014).

La parte analítica del experimento se realizó en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, la cual se encuentra ubicada en la Comuna de La Pintana, Región Metropolitana. La determinación de la concentración foliar de clorofila se realizó en el Laboratorio de Nutrición Vegetal, perteneciente al Departamento de Producción Agrícola.

## Material biológico

Se utilizaron plantas de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) ‘Emerald’ de 4 años de edad, las cuales se encontraban bajo un marco de plantación de 3 x 0,8 m, establecidas sobre camellones de orientación noroeste-sureste y con un sistema de riego por goteo, formado por una doble línea de goteros, distanciados a 40 cm y cuyo caudal era de 4 L h<sup>-1</sup>.

Al inicio del experimento, las plantas evidenciaban notables síntomas de clorosis en sus hojas apicales (Apéndice I, Foto 1). Para corroborar que se trataba de una clorosis férrica y descartar, así, cualquier otro tipo de déficit nutricional, se seleccionaron, al azar, 5 plantas cloróticas, en cada una de las cuales se marcó un brote representativo. A cada brote se le midió el índice SPAD, para lo cual se utilizó un *chlorophyll meter* portátil (SPAD Minolta 502, Konica Minolta, Osaka, Japón). La medición se realizó en la primera hoja completamente expandida de los brotes; los valores estuvieron en el rango de 20 a 25. Luego, los brotes fueron sumergidos varias veces en una solución de quelato de hierro sintético Fe-EDTA a una concentración de 2 mM y pH 6,0, con el objetivo de mojar completamente la superficie de las hojas apicales. A los 10 días se repitió la medición del índice SPAD en cada uno de los brotes marcados, y los resultados obtenidos arrojaron valores mayores a 30, concluyendo que las plantas tenían síntomas de déficit de hierro.

## Tratamientos y diseño experimental

Dentro del sector de estudio, se seleccionaron visualmente 5 hileras contiguas y homogéneas, es decir, que tuviesen plantas de un tamaño, desarrollo y grado de clorosis lo más uniforme posible, y sin problemas fitosanitarios y fisiológicos aparentes.

Se utilizó un diseño en cuadrado latino, en el cual el factor de bloqueo fue tanto la altura de la ladera como la hilera. La unidad experimental (UE) fue de 10 plantas y la unidad de observación (UO) de 6 plantas. Cada UE fue separada de la siguiente por un ‘borde’ de 2 plantas, de la misma forma en que se separó la primera UE del camino.

Se trabajó con 5 tratamientos: (1) testigo absoluto; (2) testigo comercial, que consistió en la aplicación de quelato de hierro al suelo (Fe-EDDHA); (3) aplicación de un compuesto formulado a base de sangre bovina; (4) asociación con *Festuca rubra rubra* L. y (5) asociación con *Poa pratensis* L. El diseño experimental consideró la implementación de 5 repeticiones para cada tratamiento (Apéndice I, Figura 1).

## Manejo del experimento

El formulado a base de sangre bovina y el quelato de hierro fueron aplicados al suelo en forma líquida, previa preparación de una solución. El compuesto formulado a base de sangre bovina se preparó a una concentración de 20 g L<sup>-1</sup> y se aplicó en dosis de 0,5

L/planta, de manera que cada planta recibió 10 g de formulado por aplicación. El producto poseía una concentración de hierro de  $2.675 \text{ mg kg}^{-1}$ , por lo cual cada planta recibió 26,75 mg de hierro en cada aplicación. Por otra parte, se utilizó el producto comercial Basafer® PLUS, 5% p/p orto-orto Fe-EDDHA (Compo®), el cual corresponde a un quelato Fe-etilendiamino-N,N'-di(2-hidroxifenil) ácido acético. Tal producto se preparó con una concentración de  $4 \text{ g L}^{-1}$  y se aplicó en dosis de 0,5 L/planta, de manera que cada planta recibió 2 g de quelato en cada aplicación y, por ende, 0,1 g de hierro. Las aplicaciones de ambos productos se realizaron en forma manual (Apéndice I, Foto 2), cada 15 días, y desde inicios de brotación (*Late green tip stage*) hasta la aparición de las ramificaciones del segundo flujo de crecimiento de brotes (*Fruit bud set stage*), por lo que ambos productos fueron aplicados 10 veces en total.

Por otro lado, las especies gramíneas fueron sembradas en la hilera del cultivo, a lo largo de toda la unidad experimental, cubriendo todo el espacio existente entre las plantas y debajo de las mismas (Apéndice I, Foto 3). La siembra se realizó en abril del 2014, a una densidad de 20.000 semillas/m<sup>2</sup>. Se utilizaron semillas certificadas, y en perfecto estado sanitario, de las especies *Festuca rubra rubra* L. y *Poa pratensis* L. La siembra consistió en mullir el suelo, colocar la semilla a 0,5 cm de profundidad, aproximadamente, tapar con una capa delgada de suelo del lugar y, luego, esparcir un poco de arena con el objeto de mejorar la infiltración del agua y evitar la evaporación del agua de riego. Finalmente, para favorecer la germinación, se regó diariamente durante las dos primeras semanas desde la fecha de siembra, con un pulverizador manual de 5 L, mediante el cual se proporcionó una fina lluvia, suficientemente abundante como para humedecer el suelo, pero no tan excesiva como para provocar escurrimiento. Una vez establecidas las gramíneas, y con el objetivo de realizar un aporte adicional de agua a las plantas bajo asociación, se colocaron 8 microjets de 180° a lo largo de la UE, ubicándose 4 en cada línea de gotero. El caudal de los microaspersores utilizados era de  $60 \text{ L h}^{-1}$ . A su vez, durante toda la temporada, las gramíneas fueron segadas manualmente cuando alcanzaban 15 cm de altura, y se llevaban a una altura de 5 cm, aproximadamente.

Las labores agronómicas de poda, riego, control fitosanitario y fertilización con macro y micronutrientes, a excepción del hierro, se ejecutaron según el criterio y manejo implementado por la administración del predio. No se efectuó una poda “en verde” (de verano) en las plantas del ensayo.

## Evaluaciones

Para identificar el estado fenológico en el cual se encontraban las plantas al momento de realizar las distintas evaluaciones, se utilizó la tabla desarrollada por el Servicio de Extensión de la Universidad de Michigan (Michigan State University Extension Service, 2012), donde se encuentran descritos cada uno de los estados vegetativos y reproductivos de la fenología del arándano (*Vaccinium* sp.). Así, las fenofases de receso invernal, inicios de brotación, crecimiento activo de brotes, fin de primer flujo de crecimiento de brotes, maduración o momento de cosecha, inicio de segundo flujo de crecimiento de brotes y final de temporada o inicio caída de hojas corresponden, en dicha tabla, al estado *Dormant or*

*tight bud, Late green tip, Shoot expansion, Shoot tip set, 75% Blue, Fruit bud set y Fall color*, respectivamente.

### **Intercambio gaseoso foliar**

**Bajo condiciones de déficit de hierro.** Con el objetivo de evaluar el efecto del déficit de hierro sobre el intercambio gaseoso foliar del arándano, previo al inicio del experimento y antes de la aplicación de los tratamientos, en un día completamente despejado (21 de marzo del 2014), se seleccionaron 12 plantas homogéneas en cuanto a tamaño, vigor y desarrollo, pero con distinto grado de clorosis. En cada una de ellas se eligió un brote sano, expuesto al sol y en él se marcó la primera hoja completamente expandida. A cada hoja se le midió el índice SPAD y, en función del valor de cada hoja, las 12 plantas se dividieron en 3 grupos. Estos grupos se categorizaron por su intensidad de clorosis férrica en: (1) clorosis intensa (SPAD= 15 a 30); (2) clorosis moderada (SPAD= 30 a 45) y (3) sin clorosis (SPAD= 45 a 60) (Apéndice I, Figura 3). El índice SPAD fue previamente calibrado con la concentración foliar de clorofila ( $R^2=0,97$ ;  $p<0,0001$ ).

La evaluación se realizó cada 2 horas, desde las 8:00 h hasta las 18:00 h y 48 horas después del riego, para lo cual se utilizó un analizador infrarrojo de gases (IRGA, LCi-ADC, Hoddesdon, Reino Unido). Los parámetros evaluados fueron: fotosíntesis neta ( $P_n$ ), conductancia estomática ( $g_s$ ), transpiración (E), temperatura foliar ( $T_f$ ), concentración de carbono interno ( $C_i$ ) y radiación incidente (*PPFD*). El valor de *PPFD* indica la densidad del flujo de fotones fotosintéticos. Se trabajó con las condiciones ambientales imperantes, de manera que no se predeterminó ningún parámetro (temperatura, luz,  $CO_2$ ) en la cámara de medición.

Se calculó la eficiencia de uso de la clorofila (EUCI), a través del cociente entre la  $P_n$  y la concentración de clorofila foliar; la eficiencia de uso del agua (EUA), como el cociente entre la  $P_n$  y la E, y la eficiencia intrínseca de uso del agua ( $EUA_i$ ), mediante el cociente entre la  $P_n$  y la  $g_s$ .

**Bajo el efecto de estrategias de manejo sostenible del déficit de hierro.** Con el objetivo de evaluar el efecto de estrategias de manejo sostenible del déficit de hierro sobre el intercambio gaseoso foliar del arándano, se midió este intercambio una vez iniciado el experimento, es decir con las plantas sometidas a los tratamientos. A su vez, para analizar la influencia de la presencia de fruta, se realizaron dos mediciones durante la temporada: a inicios de cosecha (*75% Blue stage*), y una vez finalizada la misma. En ambas ocasiones, se evaluó 48 horas después del riego. En cada fecha se seleccionó una planta representativa de la UE, en la cual se marcó la primera hoja completamente expandida de un brote representativo. Se utilizó un analizador infrarrojo de gases (IRGA, LCi-ADC, Londres, Reino Unido). La evaluación se realizó 4 veces en el día, cada 2 horas, comenzando a las 9:30 h. Se aplicó la misma metodología de medición descrita para el caso del intercambio gaseoso foliar bajo condiciones de déficit de hierro.

### Concentración foliar de clorofila

Se realizó una calibración del índice SPAD, basada en la relación que existe entre éste y la concentración de clorofila en la hoja. Para ello, al inicio del experimento, se colectaron 25 hojas completamente expandidas, de la misma edad y con distinto grado visual de clorosis (Apéndice I, Figura 2). En cada hoja, se midió el índice SPAD y se le determinó la concentración de clorofila *a*, clorofila *b* y clorofila total, según el método de Wellburn (1994). Con ello, se construyó una curva para estimar la concentración de clorofila total de una hoja de arándano ‘Emerald’ en función de su índice SPAD.

Durante el receso invernal (*Dormant or tight bud stage*), se marcaron, en cada planta de la UO, 2 yemas vegetativas ubicadas en lados opuestos de la planta, es decir que se trabajó con 12 brotes por UE. La medición se realizó cada 15 días, desde que se observaron hojas completamente expandidas en el 50% de los brotes (*Shoot expansion stage*) y hasta el final de temporada (*Fall color stage*). Una vez finalizado el primer flujo de crecimiento (*Shoot tip set stage*), se midió la ramificación apical del brote, cuya aparición marcó el inicio del segundo flujo de crecimiento (*Fruit bud set stage*).

Para medir el índice SPAD se utilizó un *chlorophyll meter* portátil (SPAD Minolta 502, Konica Minolta, Osaka, Japón), con el cual se midió la primera hoja completamente expandida del brote. El valor se obtuvo del promedio de 4 lecturas realizadas en la hoja, 2 a cada lado de la nervadura central.

### Análisis estadístico

Para contemplar las fuentes de variación independientes de los tratamientos, se utilizó un diseño en cuadrado latino 5x5, considerando como fuente de variación la pendiente (fila) y la hilera (columna).

Se ajustaron modelos de regresión lineal para describir la variabilidad del intercambio gaseoso foliar ( $P_n$ ,  $g_s$ ,  $C_i$ ), EUA y EUCl, en función del índice SPAD y, a su vez, para evaluar la relación entre el índice SPAD y la concentración de clorofila foliar.

Se analizó si existían diferencias estadísticamente significativas, para todas las variables evaluadas, bajo el marco teórico de Modelos Lineales Mixtos.

Se ajustó un modelo mixto de análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo del índice SPAD y los componentes del intercambio gaseoso foliar ( $P_n$ ,  $g_s$ ,  $E$  y  $T_f$ ), tanto en la comparación de los grupos de clorosis como entre tratamientos. El modelo incluyó bloques, tratamientos, fecha (horario) de medición e interacción tratamiento\*fecha (horario).

Para contemplar la correlación temporal entre observaciones de una misma unidad experimental, se evaluaron los modelos:

- Modelo con efecto aleatorio de unidad experimental.
- Modelo con errores correlacionados sin especificar estructura de correlación.
- Modelo con errores correlacionados según una estructura de correlación autoregresiva.

En el caso de existir varianzas heteroscedásticas, éstas fueron corregidas.

Para la determinación de la bondad de ajuste de los modelos seleccionados, se valoraron los criterios de selección “Akaike Information Criterion” (AIC) (Akaike, 1974) y “Bayesian Information Criterion (BIC) (Schwarz, 1978; Yang, 2005). Para seleccionar modelos con similares criterios de selección (AIC y BIC), se compararon los modelos con el test del cociente de verosimilitud (LRT).

En caso de existir diferencias significativas entre los grupos de clorosis férrica o entre los tratamientos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples DGC (Di Rienzo et al., 2002) ( $\alpha=0,05$ ) para las variables medidas en el tiempo, y la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ( $\alpha=0,05$ ) para el resto.

La estimación de los modelos se realizó utilizando la función *glm* y *lme* de la librería *nlme* de R (Pinheiro et al., 2014), mediante la interfaz del programa estadístico InfoStat versión 2013 (Di Rienzo et al., 2013).

## RESULTADOS

### Intercambio gaseoso foliar

#### Bajo condiciones de déficit de hierro

La  $P_n$ ,  $g_s$  y  $E$  alcanzaron su máximo valor con una  $PPFD$  cercana a los  $1.200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 3A, B, C), lo que ocurrió a las 10:00 h (Figura 2). La  $T_f$ , en cambio, tuvo el máximo con una  $PPFD$  de  $1.400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 3D), es decir a las 12:00 h (Figura 2).

Los resultados evidenciaron un efecto negativo progresivo de la clorosis férrica sobre el intercambio gaseoso foliar. Así, las plantas pertenecientes al grupo ‘sin clorosis’ alcanzaron la mayor  $P_n$ ,  $g_s$  y  $E$  a lo largo del día, mientras que las plantas con ‘clorosis intensa’ tuvieron los valores más bajos en estos parámetros (Figura 3A, B, C). La  $T_f$ , en cambio, resultó mayor en las plantas con ‘clorosis intensa’ respecto de las plantas ‘sin clorosis’. Por su parte, el grupo de plantas con ‘clorosis moderada’ registró valores intermedios en todos las variables (Figura 3A, B, C, D). Las diferencias estadísticas entre grupos se observaron únicamente entre las 10:00 y las 16:00 h, periodo en que la  $PPFD$  superó los  $1.000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 2).

A las 10:00 h, horario en que se observó la mayor intensidad de las variables, el grupo ‘sin clorosis’ asimiló alrededor de  $11 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , mientras que las hojas con ‘clorosis intensa’ no superaron los  $7 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 3A). La  $g_s$  fue de  $0,17 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para el grupo ‘sin clorosis’ y de  $0,11 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  para el grupo ‘clorosis intensa’ (Figura 3B). Por otro lado, las hojas ‘sin clorosis’ transpiraron  $3 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , y el grupo ‘clorosis intensa’,  $2,5 \text{ mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 3C).

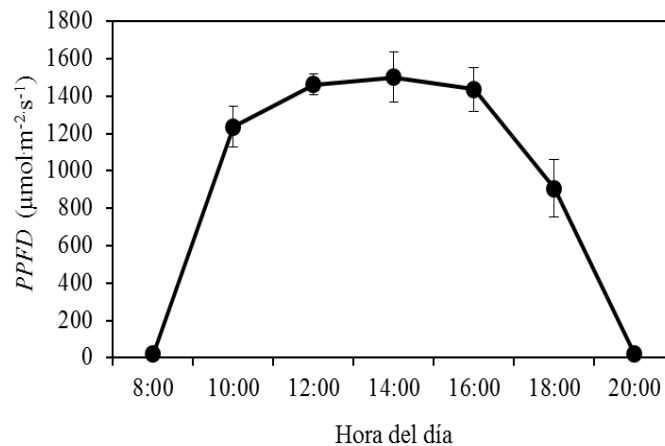


Figura 2. Evolución diaria de la radiación incidente ( $PPFD$ ), en  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , el día en que se midió el intercambio gaseoso foliar en arándanos ‘Emerald’. Barras verticales indican el error estándar.

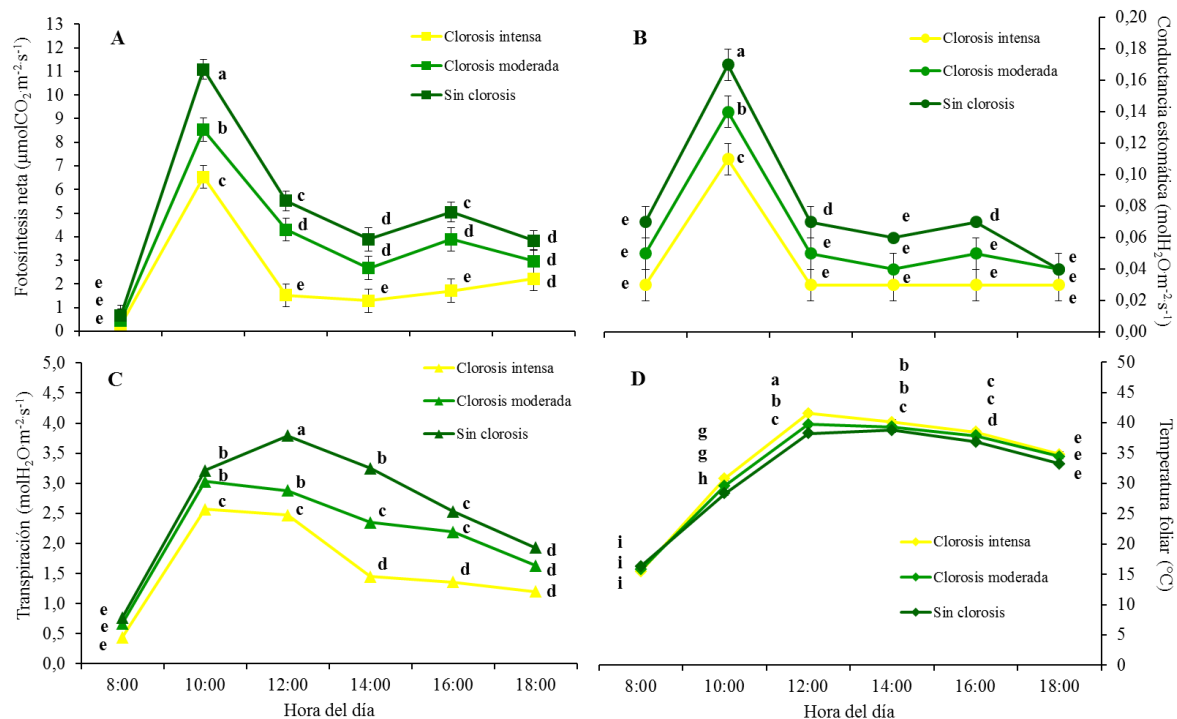


Figura 3. Evolución diaria de la (A) fotosíntesis neta; (B) conductancia estomática; (C) transpiración y (D) temperatura foliar en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Medias ajustadas con letras diferentes en cada hora indican diferencias significativas según la prueba DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento\*hora significativa.

La intensidad de la clorosis férrica afectó de manera progresiva la media diaria de la  $P_n$  (Figura 4A),  $g_s$  (Figura 4B) y  $E$  (Figura 4C) de las hojas, debido a que los tres grupos evaluados se diferenciaron significativamente entre sí, siendo las hojas ‘sin clorosis’ las que alcanzaron los mayores valores en estas variables. Luego le siguieron, con valores intermedios, las hojas con ‘clorosis moderada’ y, finalmente, el grupo ‘clorosis intensa’, que evidenció los valores más bajos (Figura 4A, B, C). Así, las hojas con ‘clorosis intensa’ manifestaron una media de la  $P_n$ ,  $g_s$  y  $E$  un 44,8%, 50% y 37,8% menor, respectivamente, que las hojas ‘sin clorosis’.

Por otro lado, se observó el comportamiento opuesto en el caso de la  $T_f$  (Figura 4D), la  $EUC_l$  (Figura 4E) y  $EUA_i$  (Figura 4F). Así, las hojas con ‘clorosis intensa’ alcanzaron los valores más altos en estas variables, diferenciándose estadísticamente de las hojas ‘sin clorosis’ (Figura 4D, E, F). Por su parte, las hojas con ‘clorosis moderada’ tuvieron un valor intermedio y, en el caso de las eficiencias, no se diferenciaron de las hojas ‘sin clorosis’ (Figura 4D, E, F).



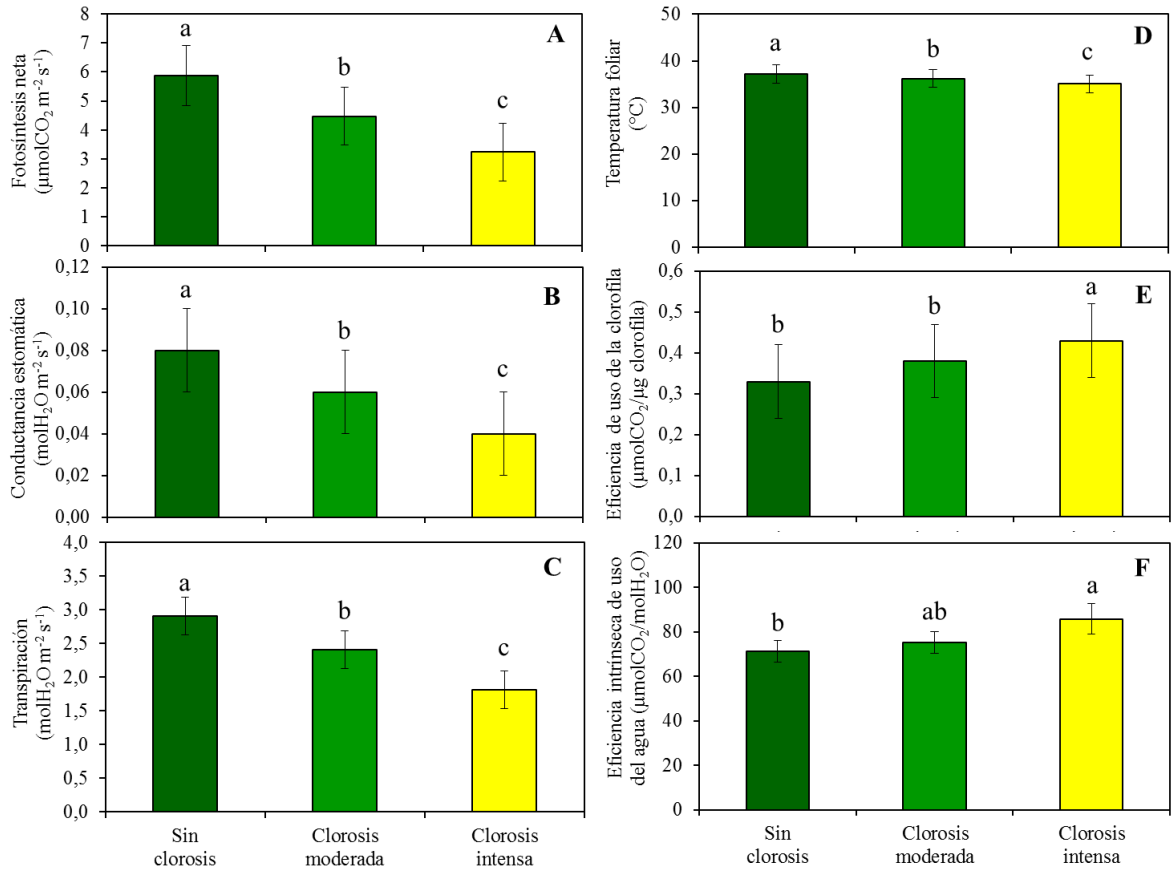


Figura 4. Media diaria de la (A) fotosíntesis neta; (B) conductancia estomática; (C) transpiración; (D) temperatura foliar; (E) eficiencia de uso de la clorofila; (F) eficiencia intrínseca de uso del agua en arándanos 'Emerald' con distinta intensidad de clorosis férrica. Medias ajustadas con letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas según la prueba LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar.

En cuanto a las relaciones entre variables, la concentración de clorofila foliar total se relacionó positiva y significativamente con la  $P_n$  ( $p < 0,0001$ ) y la  $g_s$  ( $p < 0,0001$ ) (Figuras 5A, B), mientras que se relacionó negativa y significativamente con la  $C_i$  ( $p = 0,0014$ ) (Figura 5C). Así, a mayor concentración de clorofila foliar total, mayor  $P_n$  y  $g_s$ , y menor  $C_i$ .

Por otro lado, se observó una relación lineal y positiva entre la concentración de clorofila foliar total y la EUA ( $p = 0,0024$ ) (Figura 5D). Lo anterior indica que, a mayor concentración de clorofila foliar total, las hojas verdes asimilan más  $\text{CO}_2$  que las hojas cloróticas, para la misma cantidad de agua transpirada.

Por su parte, la EUCL se relacionó negativamente con la concentración de clorofila foliar ( $p < 0,0001$ ) (Figura 5E), por lo que las hojas verdes asimilan menos  $\text{CO}_2$ , por unidad de clorofila, que las cloróticas.

La EUCI se relacionó positivamente con la relación clorofila  $a/b$  ( $p=0,0001$ ) (Figura 5F), lo que indica que una hoja clorótica, con una mayor EUCI, tiene una mayor proporción de clorofila  $a$  respecto de la clorofila  $b$ .

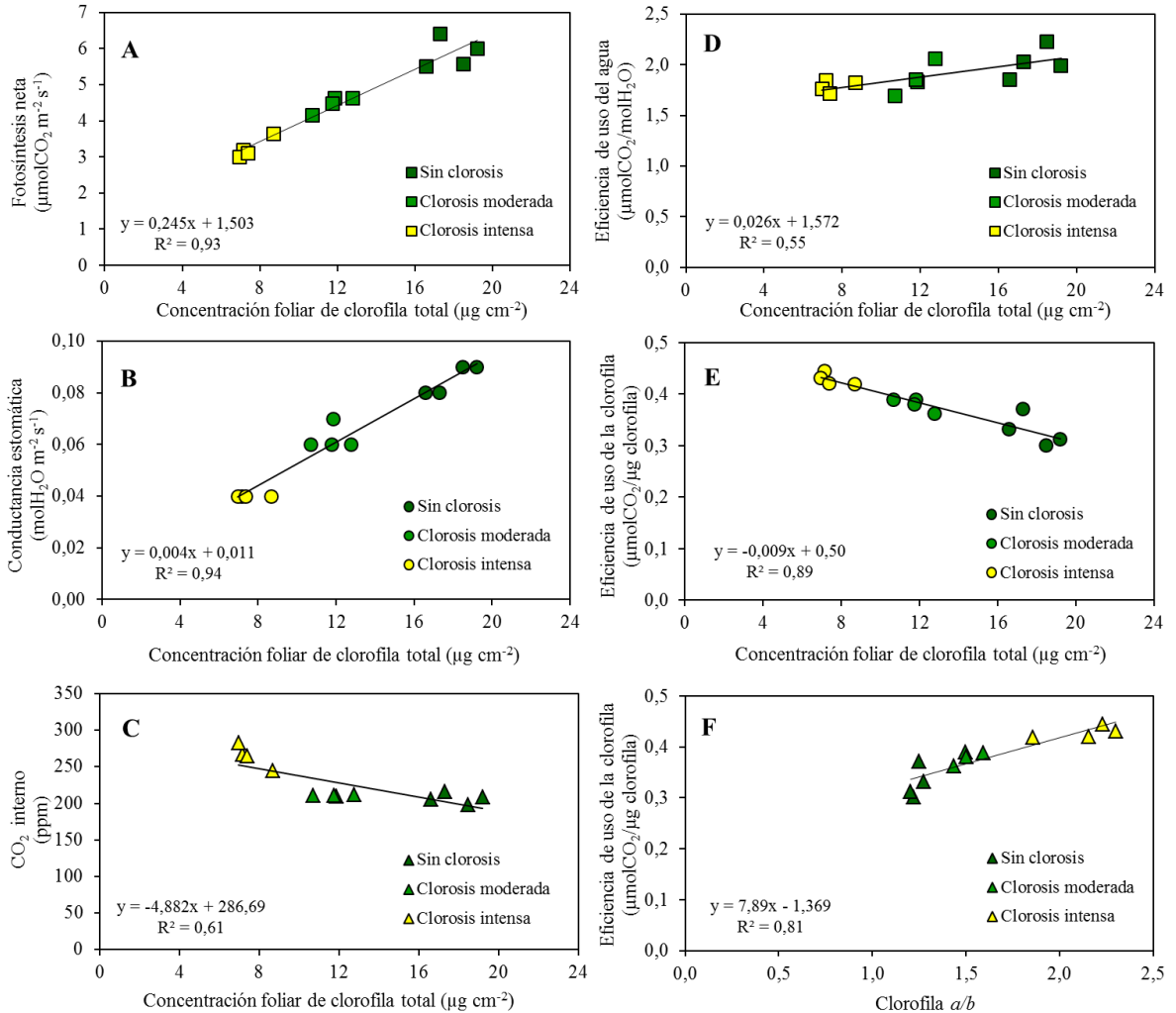


Figura 5. Media diaria de la (A) fotosíntesis neta; (B) conductancia estomática; (C)  $\text{CO}_2$  interno; (D) eficiencia de uso del agua y (E) eficiencia de uso de la clorofila como función de la concentración foliar de clorofila. (F) Eficiencia de uso de la clorofila como función de la relación clorofila  $a/b$ . Relaciones significativas ( $p < 0,05$ ).

La fotosíntesis neta relativa ( $P_n\text{-rel}$ ) y la inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa ( $1/\text{EUA}_i\text{-rel}$ ), se relacionaron lineal, inversa y significativamente con la EUCI (Figura 6). Así, mientras más clorótica es una hoja, mayor es su eficiencia fotosintética por unidad de clorofila, pero menor es su fotosíntesis total y su requerimiento de apertura estomática para fijar una unidad de  $\text{CO}_2$ . Asimismo, se observó que la  $P_n\text{-rel}$  disminuyó más que la  $1/\text{EUA}_i\text{-rel}$ , puesto que la pendiente de su función es significativamente mayor que la pendiente de  $1/\text{EUA}_i\text{-rel}$  (Cuadro 2).

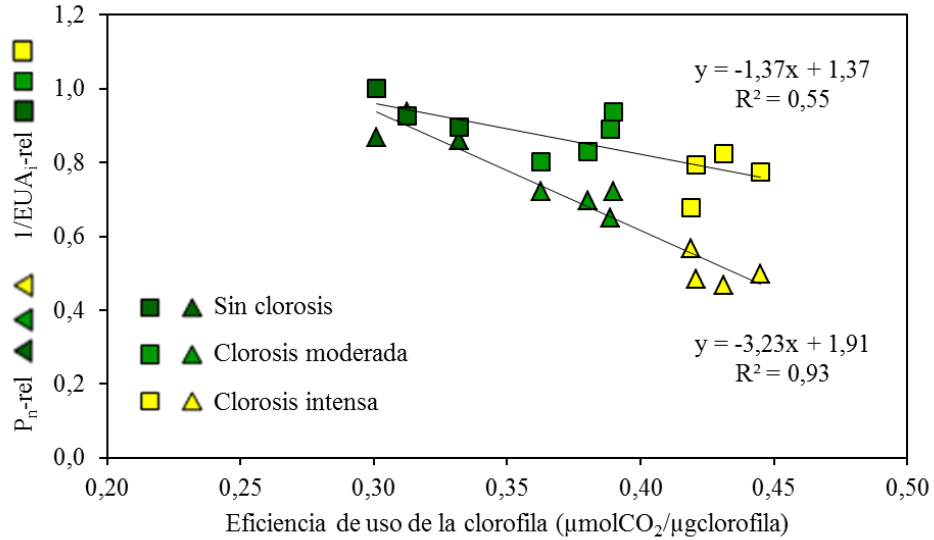


Figura 6. Media diaria de la inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa, y fotosíntesis neta relativa, como función de la eficiencia de uso de la clorofila, en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Relaciones significativas ( $p < 0,05$ ).

Cuadro 2. Coeficientes y estadísticos asociados a la regresión lineal entre la eficiencia de uso de la clorofila como variable independiente y la inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa, y fotosíntesis neta relativa, como variables dependientes.

Variable independiente	Variable dependiente	Pendiente	Ordenada al origen	LI (95%)	LS (95%)	R <sup>2</sup>	p-valor
Eficiencia de uso de la clorofila	1/EUA <sub>i</sub> - rel	-1,37	1,37	-2,31	-0,42	0,55	0,0096
	P <sub>n</sub> - rel	-3,23	1,91	-3,90	-2,55	0,93	<0,0001

Las hojas con ‘clorosis intensa’ evidenciaron una media diaria de 1/EUA<sub>i</sub>-rel estadísticamente menor que las ‘hojas sin clorosis’, mientras que el grupo de ‘clorosis moderada’ alcanzó un valor intermedio, sin diferenciarse de ninguno de los otros grupos (Figura 7A). Por otro lado, se observó el mismo comportamiento en el caso de P<sub>n</sub>-rel, la cual disminuyó progresivamente a medida que aumentó la clorosis. De esta manera, los tres grupos de clorosis se diferenciaron significativamente entre ellos, siendo las hojas ‘sin clorosis’ las que alcanzaron la mayor P<sub>n</sub>-rel (Figura 7B).

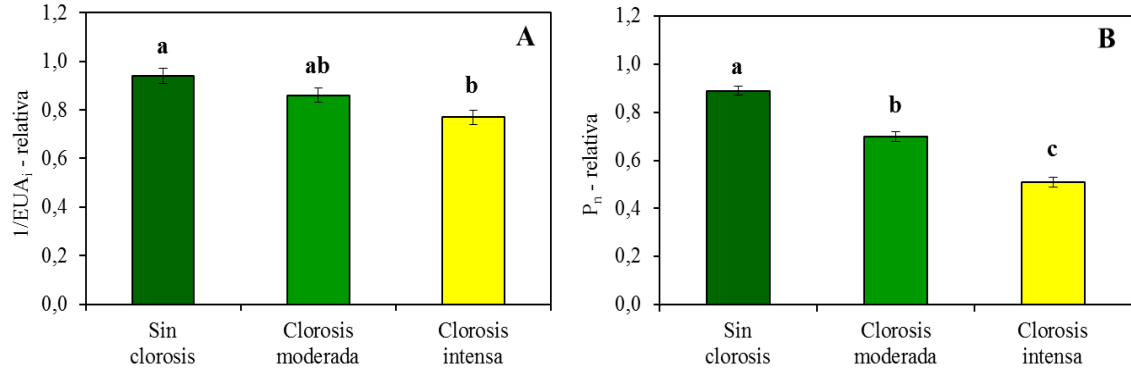


Figura 7. Media diaria de la (A) inversa de la eficiencia intrínseca de uso del agua relativa y (B) fotosíntesis neta relativa en arándanos ‘Emerald’ con distinta intensidad de clorosis férrica. Medias ajustadas con letras diferentes en cada barra indican diferencias significativas según la prueba LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar.

### Bajo el efecto de estrategias de manejo sostenible del déficit de hierro

En la primera fecha de evaluación, realizada al momento de cosecha (75% *Blue stage*), es decir a los 66 días después de inicios de brotación (DDIB), los arándanos alcanzaron la mayor  $P_n$ ,  $g_s$  y  $E$  a las 9:30-10:30 h, y luego éstos parámetros fueron disminuyendo a lo largo del día hasta obtener el menor valor a las 15:30-16:30 h (Figura 8A, B, C). Dicho comportamiento fue similar para todos los tratamientos. La  $T_f$ , por su parte, alcanzó el mayor valor a las 13:30-14:30 h (Figura 8D).

Temprano en la mañana, es decir a las 9:30-10:30 h, las plantas tratadas con Fe-EDDHA presentaron la mayor  $P_n$  en comparación con el resto de los tratamientos, mientras el testigo y las plantas tratadas con sangre bovina evidenciaron los valores más bajos. Por su parte, las plantas asociadas con gramíneas tuvieron valores de  $P_n$  intermedios entre los tratamientos descritos (Figura 8A). A partir de tal horario, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 8A).

Respecto de la  $g_s$ , las estrategias de manejo sostenible modificaron tal variable durante el día. A las 9:30-10:30 h, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas incrementaron la  $g_s$  respecto de aquellas plantas tratadas con sangre bovina y las plantas testigo (Figura 8B). Luego, a las 11:30-12:30 h, se mantuvo el comportamiento anterior pero, en este caso, el Fe-EDDHA se diferenció estadísticamente de la asociación con gramíneas. Luego, en los siguientes horarios, no se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 8B).

En el caso de la  $E$  se observó que, a las 9:30-10:30 h, las plantas tratadas con Fe-EDDHA y aquellas en asociación con ambas gramíneas tuvieron los mayores valores, con diferencias estadísticas respecto de las plantas tratadas con sangre bovina y las plantas testigo (Figura 8C). En el segundo y tercer horario de medición, el comportamiento anterior se mantuvo pero no se observaron diferencias entre la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con

gramíneas. Luego, a las 15:30-16:30 h, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 8C).

Por su parte, en el caso de la  $T_f$ , no hubo diferencias significativas entre tratamientos a lo largo del día (Figura 8D). La mayor  $T_f$  se alcanzó a las 13:30-14:30 h, cuando varió entre 41,6 y 42,4 °C, y la  $PPFD$  fue cercana a los 1.900  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 9A).

En la segunda fecha de evaluación, realizada una vez finalizada la cosecha (123 DDIB), el comportamiento de los parámetros evaluados fue similar en todos los tratamientos. De esta manera, la mayor  $P_n$ ,  $g_s$  y  $E$  se observó a las 9:30-10:30 h, con un avance decreciente a lo largo del día, para alcanzar los valores más bajos a las 15:30-16:30 h. Las diferencias estadísticas entre tratamientos se observaron únicamente en los tres primeros horarios (Figura 8E, F, G). La  $T_f$ , por su parte, alcanzó el mayor valor a las 13:30-14:30 h (Figura 8H). Respecto a la primera fecha de evaluación, y considerando únicamente el primer horario de medición, la  $P_n$  disminuyó un 15,5%, y la  $E$ , un 25,4%.

A las 9:30-10:30 h, todos los tratamientos alcanzaron una mayor  $P_n$  que el testigo, diferenciándose estadísticamente del mismo. El mayor valor lo tuvieron las plantas tratadas con Fe-EDDHA, seguidas de aquellas plantas bajo asociación con gramíneas y, luego, las plantas tratadas con sangre bovina. Luego, a las 11:30-12:30 h, se mantuvo el comportamiento anterior pero, en este caso, la aplicación de Fe-EDDHA se diferenció de la asociación con gramíneas y, por otro lado, la aplicación de sangre bovina no se diferenció del testigo (Figura 8E).

En el caso de la  $g_s$ , el comportamiento de los tratamientos fue similar al de  $P_n$ . Así, a las 9:30-10:30 h, todos se diferenciaron estadísticamente de las plantas testigo, que tuvieron la menor  $g_s$ . La aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con *Festuca rubra* mostraron los mayores valores, seguidos de la asociación con *Poa pratensis* y, luego, de la aplicación de sangre bovina. En el segundo horario, se mantuvo el comportamiento anterior pero, en este caso, las plantas tratadas con Fe-EDDHA se diferenciaron estadísticamente de las plantas asociadas con gramíneas y, por otro lado, las plantas tratadas con sangre bovina no se diferenciaron de las plantas testigo (Figura 8F).

Respecto de la  $E$ , los tratamientos tuvieron el mismo comportamiento a lo largo del día. La mayor  $E$  la mostraron las plantas tratadas con Fe-EDDHA y aquellas en asociación con gramíneas, con diferencias estadísticas respecto de las plantas tratadas con sangre bovina y las plantas testigo (Figura 8G).

Por su parte, la  $T_f$  no evidenció diferencias significativas entre tratamientos en ninguno de los horarios de medición (Figura 8H), y el mayor valor se alcanzó, para todos los tratamientos, a las 13:30-14:30 h, cuando varió entre 37,2 y 38,1°C, y la  $PPFD$  fue cercana a los 2.000  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (Figura 9B).

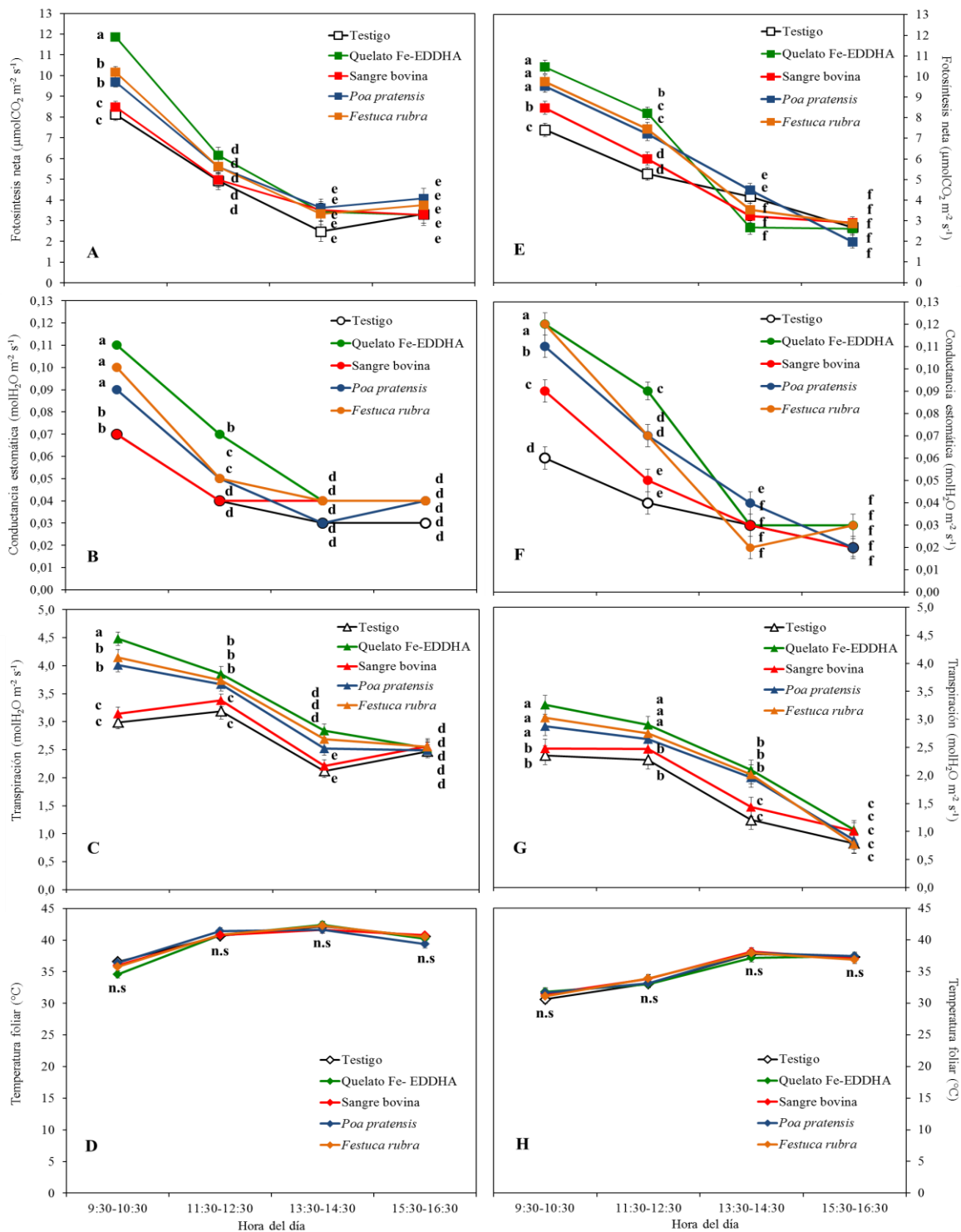


Figura 8. Evolución diaria de la (A; E) fotosíntesis neta, (B; F) conductancia estomática, (C; G) transpiración y (D, H) temperatura foliar, en arándanos 'Emerald' bajo distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro, a los 66 DDIB (A, B, C, D) y 123 DDIB (E, F, G, H). Medias ajustadas con letras diferentes cada hora indican diferencias significativas según la prueba DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento\*hora significativa.

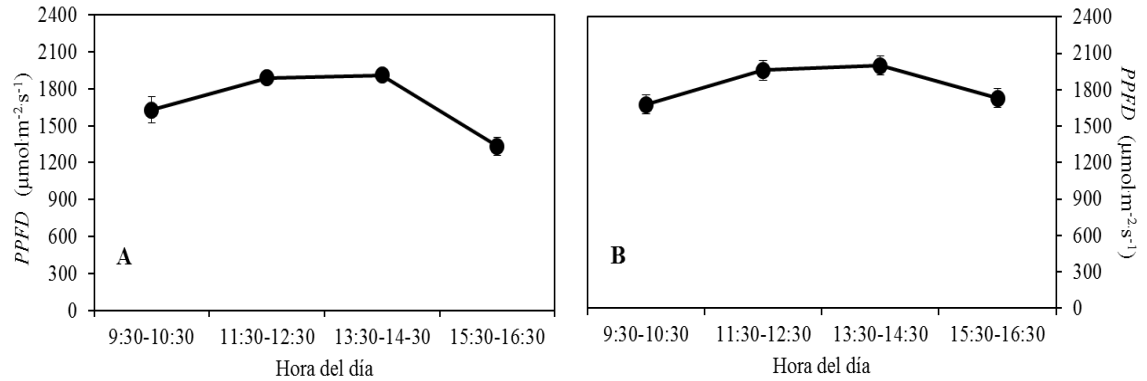


Figura 9. Evolución diaria de la radiación incidente (*PPFD*), en  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , a los (A) 66 DDIB y (B) 123 DDIB, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Barras verticales indican el error estándar.

### Concentración foliar de clorofila

La concentración de clorofila total, por unidad de área foliar, se relacionó directa, lineal y significativamente con el valor del índice SPAD, obtenido con el *chlorophyll meter* portátil (Figura 10). Las hojas de arándano ‘Emerald’ completamente verdes arrojan un valor mínimo de índice SPAD de 45, lo que corresponde a  $13,7 \mu\text{g cm}^{-2}$  de clorofila foliar. En el otro extremo, una hoja completamente clorótica alcanza un índice SPAD cercano a 15, correspondiente a una concentración de  $4,6 \mu\text{g cm}^{-2}$  de clorofila foliar.

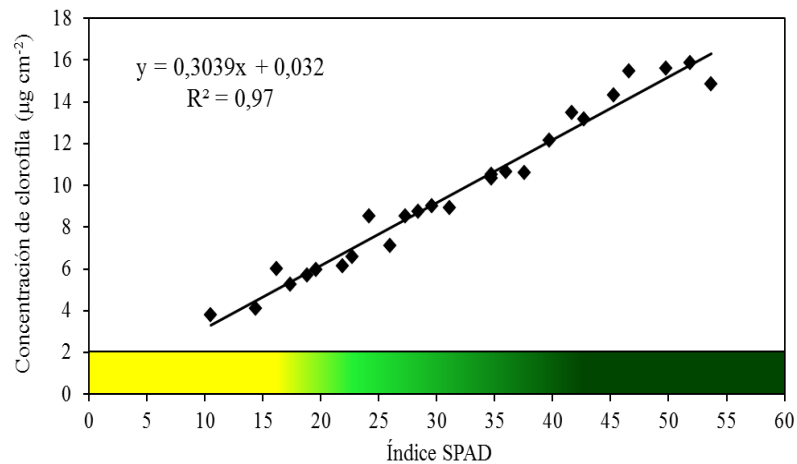


Figura 10. Concentración foliar de clorofila, en hojas completamente expandidas de arándano ‘Emerald’, en función del índice SPAD ( $p < 0,0001$ ).

Al inicio de la temporada, las plantas del ensayo presentaban un estado de clorosis similar, dado que la concentración foliar de clorofila en la primera fecha de medición, la cual estuvo entre  $7,6$  y  $10,7 \mu\text{g cm}^{-2}$ , no presentó diferencias significativas entre los tratamientos. A partir de los 71 DDIB, con 10 g de Fe-EDDHA o 0,5 g de Fe aplicados para entonces, las

plantas tratadas con Fe-EDDHA alcanzaron, secuencialmente, los mayores valores de concentración foliar de clorofila, en comparación con los demás tratamientos (Figura 11).

En contraste, las plantas testigo y aquellas tratadas con sangre bovina obtuvieron la menor concentración foliar de clorofila durante toda la temporada, sin diferencias significativas entre ellas en la mayoría de las fechas evaluadas, y localizándose la aplicación de sangre bovina por debajo del testigo a partir de los 85 días DDIB, es decir, con un total de 60 g de sangre bovina o 160,5 mg de Fe aplicados para entonces, situación que se revirtió al final de la temporada, a los 211 DDIB (Figura 11). Por su parte, la asociación con especies gramíneas incrementó la concentración foliar de clorofila respecto del testigo durante toda la temporada. En tal contexto, las plantas asociadas con *Festuca rubra* registraron mayores valores que aquellas asociadas con *Poa pratensis*, diferenciándose significativamente entre ellas desde los 85 DDIB hasta el final de la temporada (Figura 11).

Al final del experimento, la aplicación de Fe-EDDHA fue el tratamiento que más incrementó la concentración foliar de clorofila, la cual fue de  $15,2 \mu\text{g cm}^{-2}$ . En orden decreciente, le siguió la asociación con *Festuca rubra*, luego la asociación con *Poa pratensis*, la aplicación de sangre bovina y, finalmente, el testigo, con concentraciones de 11,7; 10,6; 8,2 y  $6,5 \mu\text{g cm}^{-2}$ , respectivamente (Figura 11). De esta manera, al final de la temporada, las plantas testigo tuvieron una concentración foliar de clorofila 57,4% menor que las plantas tratadas con quelato Fe-EDDHA, 44,9% menor que aquellas asociadas con *Festuca rubra*, 38,9% menor que las asociadas con *Poa pratensis* y 20,9% menor que la plantas tratadas con sangre bovina.

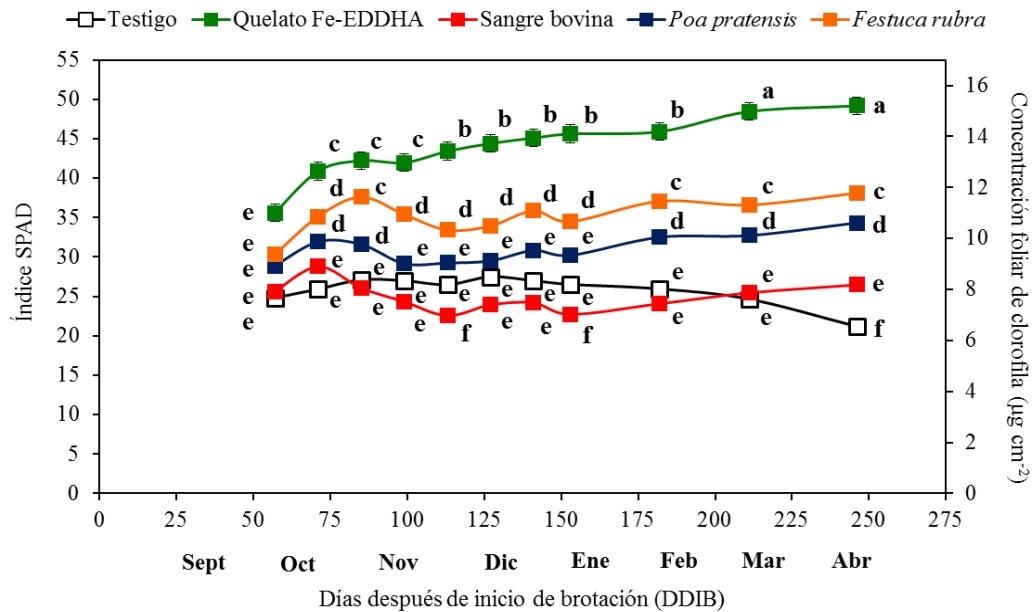


Figura 11. Evolución del índice SPAD y la concentración foliar de clorofila, durante la temporada, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes cada fecha indican diferencias significativas según la prueba DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican error estándar. Interacción tratamiento\*día significativa ( $p < 0,0001$ ).



## DISCUSIÓN

El déficit de hierro (Fe) causó una disminución de la  $P_n$  en el arándano, tal como ha sido reportado para remolacha (Rombolà et al., 2005; Larbi et al., 2006), peral (Larbi et al., 2006), duraznero (Larbi et al., 2006; Eichert et al., 2010) y vid (Bertamini y Nedunchezian, 2005), entre otras especies. Esta disminución fue proporcional a la intensidad de clorosis, es decir, se observó una menor  $P_n$  mientras mayor era el grado de clorosis, siendo la  $P_n$  media diaria de las hojas con 'clorosis intensa' un 44,8% menor a las hojas 'sin clorosis', lo que se atribuye al hecho de que el Fe no sólo participa en la síntesis de la clorofila sino que forma parte de las ferredoxinas y citocromos (Taiz y Zeiger, 2010; Broadley et al., 2011).

Debido a que el comportamiento estomático está íntimamente relacionado con el proceso fotosintético (Shimshi, 1967), la  $g_s$  evidenció el mismo comportamiento que la  $P_n$ , es decir que disminuyó progresivamente frente a una mayor intensidad de clorosis, siendo la  $g_s$  media diaria de las hojas con 'clorosis intensa' un 50% menor a las hojas 'sin clorosis'; esto se asemeja a lo encontrado en maíz, trigo, remolacha (Shimshi, 1967), vid (Bertamini y Nedunchezian, 2005), peral (Larbi et al., 2006; Fernández et al., 2008) y duraznero (Larbi et al., 2006; Fernández et al., 2008; Eichert et al., 2010). Al respecto, se ha reportado la incapacidad parcial o total de apertura estomática cuando el mesófilo carece de clorofila (Shimshi, 1967), puesto que el déficit de Fe afecta no sólo la diferenciación estomática y la longitud del poro estomático (Fernández et al., 2008; Covarrubias et al., 2014), sino también el desarrollo foliar, al disminuir la expansión de las células de guarda y epidérmicas (Maldonado-Torres et al., 2006).

Por otro lado, ha sido señalado que, en ausencia de estrés hídrico, la apertura estomática está determinada por la intensidad de luz y el consumo del  $CO_2$  presente en el mesófilo (Ketellapper, 1963). Debido a que las plantas estaban expuestas a la misma radiación, el comportamiento de la  $g_s$  estuvo influenciado por la  $C_i$ . En el presente estudio, la  $C_i$  aumentó progresivamente con la intensidad de clorosis férrica, comportándose de manera opuesta a la  $g_s$  (Apéndice I, Figura 4), y resultando un 21,7% mayor en las hojas con 'clorosis intensa' respecto de las hojas 'sin clorosis'. En este sentido, si bien la  $C_i$  está influenciada por la  $g_s$ , que determina cuánto ingresa, también depende de la  $P_n$ , que determina cuánto se utiliza (Farquhar y Sharkey, 1982), por lo que una menor fotosíntesis conduce a la acumulación de la  $C_i$ , tal como han reportado Rombolà et al. (2005), Larbi et al. (2006), Duan et al. (2008) y Eichert et al. (2010). Así, podría inferirse que, en este ensayo, la  $C_i$  estuvo más afectado por la  $P_n$  que por la  $g_s$ , dado que se relacionó de manera lineal y negativa con la concentración de clorofila foliar, mientras que la  $P_n$  y la  $g_s$  se relacionaron positivamente con la misma.

De esta manera, dado que la  $C_i$  representa una medida de la disponibilidad del sustrato primario para la fotosíntesis y, por lo tanto, un parámetro que determina la limitación enzimática del proceso (Sharkey et al., 2007), la disminución de la  $P_n$ , bajo condiciones de déficit de Fe, estaría causada, principalmente, por una limitante no estomática, puesto que, si bien en una hoja clorótica el ingreso de  $CO_2$  es menor, dada la menor  $g_s$ , la  $C_i$  presente es

mayor, porque el sustrato disponible no es utilizado. Esto sugiere que, tal como ha sido reportado, el déficit de Fe reduciría la actividad de carboxilación de la enzima Rubisco, puesto que las dos subunidades de la enzima (LSU y SSU), como sus ARNm, se relacionan linealmente con la concentración de clorofila foliar (Chen et al., 2004; Rombolà et al., 2005; Larbi et al., 2006), por lo cual el déficit de Fe conduciría a una menor expresión de genes (Winder y Nishio, 1995). Al respecto, se ha observado una disminución severa en la actividad de la enzima Rubisco en plantas de maíz (Stocking, 1975), remolacha (Taylor y Terry, 1986), peral y duraznero (Larbi et al., 2006) deficientes en Fe.

En este sentido, lo que contribuiría a corroborar que la limitante es de índole no estomática, y que, asimismo, está asociada a la fase oscura de la fotosíntesis, es el hecho de que por cada unidad de aumento en el grado de clorosis (o lo que es igual, por cada unidad de disminución en la concentración foliar de clorofila), la  $P_n$  se reduzca más (dada una mayor pendiente negativa en su función) que la inversa de la  $EUA_i$  ( $1/EUA_i$ ), es decir, que el requerimiento de  $g_s$  necesaria para fijar una unidad de  $CO_2$ . Así, si bien una hoja clorótica necesita una menor apertura de los estomas para fijar una unidad de  $CO_2$ , en comparación con una hoja verde, la  $P_n$  que puede realizar es menor, conduciendo a la acumulación del  $CO_2$  que ingresa y sugiriendo, así, que la Rubisco, o alguna otra enzima del ciclo de Calvin, se encuentra afectada por el déficit de Fe. No obstante lo anterior, dado que el valor de  $C_i$  es estimado asumiendo que no existen cambios en la conductancia del mesófilo ( $g_m$ ), no se puede descartar que las diferencias en la  $C_i$  hayan sido causadas por diferencias en la  $g_m$ , y no por una diferencia en la cinética de carboxilación propiamente tal (Flexas et al., 2008). Por lo tanto, en un futuro ensayo, debería evaluarse la actividad de las enzimas más importantes de la fase oscura de la fotosíntesis, para confirmar o rechazar la hipótesis planteada.

Por su parte, la  $E$  también resultó menor a medida que la clorosis fue mayor, de manera que, a lo largo del día, la  $E$  media de las hojas con 'clorosis intensa' fue un 38,7% menor que las hojas 'sin clorosis', coincidiendo con lo observado en remolacha (Larbi et al., 2006), duraznero (Larbi et al., 2006; Eichert et al., 2010), peral (Larbi et al., 2006; Fernández et al., 2008) y vid (Bertamini y Nedunchezian, 2005). Dado que los arándanos no estaban bajo restricción hídrica, y que se encontraban expuestos al mismo déficit de presión de vapor e intensidad de radiación, es muy probable que la  $E$  estuviera modulada por la  $g_s$ , puesto que estas variables se relacionan positivamente (Duan et al., 2008). A su vez, se ha reportado que el déficit de Fe reduce el peso de la cutícula abaxial (Fernández et al., 2008) y limita la producción y acumulación de lípidos solubles en la cutícula (Abadía et al., 1988; Abadía, 1992; Monge et al., 1993; Fernández et al., 2008), los cuales determinan la resistencia de la hoja a la pérdida de agua (Holloway, 1969), por lo que una menor cantidad de ceras intra-cuticulares aumenta la susceptibilidad a la deshidratación, debido al menor grado de hidratación cuticular (Fernández et al., 2008). Como consecuencia, las hojas 'sin clorosis' resultaron más eficientes en el uso del agua que las hojas con 'clorosis intensa', dado que la concentración de clorofila foliar se relacionó de manera lineal y positiva con la  $EUA$ , tal como ha sido reportado por otros autores (Anderson, 1984; Larbi et al., 2004; Rombolà et al., 2005; Larbi et al., 2006; Eichert et al., 2010). Al respecto, las causas por las que una hoja clorótica disminuye su  $EUA$  aún no se comprenden por completo, pero hay evidencia que sugiere que esto se debe, por un lado, a una mayor tasa de  $E$  cuticular y, por el otro, a una menor regulación estomática (Eichert et al., 2010).

Según Anderson (1984), si bien la clorosis férrica afecta el comportamiento de los estomas, factores de índole cuticular más que estomático serían los responsables de una pérdida de agua más pronunciada en las hojas cloróticas.

En este sentido, una disminución en la  $E$  conduce a un aumento de la  $T_f$  (Duan et al., 2008), dado que la transpiración es el principal mecanismo de refrigeración foliar (Sánchez de Miguel et al., 2009). Así, durante la mayor parte del día, la  $T_f$  se comportó de manera inversa a la  $E$ , resultando mayor la  $T_f$  de las hojas con 'clorosis intensa' respecto de las hojas 'sin clorosis'. Duan et al. (2008) sostienen que, cuando la  $T_f$  supera el óptimo, se producen daños irreversibles en los cloroplastos, debido a la producción de oxígeno singlete y al consecuente incremento de especies reactivas de oxígeno, como el superóxido y el peróxido de hidrógeno; este fenómeno es conocido como 'fotooxidación' (Asada, 1999). De esta manera, las hojas con 'clorosis intensa' son más propensas a sufrir daños fotooxidativos, lo que explica que, bajo condiciones de déficit de Fe, se produzca un incremento en la concentración de las xantofilas (Morales et al., 1994; Abadía et al., 1999; Soldatini et al., 2000), las que constituyen el principal mecanismo de defensa contra la fotooxidación (Demming-Adams y Adams, 1996; Niyogi, 1999; Formaggio et al., 2001; Polivka et al., 2002). Sumado a ello, si la  $T_f$  supera el óptimo, la fotosíntesis se ve reducida (Zufferey et al., 2000; Hendrickson et al., 2004), debido a la inhibición del fotosistema II (PSII), por ser el componente térmicamente más lábil en la cadena transportadora de electrones (Quinn y Williams, 1985; Havaux y Tardy, 1996; Havaux et al., 1996). No obstante, esta inhibición se produce una vez que la  $T_f$  supera los 40°C (Havaux, 1993; Alkhatib y Paulsen, 1999), mientras que la enzima Rubisco se desactiva a temperaturas menores (Feller, Crafts-Brandner y Salvucci, 1998), por la pérdida de actividad de la Rubisco activasa (Crafts-Brandner y Salvucci, 2000; Salvucci et al., 2001). Así, la desactivación de la Rubisco sería la principal limitación para la fotosíntesis bajo altas temperaturas (Crafts-Brandner y Salvucci, 2000).

En base a lo anteriormente expuesto, el déficit de Fe disminuiría la  $P_n$  debido a su activa participación en numerosos puntos del proceso fotosintético, dentro de los cuales destacan la síntesis de la clorofila y la actividad de la enzima Rubisco. En este último caso, el déficit de Fe afectaría la enzima en dos sentidos: por un lado en forma directa, al reducir la expresión de genes que codifican para su síntesis y, por el otro, en forma indirecta, dado que esta menor cantidad de Rubisco conduce a la acumulación de la  $C_i$ , con el consecuente cierre de los estomas y disminución de la  $g_s$ , lo que lleva a una menor  $E$ . Esto ocasiona un aumento de la  $T_f$  y, así, al superarse el óptimo, se pierde la actividad de la Rubisco activasa, disminuyendo, aun más, la cantidad de Rubisco presente.

Por otro lado, el índice SPAD se relacionó lineal, positiva y significativamente con la concentración foliar de clorofila, por lo que constituye una alternativa idónea para evaluar el grado de clorosis de una hoja (Peryea y Kammereck, 1997). Al respecto, Pestana et al. (2003) afirman que el índice SPAD es el mejor indicador del estado nutricional férrico, coincidiendo con Álvarez-Fernández et al. (2005), quienes sostienen que la intensidad del color verde de las hojas es la característica más sensible de la planta frente al déficit de Fe.

En este sentido, los resultados evidenciaron una marcada diferencia en la intensidad de verde de las hojas entre las plantas tratadas con Fe-EDDHA y los demás tratamientos, en

particular con el testigo. Esto indica que la aplicación de Fe-EDDHA resultó ser un tratamiento eficaz en la corrección de la clorosis férrica del arándano, al igual que ha sido demostrado para otras especies frutales, tales como vid (Covarrubias et al., 2014; Smith y Cheng, 2006), peral (Tagliavini et al., 2000), duraznero (Álvarez-Fernández et al., 2005), cítricos (Huang et al., 2012), kiwi (Loupassaki et al., 1995), olivo (Fernández-Escobar et al., 1993) y palto (Gregoriou et al., 1983). Por su parte, los arándanos asociados con ambas gramíneas mostraron una concentración de clorofila foliar inferior a la del Fe-EDDHA, pero significativamente superior a la del testigo, por lo cual la asociación con gramíneas representaría una alternativa eficaz para la corrección de la clorosis férrica. Resultados similares han sido reportados por otros autores para el caso del maní (*Arachis hypogaea* L.) asociado con maíz (Zuo et al., 2000; Inal et al., 2007; Zuo y Zhang, 2008), trigo, cebada y avena (Zuo y Zhang, 2008), cítricos asociados con *Festuca ovina*, *Festuca rubra*, *Poa nemoralis* (Ammari y Rombolà, 2008) y *Poa pratensis* (Cesco et al., 2006), y vid asociada con *Festuca rubra* (Covarrubias et al., 2014).

En el presente estudio, la *Festuca rubra* resultó más eficaz que la *Poa pratensis* en el control de la clorosis férrica; si bien esto coincide con Ammari y Rombolà (2008), difiere de Cesco et al. (2006). Al respecto, se ha señalado que, en sistemas con asociación de especies, la corrección del déficit de Fe depende de la eficacia de las gramíneas utilizadas para liberar compuestos fitosideróforos (Ammari y Rombolà, 2008). De hecho, existe una estrecha relación entre la resistencia de una especie gramínea al déficit de Fe y su capacidad para exudar fitosideróforos (Marschner et al., 1986; Kawai et al., 1988). Esta relación varía entre las distintas especies (Römheld y Marschner, 1990; Onyezili y Ross, 1993) e, incluso, entre los distintos genotipos de una misma especie (Brown y Jolley, 1989; Bernards et al., 2002). En este sentido, Ammari y Rombolà (2008) observaron una mayor eficacia de la *Festuca* sp. en comparación con la *Poa* sp., asociadas a cítricos (citrumelo ‘Swingle’), lo que puede atribuirse, por un lado, a su mayor tasa de liberación de fitosideróforos (Ammari y Rombolà, 2008) y, por el otro, a que su principal fitosideróforo exudado es el ácido 2'-deoximugineico (DMA) (Ma et al., 2003), el cual es capaz de solubilizar el Fe con alta especificidad y, así, la eficacia como quelante es mayor que la de otros fitosideróforos (Ma y Nomoto, 1996).

Es importante destacar que el efecto de la asociación con gramíneas sobre la clorosis férrica de las plantas se observó en la primera temporada desde la siembra, de la misma manera que reportaron Covarrubias et al. (2014); de esta manera, el intercalado del cultivo con especies gramíneas constituiría no sólo una alternativa eficaz sino también eficiente para el control del déficit de Fe. Por lo tanto, en un futuro ensayo podrían evaluarse otras gramíneas, tanto nativas como introducidas, con el fin de comparar su eficacia y comportamiento en el control de la clorosis férrica, así como sus efectos a largo plazo sobre el cultivo principal.

En el caso de la aplicación de sangre bovina, este tratamiento no resultó eficaz para mejorar la clorosis férrica de las plantas, dado que éstas evidenciaron una concentración de clorofila foliar inferior a las plantas testigo durante gran parte de la temporada. No obstante, no debe descartarse esta estrategia como una posible alternativa sostenible para controlar el déficit de Fe, puesto que su eficacia ha sido demostrada en especies frutales como vid (Tessarini et al., 2013) y peral (Tagliavini et al., 2000; Sorrenti et al., 2012) y, además, porque es posible

que el resultado negativo en este ensayo sea consecuencia de una intoxicación temporal de las plantas por exceso de nitrógeno. Esta hipótesis se basa en tres hechos: (1) se utilizó una dosis de aplicación mayor a la recomendada en la literatura (Tagliavini et al., 2000; López-Rayó et al., 2015); (2) además de la fertilización nitrogenada realizada por el huerto, las plantas tratadas con sangre bovina recibieron un aporte adicional de nitrógeno, dada la formulación del producto (Apéndice II, Cuadro 2), el cual fue de 14 g/planta en total, es decir, más de la mitad de lo que necesita una planta de arándano de esa edad, que son 25,5 g de nitrógeno por temporada (Retamales y Hancock, 2012a), por lo que es posible que se haya superado la cantidad requerida por las plantas; (3) algunos de los síntomas típicos de una dosis elevada de nitrógeno, tales como clorosis foliar y necrosis del borde de las hojas (Hawkesford et al., 2011), se observaron en las plantas tratadas con sangre bovina (Apéndice I, Foto 4). Por lo tanto, en una futura investigación debería evaluarse nuevamente esta estrategia, ajustando la dosis y frecuencia de aplicación, de manera de encontrar la condición que corrija el déficit de Fe en el arándano 'Emerald'.

Por otro lado, al evaluar el efecto de los distintos tratamientos de control del déficit de Fe sobre el intercambio gaseoso foliar del arándano 'Emerald', los resultados estuvieron acorde a lo explicado anteriormente. Las tasas de  $P_n$ ,  $g_s$  y E fueron mayores en los tratamientos que, al momento de las evaluaciones, tenían una mayor concentración foliar de clorofila. De esta manera, se observó que, en las primeras horas de la mañana, las tasas de  $P_n$ ,  $g_s$  y E fueron ampliamente mayores en las plantas tratadas con Fe-EDDHA que en las plantas testigo, lo que coincide con Smith y Cheng (2006) y difiere de Covarrubias et al. (2014). Por su parte, las plantas asociadas con ambas gramíneas alcanzaron tasas menores de  $P_n$ ,  $g_s$  y E respecto de las tratadas con Fe-EDDHA, pero mayores en comparación con las plantas testigo, al igual que observaron Covarrubias et al. (2014). En este sentido, se ha reportado que la disminución lineal de la  $P_n$  con la concentración foliar de clorofila estaría asociada a una reducción de la capacidad fotoquímica, debida a un menor número de centros de reacción en el fotosistema I y de transportadores de electrones (Spiller y Terry, 1980), llevando a un menor número de unidades fotosintéticas, por unidad de área foliar, y no a un cambio en el tamaño de la unidad fotosintética (Terry, 1980).

Las plantas tratadas con sangre bovina también mostraron una tasa de  $P_n$ ,  $g_s$  y E mayor que las plantas testigo, pero menor que las plantas bajo asociación con gramíneas. Esto contribuiría a la hipótesis de que la aplicación de sangre bovina causó una intoxicación por exceso de nitrógeno, puesto que se han reportado disminuciones de la  $P_n$  cuando las plantas crecen bajo un excesivo nivel de este nutriente (Evans, 1989; Tóth et al., 2002). A pesar de ello, las plantas tratadas con sangre bovina tuvieron un mayor crecimiento vegetativo que el resto debido, entre otros parámetros, al aumento del área foliar (Capítulo III). Por lo tanto, si bien estas plantas fijaron menos carbono por unidad de área foliar, debido a la menor cantidad de unidades fotosintéticas, se podría especular que la fijación total de carbono, a nivel de planta, haya sido similar a la fijación de las plantas tratadas con Fe-EDDHA, como consecuencia de la mayor área foliar.

En este punto, es importante mencionar que la EUCI se relacionó de manera negativa y significativa con la concentración foliar de clorofila, es decir, las hojas cloróticas fijan más carbono, por unidad de clorofila, que las hojas verdes. Al respecto, diversos autores han señalado que el déficit de Fe conduce a un aumento en la relación clorofila  $a/b$  (Keller y

Koch, 1964; Naik y Joshi, 1979), debido a la fotodestrucción preferencial de la clorofila *b* en las hojas cloróticas (Diez, 1959, citado por Terry y Abadía, 1986). Así, plantas carentes de Fe tienen una mayor cantidad de clorofila ubicada en los complejos centros de reacción y menos clorofila ubicada en la antena colectora, por lo cual poseen un transporte de electrones más eficiente por unidad de clorofila (Terry y Abadía, 1986).

A pesar de que, en ambas fechas de evaluación, el comportamiento de los tratamientos y las diferencias entre ellos fueron similares, se encontraron diferencias en la intensidad de los parámetros evaluados entre las dos fechas. En el caso de la  $P_n$ , se observó una disminución del 15,5% en la segunda fecha respecto de la primera. Dado que la intensidad de radiación no varió drásticamente entre ambas fechas, la principal diferencia radicó en la presencia de la fruta en las plantas. En este sentido, ha sido mencionado el papel de los frutos como principal sumidero de fotoasimilados de una planta (Avery, 1975, citado por DeJong, 1986; Chalmers et al., 1975; Crews et al., 1975; Monselise y Lenz, 1980; Pavel y Dejong, 1993), lo que justificaría que la tasa fotosintética sea mayor cuando los frutos se encuentran presentes. Esta disminución en la  $P_n$ , una vez que los frutos han sido recolectados, se ha observado, también, en arándano alto ‘Brigitta’ (Jorquera-Fontena et al., 2014; 2016), manzano (Gucci et al., 1995), duraznero (Li et al., 2005) y cítricos (Iglesias et al., 2002; Syvertsen et al., 2003).

Es importante destacar que, si bien el déficit de Fe modificó las variables del intercambio gaseoso foliar evaluadas, las cuales fueron progresivamente menores mientras mayor fue el déficit, no se observaron cambios en el patrón diario de estos parámetros. Es posible que esto se deba a que el comportamiento fotosintético está fuertemente vinculado con la especie; de hecho, Tromp (2005) afirma que si bien la fotosíntesis depende de las condiciones ambientales, hídricas y nutricionales, ésta se encuentra principalmente influenciada por el componente genético. En este sentido, de los resultados también se desprende que, en el caso particular del arándano ‘Emerald’, las mayores tasas de  $P_n$ ,  $g_s$  y  $E$  se alcanzan en las primeras horas de la mañana, alrededor de las 10:00 h, cuando el  $PPFD$  ronda los 1300-1500  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , luego de lo cual, se observa una clara disminución de estos parámetros, a medida que la  $PPFD$  y la  $T_f$  aumentan. Este comportamiento se justifica por ser el arándano una especie de sotobosque (Gough, 1994) y, como tal, estar adaptada a bajas intensidades de radiación directa, al encontrarse expuesta, en forma mayoritaria, a la radiación difusa (Retamales y Hancock, 2012b).

En consecuencia, el sombreado parcial de las plantas podría conducir a mejorar la tasa fotosintética, debido a una menor  $E$  y, por ende, a una mayor  $g_s$  a lo largo del día. Si bien esto se ha evaluado anteriormente (Retamales et al., 2006; Lobos, 2008; Romero, 2011), en ninguno de esos casos se trabajó con plantas cloróticas. Por lo tanto, y en vistas de optimizar la productividad del arándano ‘Emerald’ cultivado en la zona central de Chile, en una futura investigación resultaría interesante evaluar el impacto de mallas de sombra sobre el intercambio gaseoso foliar de estas plantas cloróticas, así como su efecto sobre la producción y calidad de fruta.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo este estudio, se concluye que:

El arándano 'Emerald' realiza el mayor intercambio gaseoso foliar durante las primeras horas de la mañana.

La clorosis férrica modifica el intercambio gaseoso foliar en arándanos 'Emerald', disminuyéndolo progresivamente mientras mayor es su intensidad.

La menor fotosíntesis neta de las hojas cloróticas en arándanos 'Emerald' se produce, probablemente, como consecuencia de una limitante enzimática.

La clorosis férrica disminuye la eficiencia de uso del agua, pero aumenta la eficiencia de uso de la clorofila y la eficiencia intrínseca de uso del agua en arándanos 'Emerald'.

El índice SPAD representa una herramienta útil e idónea para evaluar y cuantificar la severidad de la clorosis férrica en arándanos 'Emerald', al relacionarse positiva y significativamente con la concentración foliar de clorofila.

La aplicación de quelato Fe-EDDHA incrementa sustancialmente la concentración de clorofila foliar en arándanos 'Emerald', controlando, en forma notoria, la clorosis férrica en esta especie y favoreciendo el intercambio gaseoso foliar.

La asociación con las especies gramíneas *Festuca rubra* y *Poa pratensis* aumenta la concentración de clorofila foliar en arándanos 'Emerald', por lo cual constituye una alternativa sostenible eficaz para controlar la clorosis férrica en esta especie, incrementando el intercambio gaseoso foliar.

La aplicación de un compuesto derivado de sangre animal no aumenta la concentración de clorofila foliar en arándanos 'Emerald', por lo cual no representa una técnica eficaz para el manejo de la clorosis férrica en esta especie, sin ejercer un efecto positivo en el intercambio gaseoso foliar.

## LITERATURA CITADA

- Abadía, A.; F. Ambard-Bretteville and A. Tremolières. 1988, apr. Iron-deficiency in pea leaves: effect on lipid composition and synthesis. *Physiologia Plantarum*, 72(4): 713-717.
- Abadía, J. 1992. Leaf responses to Fe deficiency: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 15(10): 1699-1713.
- Abadía, J. and A. Abadía. 1993. Iron and plant pigments. (cap. 15; pp. 327-343). In: Barton, L.L. and B.C. Hemming (eds.). Iron chelation in plants and soil microorganisms. San Diego, USA: Academic Press. 506p.
- Abadía, J.; F. Morales and A. Abadía. 1999, oct. Photosystem II efficiency in low chlorophyll, iron-deficient leaves. *Plant and Soil*, 215(2): 183-192.
- Akaike, H. 1974, dec. A new look at the statistical identification model. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 19(6): 716-723.
- Alkhatib, K. and G.M. Paulsen. 1999, jan. High temperature effects on photosynthetic processes in temperate and tropical cereals. *Crop Science*, 39(1): 119-125.
- Álvarez-Fernández, A.; S. García-Marco and J. Lucena. 2005, feb. Evaluation of synthetic iron(III)-chelates (EDDHA/Fe<sup>3+</sup>, EDDHMA/Fe<sup>3+</sup> and the novel EDDHSA/Fe<sup>3+</sup>) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy*, 22(2): 119-130.
- Ammari, T. and A.D. Rombolà. 2008, may. Overcoming iron deficiency chlorosis in citrus through intercropping with perennial grass species. *Acta Horticulturae*, 868: 327-330.
- Anderson, C.A. 1984, jun. Development of leaf water deficits in detached green and lime-chlorotic leaves of seedlings from populations of *Eucalyptus obliqua* L'Hérit. *Plant and Soil*, 77(2): 171-181.
- Anderson, J.M.; J.C. Waldron and S.W. Thorne. 1978, aug. Chlorophyll-protein complexes of spinach and barley thylakoids. *FEBS (Federation of European Biochemical Societies) Letters*, 92(2): 227-233.
- Asada, K. 1999, jun. The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50(1): 601-639.
- Behrenfeld, M.J.; A.J. Bale; Z.S. Kolber; J. Aiken and P.G. Falkowski. 1996. Confirmation of iron limitation of phytoplankton photosynthesis in the equatorial Pacific Ocean. *Nature*, 383(6600): 508-511.



- Bernards, M.L.; V.D. Jolley; W.B. Stevens and G.W. Hergert. 2002, apr. Phytosiderophore release from nodal, primary and complete root systems in maize. *Plant and Soil*, 241(1): 105-113.
- Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2005. Grapevine growth and physiological responses to iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 28(5): 737-749.
- Bertamini, M.; K. Muthuchelian and N. Nedunchezian. 2002, apr. Iron deficiency induced changes on the donor side of PSII in field grown grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot noir) leaves. *Plant Science*, 162(4): 599-605.
- Briat, J.F. 2007. Iron dynamics in plants. (pp. 137-180). In: Kader, J.C. and M. Delseny. (eds.). *Advances in Botanical Research*, Vol. 46. London, UK: Academic Press. 312p.
- Broadley, M.; P. Brown; I. Cakmak; Z. Rengel and F. Zhao. 2011. Function of Nutrients: Micronutrients. (cap. 7; pp. 191-248). In: Marschner, H. (ed.). *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.
- Brown, J.C. and V.D. Jolley. 1989, sep. Plant metabolic responses to Fe-deficiency stress. *BioScience*, 39(8): 546-551.
- Camm, E. and B. Green. 1981, may. Widespread distribution of some minor chlorophyll protein complexes in some plants and algae. *Plant Physiology*, 67(5): 1061-1063.
- Campbell, R.J.; K.N. Mobley; R.P. Marini and D.G. Pfeiffer. 1990, mar. Growing conditions alter the relationship between SPAD-501 values and apple leaf chlorophyll. *Horticultural Science*, 25(3): 330-331.
- Cesco, S.; A.D. Rombolà; M. Tagliavini; Z. Varanini and R. Pinton. 2006, sep. Phytosiderophores released by graminaceous species promote <sup>59</sup>Fe-uptake in citrus. *Plant and Soil*, 287(1): 223-233.
- Chalmers, D.J.; R.L. Canterford; P.H. Jerie; T.R. Jones and T.D. Ugalde. 1975. Photosynthesis in relation to growth and distribution of fruit in peach trees. *Australian Journal of Plant Physiology*, 2(4): 635-645.
- Chaumont, M.; J.F. Morot-Gaudry and C.H. Foyer. 1994, sep. Seasonal and diurnal changes in photosynthesis and carbon partitioning in *Vitis vinifera* leaves in vines with and without fruit. *Journal of Experimental Botany*, 45(9): 1235-1243.
- Chen, L.S.; B.R. Smith and L. Cheng. 2004, sep. CO<sub>2</sub> assimilation, photosynthetic enzymes and carbohydrates of 'Concord' grape leaves in response to iron supply. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(5): 738-744.
- Covarrubias, J.I.; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2014, feb. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1): 149-159.

Crafts-Brandner, S.J. and M.E. Salvucci. 2000, nov. Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO<sub>2</sub>. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(24): 13430-13435.

Crews, C.E.; S.L. Williams and H.M. Vines. 1975, jan. Characteristics of photosynthesis in peach leaves. *Planta*, 126(2): 97-104.

DeJong, T.M. 1986, jan. Fruit effects on photosynthesis in *Prunus persica* L. *Physiologia Plantarum*, 66(1): 149-153.

Demmig-Adams B. and W.W. Adams. 1996, sep. Xanthophyll cycle and light stress in nature: uniform response to excess direct sunlight among higher plant species. *Planta*, 198(3): 460-470.

Di Rienzo, J.A.; A.W. Guzmán and F. Casanoves. 2002, jun. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree obtained by average linkage of the matrix of euclidean distances between treatment means. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 7(2): 129-142.

Di Rienzo, J.A.; F. Casanoves; M.G. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada y C.W. Robledo. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

Duan, W.; P.G. Fan; L.J. Wang; W.D. Li; S.T. Yan and S.H. Li. 2008, jan. Photosynthetic response to low sink demand after fruit removal in relation to photoinhibition and photoprotection in peach trees. *Tree Physiology*, 28(1): 123-132.

Eichert, T.; J.J. Peguero-Pina; E. Gil-Pelegrín; A. Heredia and V. Fernández. 2010, jan. Effects of iron chlorosis and iron resupply on leaf xylem architecture, water relations, gas exchange and stomatal performance of field-grown peach (*Prunus persica*). *Physiologia Plantarum*, 138(1): 48-59.

Evans, J.R. 1989, jan. Photosynthesis and nitrogen relationship in leaves of C3 plants. *Oecología*, 78(1): 9-19.

Farquhar, G.D. and T.D. Sharkey. 1982. Stomatal conductance and photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 33(1): 317-345.

Feller, U.; S. Crafts-Brandner and M. Salvucci. 1998, feb. Moderately high temperatures inhibit ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) activase-mediated activation of Rubisco. *Plant Physiology*, 116(2): 539-546.

Fernández, V.; T. Eichert; V. Del Río; G. López-Casado; J.A. Heredia-Guerrero; A. Abadía; A. Heredia and J. Abadía. 2008, oct. Leaf structural changes associated with iron deficiency chlorosis in field-grown pear and peach: physiological implications. *Plant and Soil*, 311(1-2): 161-172.

Fernández-Escobar, R.; D. Barranco and M. Benlloch. 1993, mar. Overcoming iron chlorosis in olive and peach trees using a low-pressure trunk-injection method. *Horticultural Science*, 28(3): 192-194.

Flexas, J.; M. Ribas-Carbó; A. Diaz-Espejo; J. Galmés and H. Medrano. 2008, may. Mesophyll conductance to CO<sub>2</sub>: current knowledge and future prospects. *Plant, Cell and Environment*, 31(5): 602-621.

Formaggio, E.; G. Cinque and R. Bassi. 2001, dec. Functional architecture of the major light-harvesting from higher plants. *Journal of Molecular Biology*, 314(5): 1157-1166.

Gogorcena, Y.; N. Molias; A. Larbi; J. Abadía and A. Abadía. 2001, dec. Characterization of the response of cork oak (*Quercus suber*) to iron deficiency. *Tree Physiology*, 21(18): 1335-1340.

Gough, R.E. 1994. Selection and improvement. (cap. 2; pp. 5-10). In: The Highbush Blueberry and Its Management. New York, USA: Food Products Press. 272p.

Gregoriou, C.; M. Papademetriou and L. Christofides. 1983. Use of chelates for correcting iron chlorosis in avocados growing in calcareous soils in Cyprus. *California Avocado Society Yearbook*, 67(3): 115-122.

Gucci, R.; L. Corelli Grappadelli; S. Tustin and G. Ravaglia. 1995, jan. The effect of defruiting at different stages of fruit development on leaf photosynthesis of 'Golden Delicious' apple. *Tree Physiology*, 15(1): 35-40.

Havaux, M. 1993, may. Rapid photosynthetic adaptation to heat stress triggered in potato leaves by moderately elevated temperatures. *Plant, Cell and Environment*, 16(4): 461-467.

Havaux, M. and F. Tardy. 1996, sep. Temperature-dependent adjustment of the thermal stability of photosystem II in *vivo*: possible involvement of xanthophylls-cycle pigments. *Planta*, 198(3): 324-333.

Havaux, M.; F. Tardy; J. Ravenel; D. Chanu and P. Parot. 1996, dec. Thylakoid membrane stability to heat stress studied by flash spectroscopic measurements of the electrochromic shift in intact potato leaves: influence of the xanthophyll content. *Plant, Cell and Environment*, 19(12): 1359-1368.

Hawkesford, M.; W. Horst; T. Kichey; H. Lambers; J. Schjoerring; I. Moller and P. White. 2011. Function of Nutrients: Macronutrients. (cap. 6; pp. 135-189). In: Marschner, H. (ed.). Mineral Nutrition of Higher Plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.

Hendrickson, L.; M.C. Ball; J.T. Wood; W.S. Chow and R.T. Furbank. 2004, jul. Low temperature effects on photosynthesis and growth of grapevine. *Plant, Cell and Environment*, 27(7): 795-809.

Hirzel, J. (Ed.). 2014. El suelo como fuente nutricional. (cap. 2, pp. 69-109). En su: Diagnóstico nutricional y principios de fertilización en frutales y vides. 2a. ed., aum. y corr. Chillán, Chile: INIA Quilamapu. 322p. (Colección Libros INIA N°31).

Holloway, P.J. 1969, feb. The effects of surface wax on leaf wettability. *Annals of Applied Biology*, 63(1): 145-153.

Huang H.; C.X. Hu; Q. Tan; X. Hu; X. Sun and L. Bi. 2012, oct. Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Scientia Horticulturae*, 146: 137-142.

Iglesias, D.J.; L. Lliso; F.R. Tadeo and M. Talon. 2002, dec. Regulation of photosynthesis through source:sink imbalance in citrus is mediated by carbohydrate content in leaves. *Physiologia Plantarum*, 116(4): 563-572.

Inal, A.; A. Gunes; F. Zhang and I. Cakmak. 2007, may. Peanut/maize intercropping induced changes in rhizosphere and nutrient concentrations in shoots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(5): 350-356.

Jeong, J. and M.L. Guerinot. 2009, may. Homing in on iron homeostasis in plants. *Trends Plant Science*, 14(5): 280-285.

Jorquera-Fontena, E.; M. Alberdi; M. Reyes-Díaz and N. Franck. 2016, jun. Rearrangement of leaf traits with changing source-sink relationship in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) leaves. *Photosynthetica*, 54(2): 1-10.

Jorquera-Fontena, E.; M. Alberdi and N. Franck. 2014, dec. Pruning severity affects yield, fruit load and fruit and leaf traits of 'Brigitta' blueberry. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(4): 855-868.

Kawai, S.; K. Itoh and S. Takagi. 1988. Studies on phytosiderophores: biosynthesis of mugineic acid and 2'-deoxymugineic acid in *Hordeum vulgare* (L.) var. Minorimugi. *Tetrahedron Letters*, 29(9): 1053-1056.

Keller, T. and W. Koch. 1964, feb. The effect of iron chelate fertilization of poplar upon CO<sub>2</sub> uptake, leaf size, and content of leaf pigments and iron. *Plant and Soil*, 20(1): 116-126.

Ketellapper, H.J. 1963. Stomatal physiology. *Annual Review of Plant Physiology*, 14: 249-270.

Krugh, B.; L. Bichham and D. Miles. 1994. The solid-state chlorophyll meter, a novel instrument for rapidly and accurately determining the chlorophyll concentrations in seedling leaves. *Maize Genetics Cooperation Newsletter*, 68: 25-27.

Larbi, A.; A. Abadía; F. Morales and J. Abadía. 2004, jan. Fe resupply to Fe-deficient sugar beet plants leads to rapid changes in the violaxanthin cycle and other photosynthetic characteristics without significant *de novo* chlorophyll synthesis. *Photosynthesis Research*, 79(1): 59-69.

Larbi, A.; A. Abadía; J. Abadía and F. Morales. 2006, sep. Down co-regulation of light absorption, photochemistry and carboxylation in Fe-deficient plants growing in different environments. *Photosynthesis Research*, 89(2): 113-126.

Li, S.H.; M. Génard; C. Bussi; J.G. Huguet; R. Habib; J. Besset and R. Laurent. 2001, jan. Fruit quality and leaf photosynthesis in response to microenvironment modification around individual fruit by covering the fruit with plastic in nectarine and peach trees. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76(1): 61-69.

Li, W.D.; S.H. Li; S.H. Yang; J.M. Yang; X.B. Zheng; X.D. Li and H.M. Yao. 2005, mar. Photosynthesis in response to sink-source manipulation during different phenological stages of fruit development in peach trees: regulation by stomatal aperture and leaf temperature. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 80(4): 481-487.

Lindsay, W.L. and A.P. Schwab. 1982. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *Journal of Plant Nutrition*, 5(4-7): 821-840.

Lobos, G.A.; J.B. Retamales; A. del Pozo; J.F. Hancock and J.A. Flore. 2008, jul. Physiological response of *Vaccinium corymbosum* 'Elliott' to shading nets in Michigan. *Acta Horticulturae*, 810: 465-470.

López-Rayó, S.; M. Di Foggia; G. Bombai; F. Yunta; E. Rodrigues Moreira; G. Filippini; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2015, feb. Blood-derived compounds can efficiently prevent iron deficiency in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1): 135-142.

Loue, A. 1988. El hierro. (cap. 2, pp. 53-82). In: Los microelementos en la agricultura. Madrid, España: Mundi-Prensa. 354p.

Loupassaki, M.H.; S.M. Lionakis and I.I. Androulakis. 1995, sep. Iron deficiency in kiwi and its correction by different methods. *Acta Horticulturae*, 444: 267-271.

Ma, J.F. and K. Nomoto. 1996, jul. Effective regulation of iron acquisition in graminaceous plants. The role of mugineic acids as phytosiderophores. *Physiologia Plantarum*, 97(3): 609-617.

Ma, J.F.; H. Ueno; D. Ueno; A.D. Rombolà and T. Iwashita. 2003, sep. Characterization of phytosiderophore secretion under Fe deficiency stress in *Festuca rubra*. *Plant and Soil*, 256(1): 131-137.

Maldonado-Torres, R.; J.D. Etchevers-Barra; G. Alcántar-González; J. Rodríguez-Alcazar and M.T. Colinas-León. 2006. Morphological changes in leaves of Mexican lime affected by iron chlorosis. *Journal of Plant Nutrition*, 29(4): 615-628.

Markwell, J.; J.C. Osterman and J.L. Mitchell. 1995, jan. Calibration of the Minolta SPAD-502 leaf chlorophyll meter. *Photosynthesis Research*, 46(3): 467-472.

Marschner, H.; V. Römheld and M. Kissel. 1986. Different strategies in higher plants in mobilization and uptake of iron. *Journal of Plant Nutrition*, 9(3-7): 695-713.

Mengel, K.; E. Kirkby; H. Kosegarten and T. Appel (Eds.). 2001. Iron. (cap. 13, pp. 553-571). In: Principles of Plant Nutrition. 5a. ed. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 849p.

Monge, E.; C. Pérez; A. Pequerul; P. Madero and J. Val. 1993. Effect of iron chlorosis on mineral nutrition and lipid composition of thylakoid biomembrane in *Prunus persica* L. Bastch. (part H; pp. 477-482). In: Fragoso, M.A.; M.L. Van Beusichem and A. Houwers (eds.). Optimization of plant nutrition. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 684p. (Developments in Plant and Soil Sciences Series, Vol. 53)

Monselise, S.P. and F. Lenz. 1980, sep. Effect of fruit load on photosynthetic rates of budded apple trees. *Die Gartenbauwissenschaft*, 45(5): 220-224.

Morales, F.; A. Abadía and J. Abadía. 1998. Photosynthesis, quenching of chlorophyll fluorescence and thermal energy dissipation in iron-deficient sugar beet leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, 25(4): 403-412.

Morales, F.; A. Abadía; R. Belkhoja and J. Abadía. 1994, oct. Iron deficiency induced changes in the photosynthetic pigment composition of field-grown pear (*Pyrus communis* L.) leaves. *Plant, Cell and Environment*, 17(10): 1153-1160.

Naik, G.R. and G.V. Joshi. 1979, dec. Photosynthetic carbon fixation in iron-chlorotic and recovered green sugarcane leaves. *Plant and Soil*, 53(4): 505-511.

Niyogi, K.K. 1999, jun. Photoprotection revisited: genetic and molecular approaches. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 333-359.

Onyezili, F.N. and J.D. Ross. 1993. Iron deficiency stress responses of five graminaceous monocots. *Journal of Plant Nutrition*, 16(5): 953-974.

Pastor, M.; J. Castro and J. Hidalgo. 2001. Corrección de la clorosis férrica en olivar en zonas afectadas. *Vida Rural*, 129: 42-44.

Pavel, E.W. and T.M. Dejong. 1993, nov. Source-and sink-limited growth periods of developing fruits indicated by relative growth rate analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118(6): 820-824.

- Peryea, F.J. 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.
- Pestana M.; A. De Varennes and E. Araújo. 2003, jan. Agriculture Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: a review. *Food, Agriculture and Environment*, 1(1): 46-51.
- Pinheiro, J.; D. Bates; S. DebRoy; D. Sarkar and R Core Team. 2014. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-117, CRAN-Package. Auckland, New Zealand.
- Polivka, T.; D. Zigmantas; V. Sundström; E. Formaggio; G. Cinque and R. Bassi. 2002, jan. Carotenoid S1 state in a recombinant light-harvesting complex of photosystem II. *Biochemistry*, 41(2): 439-450.
- Quinn, P.J. and W.P. Williams. 1985. Environmentally induced changes in chloroplast membranes and their effects on photosynthetic function in photosynthetic mechanisms and the environment. (cap. 1; pp. 1-47). In: Barber, J. and N.R. Baker (eds.). Photosynthetic mechanisms and the environment. 1a. ed. Amsterdam, Holland: Elsevier. 582p.
- Retamales, J. and F. Hancock. 2012a. Nutrition. (cap. 5, pp. 103-142). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).
- Retamales, J. and F. Hancock. 2012b. Light, photosynthesis, quality and yield in blueberries. (cap. 4, pp. 75-101). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).
- Retamales, J.B.; J.M. Montecino; G.A. Lobos and L.A. Rojas. 2006, aug. Colored shading nets increase yields and profitability of highbush blueberries. *Acta Horticulturae*, 770: 193-197.
- Richardson, A.D.; S.P. Duigan and G.P. Berlyn. 2002, jan. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. *New phytologist*, 153(1): 185-194.
- Rombolà, A.D. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. (cap. 3, pp. 61-83). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.
- Rombolà, A.D.; Y. Gogorcena; A. Larbi; F. Morales; E. Baldi; B. Marangoni; M. Tagliavini and J. Abadía. 2005, apr. Iron deficiency-induced changes in carbon fixation and leaf elemental composition of sugar beet (*Beta vulgaris*) plants. *Plant and Soil*, 271(1): 39-45.
- Romero, S. 2011. Influencia de mallas sombreadoras sobre características morfológicas, fisiológicas y productivas de *Vaccinium corymbosum* L. (cv. Elliott). Tesis Magíster en Horticultura. Talca, Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 49h.

Römheld, V. and H. Marschner. 1990, apr. Genotypical differences among graminaceous species in release of phytosiderophores and uptake of iron phytosiderophores. *Plant and Soil*, 123(2): 147-153.

Sainz Rozas, H. y H.E. Echeverría. 1998. Relación entre las lecturas del medidor de clorofila (Minolta SPAD 502) en distintos estadios del ciclo del cultivo de maíz y el rendimiento en grano. *Revista Facultad de Agronomía de La Plata*, 103(1): 37-44.

Salvucci, M.; K. Osteryoung; S. Crafts-Brandner and E. Vierling. 2001, nov. Exceptional sensitivity of Rubisco activase to thermal denaturation *in vitro* and *in vivo*. *Plant Physiology*, 127(3): 1053-1064.

Sánchez De Miguel, P.; P. Junquera; L. Jiménez y J.R. Lissarrague. 2009, ene-feb. Efectos de la temperatura foliar y de la humedad relativa en la respuesta fotosintética a la luz de hojas de vid de los cvs. Cabernet Sauvignon y Tempranillo en el periodo de maduración. *Revista Enología*, 1: 1-8.

Schubert, A.; M. Restagno and C. Lovisolo. 1996. Net photosynthesis of grapevine leaves of different age exposed to high or low light intensities. *Advances in Horticultural Science*, 10(3): 163-166.

Schwarz, G. 1978, mar. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6(2): 461-464.

Sharkey, T.D.; C.J. Bernacchi; G.D. Faquhar and E.L. Singsaas. 2007, sep. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C<sub>3</sub> leaves. *Plant, Cell and Environment*, 30(9): 1035-1040.

Shimshi, D. 1967. Leaf chlorosis and stomatal aperture, jul. *New Phytologist*, 66(3): 455-461.

Smith, B.R. and L. Cheng. 2006, oct. Fe-EDDHA alleviates chlorosis in 'Concord' grapevines grown at high pH. *Horticultural Science*, 41(6): 1498-1501.

Soldatini, G.F.; M. Tognini; A. Castagna; B. Baldan and A. Ranier. 2000. Alterations in thylakoid membrane composition induced by iron starvation in sunflower plants. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 1717-1732.

Sorrenti, G.; M. Toselli and B. Marangoni. 2012, mar. Use of compost to manage Fe nutrition of pear trees grown in calcareous soil. *Scientia Horticulturae*, 136(1): 87-94.

Spiller, S. and N. Terry. 1980, jan. Limiting factors in photosynthesis II: Iron stress diminishes photochemical capacity by reducing the number of photosynthetic units. *Plant Physiology*, 65(1): 121-125.

Stocking, C.R. 1975, apr. Iron deficiency and the structure and physiology of maize chloroplasts. *Plant Physiology*, 55(4): 626-631.



Syvertsen, J.P. 1987. Nitrogen content and CO<sub>2</sub> assimilation characteristics of *Citrus* leaves. *Horticultural Science*, 22(2): 289-291.

Syvertsen, J.P.; C. Goñi and A. Otero. 2003, sep. Fruit load and canopy shading affect leaf characteristics and net gas exchange of 'Spring' navel orange trees. *Tree Physiology*, 23(13): 899-906.

Tagliavini, M.; J. Abadía; A.D. Rombolà; A. Abadía; C. Tsipouridis and B. Marangoni. 2000. Agronomic means for the control of iron chlorosis in deciduous fruit trees. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2007-2022.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. Mineral nutrition (cap. 5, pp. 107-130). In: *Plant Physiology*. 5a. ed. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc. 782p.

Taylor, S.E. and N. Terry. 1986, jan. Variation in photosynthetic electron transport capacity and its effect on the light modulation of ribulose biphosphate carboxylase. *Photosynthesis Research*, 8(3): 249-256.

Terry, N. 1980, jan. Limiting factors in photosynthesis I: Use of iron stress to control photochemical capacity *in vivo*. *Plant Physiology*, 65(1):114-120.

Terry, N. 1983, apr. Limiting factors in photosynthesis IV: Iron stress mediated changes in light-harvesting and electron transport capacity and its effects on photosynthesis *in vivo*. *Plant Physiology*, 71(4): 855-860.

Terry, N. and J. Abadía. 1986. Function of iron in chloroplasts. *Journal of Plant Nutrition*, 9(3-7): 609-646.

Tessarín, P.; F. Yunta; E. Ingrosso; A. Boliani; J.I. Covarrubias and A.D. Rombolà. 2013, apr. Improvement of grapevine iron nutrition by a bovine blood-derived compound. *Acta Horticulturae*, 984: 335-338.

Tóth, V.R.; I. Mészáros; S. Veres and J. Nagy. 2002. Effects of the available nitrogen on the photosynthetic activity and xanthophyll cycle pool of maize in field. *Journal of Plant Physiology*, 159(6): 627-634.

Tromp, J. 2005. Metabolic processes. (cap. 4; pp. 39-54). In: Tromp, J.; A.D. Webster and S.J. Wertheim (eds.). *Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers. 400p.

Varotto, C.; D. Aiwald; P. Pesaresi; P. Jahns; F. Salamini and D. Leister. 2002, sep. The metal ion transporter IRT1 is necessary for iron homeostasis and efficient photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 31(5): 589-599.

Villar, D. y R. Ortega. 2003, ene. Bases teóricas y su aplicación para la fertilización nitrogenada en cultivos. *Revista de Agronomía y Forestal, Universidad Católica*, 18: 4-8.

- Winder, T.L. and J. Nishio. 1995, aug. Early iron deficiency stress response in leaves of sugar beet. *Plant Physiology*, 108(4): 1487-1494.
- Yadava, V.L. 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *Horticultural Science*, 21(6): 1449-1495.
- Yamamoto, A.; T. Nakamura; J. Adu-Gyamfi and M. Saigusa. 2002. Relationship between chlorophyll content in leaves of sorghum and pigeonpea determined by extraction method and by chlorophyll meter (SPAD-502). *Journal of Plant Nutrition*, 25(10): 2295-2301.
- Yang Y. 2005, dec. Can the strengths of AIC and BIC be shared? A conflict between model identification and regression estimation. *Biometrika*, 92(4): 937-950.
- Zufferey, V.; F. Murisier and R. Schultz. 2000. A model analysis of the photosynthetic response of *Vitis vinifera* L. cvs. Riesling and Chasselas leaves in the field: I. Interaction of age, light and temperature. *Vitis*, 39(1): 19-26.
- Zuo, Y. and F. Zhang. 2008, may. Effect of peanut mixed cropping with gramineous species on micronutrient concentrations and iron chlorosis of peanut plants grown in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 306(1): 23-36.
- Zuo, Y.; F. Zhang; X. Li and Y. Cao. 2000, may. Studies on the improvement in iron nutrition of peanut by intercropping with maize on a calcareous soil. *Plant and Soil*, 220(1): 13-25.

## APÉNDICE I



Foto 1. (A) Síntomas de clorosis férrica en planta de arándano 'Emerald' al inicio del experimento. (B) Clorosis férrica en un brote apical. Las fotografías fueron tomadas en febrero de 2014.

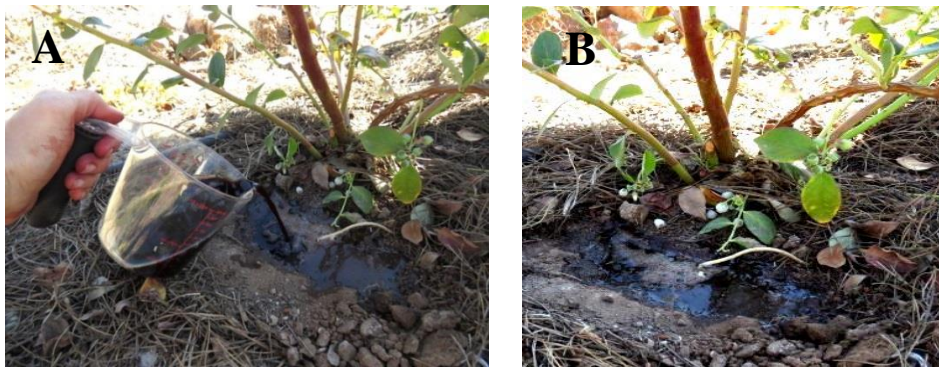


Foto 2. (A) Aplicación manual de las soluciones de Fe-EDDHA y formulado a base de sangre bovina a plantas de arándano 'Emerald'. (B) Detalle de la planta una vez realizada la aplicación.

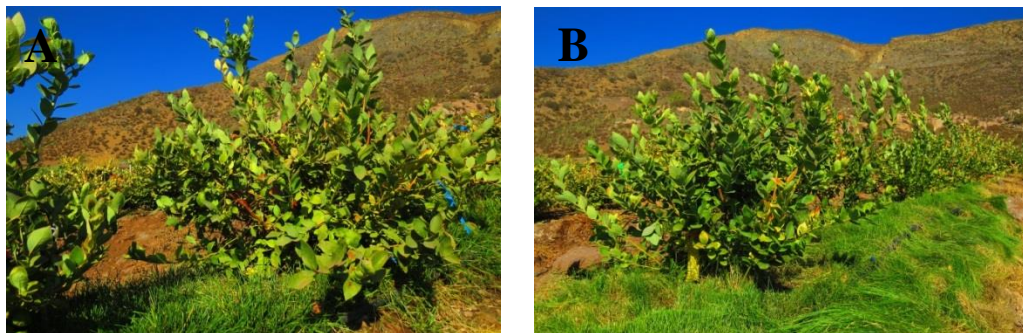


Foto 3. Asociación del arándano 'Emerald' con especies gramíneas. (A) *Poa prantesis* L. (B) *Festuca rubra* spp. *rubra* L.

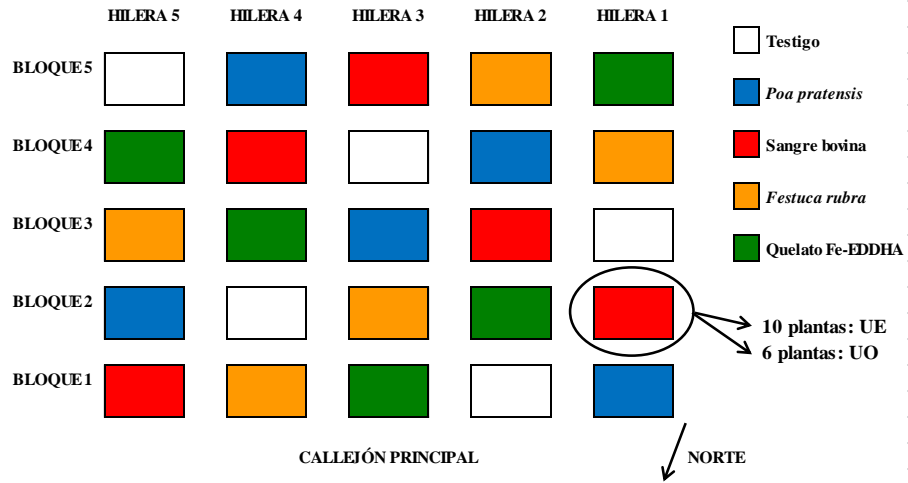


Figura 1. Esquema del diseño experimental del ensayo. Asignación de tratamientos.

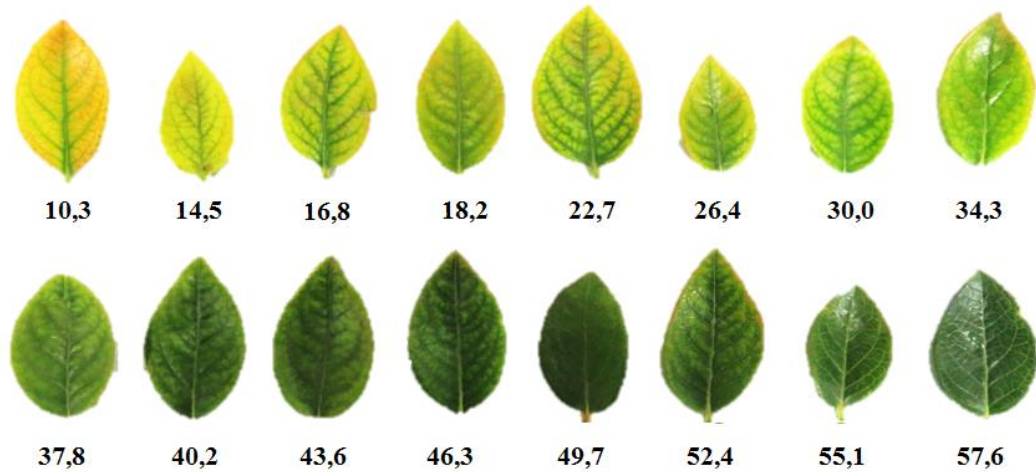


Figura 2. Índice SPAD de las hojas utilizadas para la curva de calibración del *chlorophyll meter* portátil.

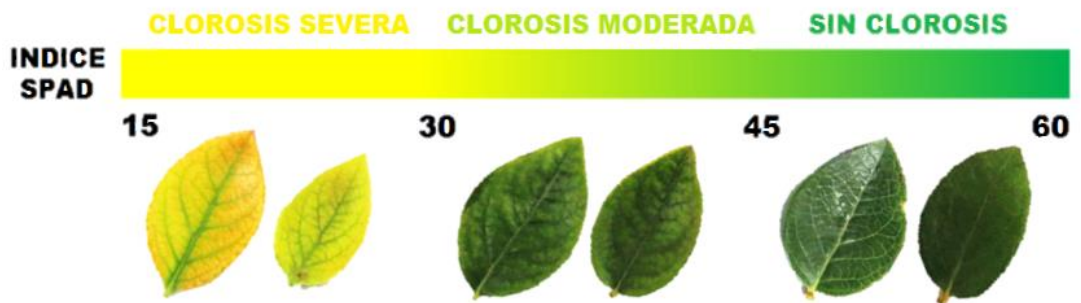


Figura 3. Rango de índice SPAD de las hojas usadas para la caracterización del intercambio gaseoso foliar del arándano ‘Emerald’ bajo condiciones de déficit de hierro.



Foto 4. (A) Síntomas asociados a intoxicación por exceso de nitrógeno en plantas con aplicación del formulado a base de sangre bovina. (B) Detalle de brote apical. Fecha: diciembre 2015.

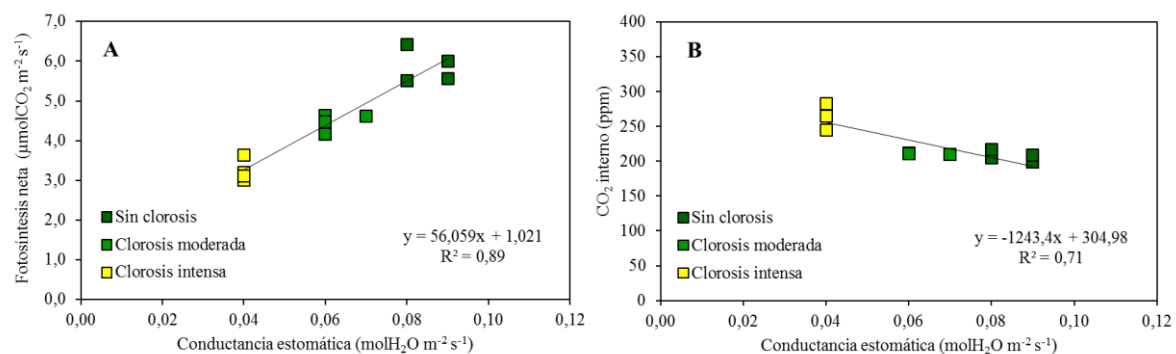


Figura 4. (A) FOTOSÍNTESIS NETA y (B)  $\text{CO}_2$  INTERNO, como función de la conductancia estomática, en arándanos 'Emerald' con distinta intensidad de clorosis férrica. Relaciones significativas ( $p < 0,05$ ).

### **CAPÍTULO III: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN EL CRECIMIENTO VEGETATIVO DE ARÁNDANOS ‘EMERALD’**

#### **RESUMEN**

El déficit de hierro es un problema nutricional común en suelos calcáreos y alcalinos, resultando particularmente perjudicial para las especies calcífugas, como el arándano alto, el cual ve afectadas su longevidad y productividad, crecimiento de raíces y brotes, y rendimiento y calidad de baya. Las técnicas de manejo tradicionales se basan en aplicaciones repetidas de quelatos de hierro y/o ácidos fuertes, las cuales implican altos costos, y riesgos ambientales y de salud. Como consecuencia, se evaluaron dos técnicas de manejo sostenible: (1) aplicación de un formulado a base de sangre bovina y (2) asociación del cultivo con especies gramíneas, siendo elegidas *Festuca rubra rubra* y *Poa pratensis*.

Con el objetivo de estudiar el efecto de estas técnicas en el crecimiento vegetativo del arándano ‘Emerald’, se utilizó un diseño en cuadrado latino, con 5 tratamientos (testigo, quelato Fe-EDDHA, sangre bovina, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) y 5 repeticiones. Se midió radiación interceptada ( $PAR_i$ ), área foliar, longitud de los brotes de primavera, número y longitud de cañas de verano, y número y longitud de sus ramificaciones. Asimismo, se evaluó el estado nutricional de las plantas mediante un análisis foliar. Por otro lado, se cuantificó la biomasa seca aérea de las dos especies gramíneas, así como su consumo de nitrógeno, fósforo y potasio.

La aplicación de sangre bovina condujo a un incremento del área foliar, longitud de los brotes y de las ramificaciones de cañas. Asimismo, aumentó la concentración foliar de nitrógeno. En contraste, la asociación con *Festuca rubra* disminuyó la longitud de brotes, el número de cañas y la concentración foliar de nitrógeno, fósforo y potasio. Por su parte, la asociación con *Poa pratensis* no modificó sustancialmente el crecimiento vegetativo, pero aumentó el área foliar de las plantas durante la temporada. Estos resultados sugieren que la aplicación de sangre bovina favorece el crecimiento vegetativo del arándano, posiblemente por el nitrógeno presente en su composición, mientras que la asociación con especies gramíneas afecta en forma negativa algunos de estos componentes, dada la competencia ejercida por el agua y los nutrientes disponibles. En este sentido, la *Festuca rubra* fue identificada como una especie más demandante y competitiva que la *Poa pratensis*, no sólo por su mayor consumo de nitrógeno, fósforo y potasio sino también por su mayor producción de biomasa aérea durante toda la temporada.

**Palabras clave:** asociación con gramíneas, brotes de primavera, cañas de verano, clorosis férrica, sangre bovina, *Vaccinium corymbosum*

## ABSTRACT

Iron deficiency is a common nutritional problem in calcareous and alkaline soils, being particularly harmful to calcifuges species such as highbush blueberry, being affected its longevity and productivity, root and shoot growth, and berry yield and quality. Traditional techniques are based on repeated applications of iron chelates and strong acids, which implies high costs and environmental and health risks. As a consequence, two sustainable techniques were evaluated: (1) application of a bovine blood meal compound and (2) intercropping with graminaceous species, being selected *Festuca rubra rubra* and *Poa pratensis*.

In order to study the effect of these techniques in vegetative growth of 'Emerald' blueberry, a latin square design was used, with 5 treatments (control, Fe-EDDHA chelate, bovine blood meal, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) and 5 replicates. Intercepted radiation ( $PAR_i$ ), leaf area, spring shoots length, number and length of summer canes, and number and length of its branches were measured. In addition, the nutritional status of the plants was evaluated by foliar analysis. Furthermore, the aerial dry biomass of both graminaceous species and their consumption of nitrogen, phosphorus and potassium were quantified.

The application of bovine blood meal led to an increase of leaf area, spring shoots length and laterals of summer canes length. It also increased the foliar concentration of nitrogen. In contrast, intercropping with *Festuca rubra* decreased spring shoot length, summer canes number and foliar concentration of nitrogen, phosphorus and potassium, while intercropping with *Poa pratensis* increased leaf area during the season. These results suggest that the application of bovine blood meal improves vegetative growth of blueberry, possibly by the nitrogen present in its composition, while intercropping with graminaceous species affects some of these components due to the competition for available water and nutrients. In this sense, *Festuca rubra* was identified to be a more demanding and competitive specie than *Poa pratensis*, not only because its higher consumption of nitrogen, phosphorus and potassium but also for its greater biomass production throughout the season.

**Keywords:** intercropping with graminaceous, spring shoots, summer canes, iron chlorosis, bovine blood meal, *Vaccinium corymbosum*

## INTRODUCCIÓN

Las plantas que crecen en el campo se encuentran, a menudo, expuestas a diferentes condiciones ambientales adversas, las cuales afectan su metabolismo y crecimiento, conduciendo, así, a un menor rendimiento (Dubey, 1997). Entre ellas, el déficit de hierro (Fe) es uno de los principales problemas nutricionales que deben enfrentar numerosas especies que son cultivadas en suelos calcáreos y alcalinos (Gruber y Kosegarten, 2002) donde, debido al alto contenido de bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ), el Fe presente es normalmente precipitado hacia formas insolubles, volviéndose poco disponible para las raíces de las plantas (Lindsay y Schwab, 1982). De esta manera, altas concentraciones de  $\text{HCO}_3^-$  en la solución del suelo se han asociado con el déficit de Fe en el campo (White y Robson, 1990), el cual es particularmente importante en especies frutales por causar disminuciones en el crecimiento vegetativo, pérdidas de rendimiento y calidad, y una menor longevidad de los huertos (Álvarez-Fernández et al., 2006; Rombolà y Tagliavini, 2006). En este sentido, el arándano se ve especialmente afectado cuando se lo cultiva en estos suelos, dada su condición de especie calcífuga (Mengel et al., 2001), no sólo por estar adaptado a pH ácidos sino por ser el amonio su fuente nitrogenada preferencial (Korcak, 1988). De esta manera, en un suelo calcáreo y alcalino, el arándano alto manifiesta déficit de Fe por la presencia predominante de  $\text{HCO}_3^-$  (Mengel, 1994) y, a su vez, evidencia una reducción de su crecimiento vegetativo potencial (Merhaut y Darnell, 1995), puesto que el nitrógeno se encuentra, principalmente, en forma de nitratos (Brady y Weil, 2008).

En este punto, es importante recordar que el crecimiento vegetativo de las plantas es el encargado de nutrir y, por ende, soportar a la producción, por lo cual es imprescindible lograr la adecuada relación hoja/fruto, o bien fuente/sumidero, para alcanzar producciones sostenidas en el tiempo y de buena calidad (Marini, 2003; Casierra-Posada et al., 2007). Así, una planta productiva es aquella capaz de mantener un adecuado equilibrio entre el crecimiento vegetativo, representado por los brotes, hojas y raíces, y el crecimiento reproductivo, es decir, el de las flores y frutos (San Martín, 2009).

En el caso del arándano, el crecimiento vegetativo aéreo está determinado por 3 tipos de brotes, los cuales se denominan ramillas, cañas y anticipados, dependiendo de su ubicación en la planta y de la yema que le dio origen (Bañados et al., 2007). Las ramillas son brotes que se originan en primavera, a partir de las yemas vegetativas formadas en las ramillas de la temporada anterior, es decir, son brotes que nacen de la madera de 1 año (Bañados et al., 2007). Por su parte, las cañas son brotes vigorosos originados en verano, a partir de yemas latentes ubicadas en la corona de la planta, o bien, en cañas viejas (Gough, 1994; Bañados et al., 2007); éstos se vuelven leñosos en la segunda temporada de crecimiento (Gough, 1994; Retamales y Hancock, 2012a). Finalmente, los brotes anticipados son aquellos que se originan de las yemas vegetativas formadas en las ramillas de la temporada en curso, como respuesta a la poda en verde o como hábito normal de una variedad (Bañados et al., 2007).

Según Bañados et al. (2007), el potencial productivo del arándano tiene una relación directa con el número total de cañas y ramillas en la planta, el largo y diámetro de las ramillas y el número de yemas florales por ramilla. Esto se debe a que el número total de ramillas y de



cañas representa la estructura de la planta (San Martín, 2009), reflejando, en parte, su tamaño y, por lo tanto, determinando la fracción de radiación que es capaz de interceptar (Gil, 2009a). Por su parte, el largo de la ramilla tiene una relación directa con el número potencial de yemas florales, mientras que su diámetro se relaciona con la calidad de estas yemas (Bañados, 2005). Así, el largo mínimo de la ramilla debe ser de 10 cm, siendo ideal de 20-40 cm, y su diámetro mayor a 4 mm (Buzeta, 1997; Bañados, 2005; Bañados, 2007).

Las cañas son importantes tanto en la formación inicial de la planta como en plantas adultas, debido a que representan el material de reemplazo o recambio (San Martín, 2009). Una buena cantidad de cañas permite la renovación de la parte aérea durante la poda, en la cual ramas viejas y menos productivas son eliminadas y reemplazadas por estos brotes de mayor vigor y productividad (Flores et al., 2011). La eliminación de brotes antiguos en la base de la planta fomenta la producción de brotes de renuevo desde la corona (San Martín, 2009). Según Flores et al. (2011), tanto la emisión de brotes basales como el porcentaje de brotación total puede mejorarse a través de un buen estado nutricional, lo que favorece el rendimiento, dado que las ramas jóvenes y vigorosas tienen la capacidad de producir una mayor cantidad de fruta, y de mayor tamaño.

Por su parte, los brotes anticipados representan centros productivos para la temporada siguiente y, por ello, uno de los objetivos de la poda en verde es estimular la emisión de los mismos (Faust 1989; Gil, 2009b; Wertheim, 2005). Esto se logra con el despunte de los brotes largos, lo que fuerza la brotación de las yemas ubicadas bajo el corte (Bañados et al., 2007). Así, aumenta el potencial de producción de fruta de la siguiente temporada, al generar yemas florales terminales y laterales en 2 ó 3 brotes, en lugar de uno solo (San Martín, 2009). Sin embargo, cabe destacar que no sólo tiene relevancia el número de anticipados generados sino también el largo de los mismos, puesto que, generalmente, la madera que ramifica presenta numerosos laterales, pero cortos o poco vigorosos, los cuales portan yemas florales de mala calidad (Bañados et al., 2007; San Martín, 2012). Es por ello que deben fomentarse los brotes anticipados de vigor medio a bueno, de 15 a 25 cm, puesto que son los que producen la fruta de mejor calidad (San Martín, 2009).

El crecimiento vegetativo aéreo de las variedades híbridas de arándano cultivadas en la zona central de Chile, como es el caso de 'Emerald', está formado por 2 flujos de crecimiento. En una primera etapa, las yemas vegetativas ubicadas en la madera de 1 año brotan, dando origen a las ramillas, las cuales crecen intensamente (Gough, 1994); esto se produce en primavera, es decir, desde mediados de agosto a principio de septiembre, según la zona de cultivo, por lo cual, algunos autores los denominan brotes de primavera (Salvatierra y Sierra, 2010). Luego, a mediados de noviembre o inicios de diciembre, según la zona de cultivo, se produce la detención del crecimiento debido a la determinación del brote, evidenciada por la necrosis del ápice, lo que se conoce como 'punta negra' (Gough, 1994; Bañados et al., 2007); entonces, comienza un segundo flujo de crecimiento que consiste, por un lado, en la aparición de brotes anticipados en las ramillas, manifestados como ramificaciones de las mismas y, por otro lado, en la emergencia de cañas desde la corona; ambos han sido llamados, también, brotes de verano (Salvatierra y Sierra, 2010). Esto ocurre una vez finalizada la cosecha y se extiende, aproximadamente, hasta la segunda quincena de marzo (Pescie y López, 2007; Bañados et al., 2007).

Durante más de 100 años se ha sabido que el Fe es esencial para el crecimiento de las plantas superiores (Marsch et al., 1963); de hecho, se ha encontrado una relación positiva entre el estado nutricional férrico de una planta y su crecimiento vegetativo (Vose, 1982; Hanson y Hancock, 1996), lo que puede ser atribuido a la activa participación del elemento en numerosos procesos metabólicos y enzimáticos (Eichert et al., 2010), tales como la fotosíntesis, respiración, metabolismo de proteínas, fijación de nitrógeno y reducción de nitratos (Loue, 1988). En la mayoría de ellos, la importancia del Fe radica, por un lado, en su rol como elemento estructural de las ferredoxinas y citocromos (Taiz y Zeiger, 2010; Broadley et al., 2011), compuestos que participan, a través de sistemas de óxido-reducción, en las reacciones de transferencia de electrones y transformaciones de energía que son llevadas a cabo en cloroplastos y mitocondrias (Loue, 1988) y, por el otro lado, en su papel de cofactor y activador de enzimas clave, como catalasas, oxidasas, superóxido dismutasas, peroxidasas y deshidrogenasas, entre otras (Bonilla, 2008).

En este sentido, el Fe se encuentra presente como ion metálico en una subunidad de la nitrato reductasa (NR) (Crawford et al., 1992), enzima encargada de reducir el nitrato a amonio (Hawkesford et al., 2011) para favorecer la absorción del nitrógeno por parte de la planta de arándano (Retamales y Hancock, 2012b). Al respecto, si bien el arándano es capaz de absorber el nitrógeno como amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) o nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), prefiere absorberlo bajo la forma de  $\text{NH}_4^+$ , debido a que requiere menos energía para ser asimilado, y a que su absorción conduce la reducción del pH de la rizósfera (Merhaut y Darnell, 1995). Así, la carencia de Fe dificulta la absorción del nitrógeno amoniacal (Poonnachit y Darnell, 2004), al disminuir la actividad de la NR (Broadley et al., 2011).

De esta manera, uno de los numerosos perjuicios que ocasiona el déficit de Fe es la disminución del crecimiento vegetativo del arándano, tal como se ha observado extensamente en vid (Gruber y Kosegarten, 2002; Bertamini y Nedunchezian, 2005; Smith y Cheng, 2006; Covarrubias et al., 2014). Es por ello que muchas investigaciones se han llevado a cabo con el fin de encontrar los métodos más eficaces y económicos para corregir la clorosis férrica (Fernández-Escobar et al., 1993). En este sentido, dentro de las técnicas más utilizadas en campo destacan, por un lado, la aplicación de quelatos sintéticos de Fe y, por el otro, la acidificación del agua de riego (Pestana et al., 2003). En el primer caso, si bien los quelatos de Fe son efectivos, también son costosos, requieren de aplicaciones repetidas y, dada su alta estabilidad y solubilidad, aumenta el riesgo de lixiviación de metales y agentes quelantes hacia la napa freática (Rombolà y Tagliavini, 2006). En el caso de la acidificación del agua de riego, esta práctica no sólo es considerada ineficaz sino muy poco viable, dada las grandes cantidades de ácido necesarias para disminuir el pH en una unidad (Wallace, 1991). Asimismo, dadas sus propiedades corrosivas, este material es peligroso y difícil de usar por los operadores (Rodríguez et al., 1998; Horneck et al., 2004). Como consecuencia, se ha estimulado el desarrollo de técnicas de manejo más sostenibles para el control de la clorosis férrica en especies susceptibles al déficit de Fe (Covarrubias et al., 2014). Al respecto, ha sido reportado que la asociación del cultivo con especies gramíneas puede controlar la clorosis férrica en cítricos (Ammari y Rombolà, 2008) y vid (Covarrubias et al., 2014), entre otras especies, sin afectar en forma negativa su crecimiento vegetativo (Zuo et al., 2000; Ammari y Rombolà, 2008; Bavaresco et al., 2010). Por otro lado, se han observado resultados positivos como respuesta a la aplicación de productos

derivados de sangre animal en vid (Tessarini et al., 2013) y peral (Tagliavini et al., 2000; Sorrenti et al., 2012).

Si bien previamente se han evaluado estas alternativas en varias especies frutales, aún no han sido probadas en el arándano. Asimismo, a pesar de que existen estudios acerca del crecimiento vegetativo de las plantas bajo condiciones de déficit de Fe, las investigaciones realizadas en arándano no sólo son escasas sino también superficiales. Por lo tanto, toma especial relevancia estudiar el efecto de la clorosis férrica en los componentes vegetativos del arándano 'Emerald', así como evaluar su respuesta a estrategias de manejo más sostenibles que las utilizadas actualmente.

### **Hipótesis**

El uso de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro, basadas en la aplicación de un compuesto derivado de sangre animal y en la asociación del cultivo con especies gramíneas, modifica el crecimiento vegetativo y el estado nutricional en arándanos 'Emerald' con déficit de hierro.

### **Objetivo**

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro en el crecimiento vegetativo y el estado nutricional de arándanos 'Emerald'.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Ubicación del estudio

La investigación se llevó a cabo entre marzo del 2014 y abril del 2015.

La parte experimental se realizó en el huerto comercial “Los Fundos-Catemu S.A.”, ubicado en La Poza s/n, Localidad del Ñilhue, Comuna de Catemu, Provincia de San Felipe de Aconcagua, Región de Valparaíso (32°42'S y 70°54'O, 560 m.s.n.m.). El sector del huerto en el cual se ejecutó el estudio fue plantado en el año 2012, se encuentra en ladera y posee camellones de 0,9 m de ancho y 0,4 m de alto.

Cabe destacar que el huerto, y en particular el cuartel utilizado para el estudio, fue elegido en base a los resultados de un análisis químico de suelo (Cuadro 3), realizado en enero del 2014, el cual evidenció la presencia de elevadas concentraciones de carbonatos totales y caliza activa. En consecuencia, el suelo del sector presentó condiciones idóneas para inducir la carencia de hierro en las plantas.

Cuadro 3. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.

Variable	Unidad	Entre-hilera	Sobre-hilera	Condición*
pH	-	7,7	7,5	Alcalino
RAS	-	0,7	0,9	Normal
Cond. Eléctrica	dS m <sup>-1</sup>	3,3	3,2	Lev. salino
Materia orgánica	%	1,1	1,9	Bajo
Calcio	meq/100 g	21,1	20,6	Alto
	% CIC	70	79	
Magnesio	meq/100 g	4,1	3,6	Alto
	% CIC	14	14	
Bicarbonatos	mg L <sup>-1</sup>	159	104	Regular
Carbonato total	% CaCO <sub>3</sub>	1,2	2,0	Alto
Caliza activa	% CaCO <sub>3</sub>	1,0	1,0	Alto

\* Según nivel adecuado para huerto de arándanos (Hirzel, 2014).

La parte analítica del experimento se realizó en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, la cual se encuentra ubicada en la Comuna de La Pintana, Región Metropolitana. La determinación del área foliar se realizó en el Laboratorio de Nutrición Vegetal, perteneciente al Departamento de Producción Agrícola.

## Material biológico

Se utilizaron plantas de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) ‘Emerald’ de 4 años de edad, las cuales se encontraban bajo un marco de plantación de 3 x 0,8 m, establecidas sobre camellones de orientación noroeste-sureste y con un sistema de riego por goteo, formado por una doble línea de goteros, distanciados a 40 cm y cuyo caudal era de 4 L h<sup>-1</sup>.

Al inicio del experimento, las plantas evidenciaban notables síntomas de clorosis en sus hojas apicales (Apéndice I, Foto 1). Para corroborar que se trataba de una clorosis férrica y descartar, así, cualquier otro tipo de déficit nutricional, se seleccionaron, al azar, 5 plantas cloróticas, en cada una de las cuales se marcó un brote representativo. A cada brote se le midió el índice SPAD, para lo cual se utilizó un *chlorophyll meter* portátil (SPAD Minolta 502, Konica Minolta, Osaka, Japón). La medición se realizó en la primera hoja completamente expandida de los brotes; los valores estuvieron en el rango de 20 a 25. Luego, los brotes fueron sumergidos varias veces en una solución de quelato de hierro sintético Fe-EDTA a una concentración de 2 mM y pH 6,0, con el objetivo de mojar completamente la superficie de las hojas apicales. A los 10 días se repitió la medición del índice SPAD en cada uno de los brotes marcados, y los resultados obtenidos arrojaron valores mayores a 30, concluyendo que las plantas tenían síntomas de déficit de hierro.

## Tratamientos y diseño experimental

Dentro del sector de estudio, se seleccionaron visualmente 5 hileras contiguas y homogéneas, es decir, que tuviesen plantas de un tamaño, desarrollo y grado de clorosis lo más uniforme posible, y sin problemas fitosanitarios y fisiológicos aparentes.

Se utilizó un diseño en cuadrado latino, en el cual el factor de bloqueo fue tanto la altura de la ladera como la hilera. La unidad experimental (UE) fue de 10 plantas y la unidad de observación (UO) de 6 plantas. Cada UE fue separada de la siguiente por un ‘borde’ de 2 plantas, de la misma forma en que se separó la primera UE del camino.

Se trabajó con 5 tratamientos: (1) testigo absoluto; (2) testigo comercial, que consistió en la aplicación de quelato de hierro al suelo (Fe-EDDHA); (3) aplicación de un compuesto formulado a base de sangre bovina; (4) asociación con *Festuca rubra rubra* L. y (5) asociación con *Poa pratensis* L. El diseño experimental consideró la implementación de 5 repeticiones para cada tratamiento (Apéndice I, Figura 1).

## Manejo del experimento

El formulado a base de sangre bovina y el quelato de hierro fueron aplicados al suelo en forma líquida, previa preparación de una solución. El compuesto formulado a base de sangre bovina se preparó a una concentración de 20 g L<sup>-1</sup> y se aplicó en dosis de 0,5

L/planta, de manera que cada planta recibió 10 g de formulado por aplicación. El producto poseía una concentración de hierro de  $2.675 \text{ mg kg}^{-1}$ , por lo cual cada planta recibió 26,75 mg de hierro en cada aplicación. Por otra parte, se utilizó el producto comercial Basafer® PLUS, 5% p/p orto-orto Fe-EDDHA (Compo®), el cual corresponde a un quelato Fe-etilendiamino-N,N'-di(2-hidroxifenil) ácido acético. Tal producto se preparó con una concentración de  $4 \text{ g L}^{-1}$  y se aplicó en dosis de 0,5 L/planta, de manera que cada planta recibió 2 g de quelato en cada aplicación y, por ende, 0,1 g de hierro. Las aplicaciones de ambos productos se realizaron en forma manual (Apéndice I, Foto 2), cada 15 días, y desde inicios de brotación (*Late green tip stage*) hasta la aparición de las ramificaciones del segundo flujo de crecimiento de brotes (*Fruit bud set stage*), por lo que ambos productos fueron aplicados 10 veces en total.

Por otro lado, las especies gramíneas fueron sembradas en la hilera del cultivo, a lo largo de toda la unidad experimental, cubriendo todo el espacio existente entre las plantas y debajo de las mismas (Apéndice I, Foto 3). La siembra se realizó en abril del 2014, a una densidad de 20.000 semillas/m<sup>2</sup>. Se utilizaron semillas certificadas, y en perfecto estado sanitario, de las especies *Festuca rubra rubra* L. y *Poa pratensis* L. La siembra consistió en mullir el suelo, colocar la semilla a 0,5 cm de profundidad, aproximadamente, tapar con una capa delgada de suelo del lugar y, luego, esparcir un poco de arena con el objeto de mejorar la infiltración del agua y evitar la evaporación del agua de riego. Finalmente, para favorecer la germinación, se regó diariamente durante las dos primeras semanas desde la fecha de siembra, con un pulverizador manual de 5 L, mediante el cual se proporcionó una fina lluvia, suficientemente abundante como para humedecer el suelo, pero no tan excesiva como para provocar escurrimiento. Una vez establecidas las gramíneas, y con el objetivo de realizar un aporte adicional de agua a las plantas bajo asociación, se colocaron 8 microjets de 180° a lo largo de la UE, ubicándose 4 en cada línea de gotero. El caudal de los microaspersores utilizados era de  $60 \text{ L h}^{-1}$ . A su vez, durante toda la temporada, las gramíneas fueron segadas manualmente cuando alcanzaban 15 cm de altura, y se llevaban a una altura de 5 cm, aproximadamente.

Las labores agronómicas de poda, riego, control fitosanitario y fertilización con macro y micronutrientes, a excepción del hierro, se ejecutaron según el criterio y manejo implementado por la administración del predio. No se efectuó una poda “en verde” (de verano) en las plantas del ensayo.

## Evaluaciones

Para identificar el estado fenológico en el cual se encontraban las plantas al momento de realizar las distintas evaluaciones, se utilizó la tabla desarrollada por el Servicio de Extensión de la Universidad de Michigan (Michigan State University Extension Service, 2012), donde se encuentran descritos cada uno de los estados vegetativos y reproductivos de la fenología del arándano (*Vaccinium* sp.). Así, las fenofases de receso invernal, inicios de brotación, crecimiento activo de brotes, fin de primer flujo de crecimiento de brotes, maduración o momento de cosecha, inicio de segundo flujo de crecimiento de brotes y final de temporada o inicio caída de hojas corresponden, en dicha tabla, al estado *Dormant or*

*tight bud*, *Late green tip*, *Shoot expansion*, *Shoot tip set*, *75% Blue*, *Fruit bud set* y *Fall color*, respectivamente.

### Radiación interceptada ( $PAR_i$ )

La medición se realizó en cada planta de la UO y en tres momentos de la temporada: (1) inicios de cosecha (*75% Blue stage*); (2) inicio de segundo flujo de crecimiento de brotes (*Fruit bud set stage*) y (3) final de temporada (*Fall color stage*). Se utilizó un ceptómetro (modelo ACCUPAR LP-80, Decagon Device, Washington, EE.UU.), con el cual se midió la radiación no interceptada ( $PAR_{ni}$ ), 10 a 15 cm del suelo, durante el mediodía solar. Para ello, se hicieron 5 mediciones: 1) extremo izquierdo (40 cm a la izquierda desde el centro); 2) lado izquierdo (20 cm a la izquierda desde el centro); 3) centro de la planta; 4) lado derecho (20 cm a la derecha desde el centro) y 5) extremo derecho (40 cm a la derecha desde el centro) (Figura 12). Por su parte, la radiación incidente sobre el huerto ( $PAR_o$ ) se determinó entre las hileras, previo a la medición de cada UE. Las mediciones se realizaron en un día completamente despejado.

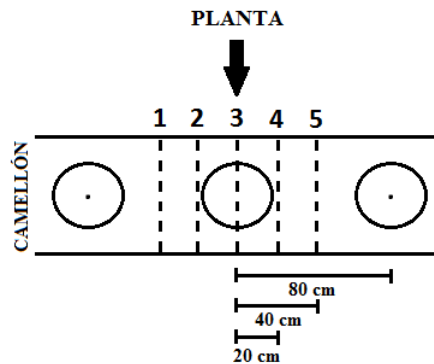


Figura 12. Esquema de medición de la radiación solar interceptada por las plantas de la UO, en el espacio asignado a cada una ellas.

Luego, la radiación interceptada se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$PAR_i = \frac{PAR_o - PAR_{ni}}{PAR_o}$$

Donde,

$PAR_i$  = radiación interceptada.

$PAR_o$  = radiación incidente sobre el huerto.

$PAR_{ni}$  = radiación que llega al suelo sin ser interceptada por el huerto.

El resultado se expresó como  $m^2$  de  $PAR_i$ , para lo cual se consideró la superficie total asignada a cada planta, es decir  $2,4 m^2$ , a pesar de que por el tamaño de las plantas, dada su corta edad, éstas no cubrían más allá del camellón.

Se determinó el crecimiento de primavera, crecimiento de verano y crecimiento total de las plantas durante la temporada, a través de la variación que existió en la radiación

interceptada ( $PAR_i$ ) de las mismas entre los dos momentos de evaluación correspondientes, de manera tal que:

- (1) Crecimiento de primavera ( $\Delta PAR_i$  2-1): diferencia de  $PAR_i$  entre el inicio de segundo flujo de crecimiento de brotes ( $PAR_i$  2) y el inicio de cosecha ( $PAR_i$  1);
- (2) Crecimiento de verano ( $\Delta PAR_i$  3-2): diferencia entre el final de temporada ( $PAR_i$  3) y el inicio de segundo flujo de crecimiento de brotes ( $PAR_i$  2);
- (3) Crecimiento total ( $\Delta PAR_i$  3-1): diferencia entre el final de temporada ( $PAR_i$  3) y el inicio de cosecha ( $PAR_i$  1).

### **Área foliar**

Esta medición se realizó en dos momentos: inicios de cosecha (*75% Blue stage*) y final de temporada (*Fall color stage*). Se seleccionaron 3 plantas representativas de cada UE y, en cada una de ellas, se eligieron 6 ramillas de las cuales se muestreó la primera hoja completamente expandida, obteniéndose un total de 18 hojas por UE, a las que se les midió el área foliar con un medidor de área foliar (modelo LI-3000, LI-COR, Nebraska, EE.UU.). Luego, se estimó el área foliar promedio de la planta y el resultado se expresó en  $\text{cm}^2$ .

Se determinó el aumento en el área foliar de las plantas durante la temporada, a través de la variación que experimentó este valor entre los dos momentos de medición. Esto se calculó como la diferencia del área foliar de la planta entre el final de temporada y el inicio de cosecha.

### **Longitud de brotes de primavera**

Durante el receso invernal (*Dormant or tight bud stage*), y en cada planta de la UO, se marcaron 2 yemas vegetativas ubicadas en lados opuestos de la planta, es decir, 12 yemas por UE. Desde plena brotación, o sea una vez que el 50% de las yemas marcadas brotó (*Late green tip stage*), y hasta el final de temporada (*Fall color stage*), se evaluó el crecimiento de los brotes, en longitud, cada 15 días. Una vez finalizado el primer flujo de crecimiento (*Shoot tip set stage*), el que se evidenció por la necrosis apical del brote y la sucesiva detención de su crecimiento, comenzó a medirse la longitud de todas las ramificaciones del brote, cuya aparición representó el inicio del segundo flujo de crecimiento (*Fruit bud set stage*).

### **Crecimiento de verano**

**Cañas por planta y longitud de caña.** Al final de la temporada (*Fall color stage*), y en cada planta de la UO, se contó el número de las cañas emergidas en verano, las cuales representan, en parte, el segundo flujo de crecimiento vegetativo. Asimismo, se midió la longitud de cada caña, sin considerar, en este caso, la presencia de ramificaciones en las mismas.



**Ramificaciones por caña y longitud de ramificación.** Al final de la temporada (*Fall color stage*), y en cada planta de la UO, se contó el número de ramificaciones presentes en cada una de las cañas emergidas en verano. Asimismo, se midió la longitud de las ramificaciones presentes, es decir, se evaluó el largo individual de cada ramificación.

**Crecimiento total.** Para el cálculo del crecimiento total de las cañas, sólo se consideraron aquellas cañas de longitud igual o mayor a 20 cm, puesto que cañas más cortas no son apropiadas como material de reemplazo para la temporada siguiente. El crecimiento total se calculó a través de la ecuación:  $CT = (NCP * LPC) + (NRC * LPR)$ , donde NCP= Número de cañas por planta; LPC= Longitud promedio de caña; NRC= Número de ramificaciones por caña y LPR= Longitud promedio de ramificación.

### **Estado nutricional**

Se tomó 1 muestra foliar por UE, compuesta por 100 hojas maduras completamente expandidas, tomadas del tercio medio de los brotes, sin fruta, desarrollados durante la temporada. El muestreo se realizó el 21 de febrero del 2015, siguiendo el criterio recomendado en cuanto a la época de muestreo. Las muestras fueron enviadas a un laboratorio de análisis agrícolas (Agrolab S.A.), donde se les evaluó la concentración de los macro y micronutrientes.

### **Biomasa seca aérea de gramíneas**

Cuando la altura de las gramíneas superó los 15 cm, éstas fueron segadas manualmente, llevándolas a una altura de 5 cm, aproximadamente. Toda la biomasa fue recolectada y pesada en una balanza digital (modelo Counting Scale ACS-JS, Precision, China). Luego, a una muestra de 25 g por UE se la llevó a estufa, a 50°C hasta peso constante, para obtener su peso seco. Las muestras fueron enviadas a un laboratorio de análisis agrícolas (Agrolab S.A.), donde se les evaluó la concentración de nitrógeno, fósforo y potasio.

Con los resultados del análisis, se estimó el consumo de nitrógeno, fósforo y potasio durante toda la temporada para ambas especies gramíneas. Además, se estimó la eficiencia de uso del nitrógeno mediante el cociente entre la biomasa seca aérea total y el nitrógeno consumido en la temporada. Se expresó en g b.s. g<sup>-1</sup>.

Asimismo, se estimó el requerimiento de agua de las gramíneas en la temporada mediante la fórmula  $ET_c = ET_o * K_c$  (Allen et al., 2006). Para ello, se utilizó una bandeja tipo A, instalada en el huerto, a partir de la cual se obtuvo el valor de la  $ET_o$  diaria (Apéndice II, Figura 7), y el  $k_c$  encontrado en la bibliografía para las especies utilizadas (Aamlid et al., 2016). Se expresó en m<sup>-3</sup> m<sup>-2</sup>.

## Análisis estadístico

Para contemplar las fuentes de variación independientes de los tratamientos, se utilizó un diseño en cuadrado latino 5x5, considerando como fuente de variación la pendiente (fila) y la hilera (columna). Un análisis exploratorio preliminar mostró que los bloques no controlaban adecuadamente la heterogeneidad ambiental, por lo cual se ajustó un modelo que incluyó una función de correlación espacial.

Se analizó si existían diferencias estadísticamente significativas, para todas las variables evaluadas, bajo el marco teórico de Modelos Lineales Mixtos.

Se ajustó un modelo mixto de análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo de la longitud de brotes, en la comparación entre tratamientos. El modelo incluyó bloques, tratamiento, fecha de medición e interacción tratamiento\*fecha.

Para contemplar la correlación temporal entre observaciones de una misma unidad experimental, se evaluaron los modelos:

- Modelo con efecto aleatorio de unidad experimental.
- Modelo con errores correlacionados sin especificar estructura de correlación.
- Modelo con errores correlacionados según una estructura de correlación autoregresiva.

Para la determinación de la bondad de ajuste de los modelos seleccionados, se valoraron los criterios de selección “Akaike Information Criterion” (AIC) (Akaike, 1974) y “Bayesian Information Criterion (BIC) (Schwarz, 1978; Yang, 2005). Para seleccionar modelos con similares criterios de selección (AIC y BIC), se compararon los modelos con el test del cociente de verosimilitud (LRT).

En el caso de existir varianzas heterocedásticas, éstas fueron corregidas.

En caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples DGC (Di Rienzo et al., 2002) ( $\alpha=0,05$ ) para la longitud de brotes de primavera, y la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ( $\alpha=0,05$ ) para los componentes del crecimiento de verano y la concentración de macro y micronutrientes.

La estimación de los modelos se realizó utilizando la función *glm* y *lme* de la librería *nlme* de R (Pinheiro et al., 2014), mediante la interfaz del programa estadístico InfoStat versión 2013 (Di Rienzo et al., 2013).

## RESULTADOS

### Radiación interceptada ( $PAR_i$ ) y área foliar

La variación del  $PAR_i$  durante la temporada indica que tanto las aplicaciones de sangre bovina como las de Fe-EDDHA incrementaron el tamaño de las plantas respecto de aquellas bajo asociación con gramíneas, las cuales presentaron la menor variación de  $PAR_i$ . Ningún tratamiento se diferenció significativamente de las plantas testigo, las que tuvieron un valor intermedio (Cuadro 4).

Por otro lado, el mayor incremento del área foliar se registró en los arándanos tratados con sangre bovina, Fe-EDDHA y en aquellos asociados con *Poa pratensis*, en comparación con las plantas testigo y las asociadas con *Festuca rubra*. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas entre las dos especies gramíneas (Cuadro 4).

Cuadro 4. Incremento de la radiación interceptada ( $m^2 PAR_i$ ) y del área foliar ( $cm^2$ ), entre inicio y final de temporada, de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Rad. Intercep.	Área foliar
	$\Delta PAR_i$ 3-1 $m^2 PAR_i$	$\Delta$ Área $cm^2$
Testigo	0,14 $\pm$ 0,02 ab	1,0 $\pm$ 0,33 c
Quelato Fe-EDDHA	0,17 $\pm$ 0,02 a	2,8 $\pm$ 0,31 a
Sangre bovina	0,17 $\pm$ 0,02 a	2,5 $\pm$ 0,33 a
<i>Poa pratensis</i>	0,13 $\pm$ 0,02 b	2,1 $\pm$ 0,33 ab
<i>Festuca rubra</i>	0,13 $\pm$ 0,02 b	1,3 $\pm$ 0,33 bc
Significancia	p= 0,0086	p= 0,0127

En cada columna se presenta el promedio ajustado  $\pm$  error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p < 0,05$ ).

En cuanto a la distribución del crecimiento de los arándanos durante la temporada, en las plantas tratadas con Fe-EDDHA, sangre bovina y en aquellas pertenecientes al testigo se registró una mayor proporción de su crecimiento total durante la primavera. En contraste, en aquellas plantas asociadas con gramíneas se evidenció un mayor crecimiento durante el verano (Figura 13).

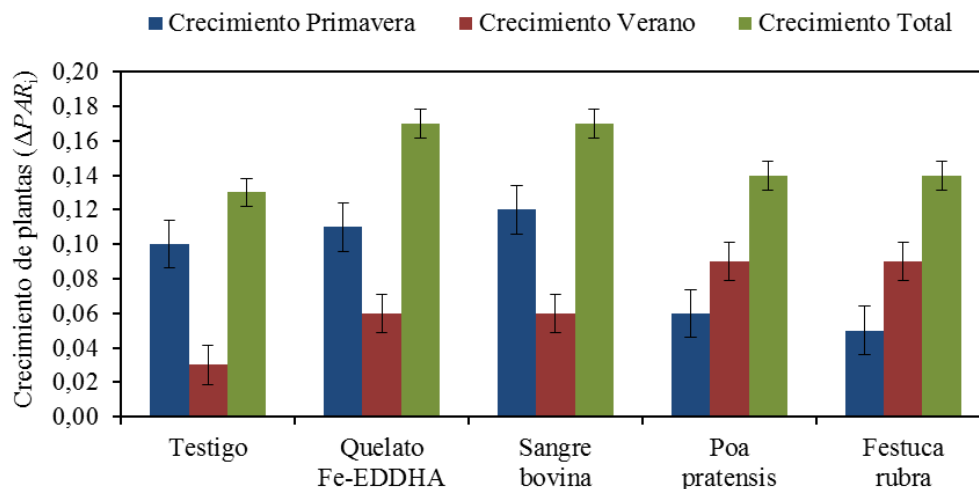


Figura 13. Crecimiento de primavera, de verano y total de plantas, expresado como  $\Delta PAR_i$ , en arándanos ‘Emerald’ sometidos a tratamientos de corrección del déficit de hierro. Barras verticales indican el error estándar.

### Longitud de brotes de primavera

Bajo las condiciones experimentales en que se realizó este estudio (Apéndice II, Figura 5), el crecimiento de brotes del arándano ‘Emerald’ se extendió desde mediados de agosto hasta mediados de abril (Figura 14). En todas ellas, el crecimiento de primavera se extendió durante 127 DDIB, dentro de los cuales alrededor del 70% del crecimiento se concentró en los primeros 57 DDIB. Respecto del crecimiento de verano, el 90% del crecimiento total de las ramificaciones ocurrió en los primeros 12 días desde su emergencia, es decir, a los 153 DDIB. Luego de ello, no se evidenció un aumento importante en la longitud de las mismas. Un caso particular lo constituye la sangre bovina, puesto que el crecimiento de las ramificaciones se detuvo a los 182 DDIB.

Durante el primer flujo de crecimiento, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos a los 57 DDIB, fecha en la cual las plantas testigo evidenciaron una mayor longitud que el resto. Luego, al inicio del segundo flujo y hasta el final de la temporada, las plantas asociadas con *Festuca rubra* no incrementaron la longitud de sus brotes como los demás tratamientos (Figura 14). En el otro extremo, la aplicación de sangre bovina incrementó la longitud promedio de brotes, diferenciándose estadísticamente del resto desde los 182 DDIB, y hasta el final de la temporada. Por su parte, el testigo, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con *Poa pratensis* indujeron una longitud de brote intermedia, sin registrarse diferencias significativas entre ellos (Figura 14).

Al final de la temporada, las plantas tratadas con sangre bovina alcanzaron el mayor crecimiento total de brotes, el cual fue de 37,2 cm, seguido por las plantas testigo, aquellas tratadas con Fe-EDDHA, las asociadas con *Poa pratensis* y, finalmente, las asociadas con *Festuca rubra*, con longitudes de 31,6 cm; 29,3 cm; 27,6 cm y 22,8 cm, respectivamente.

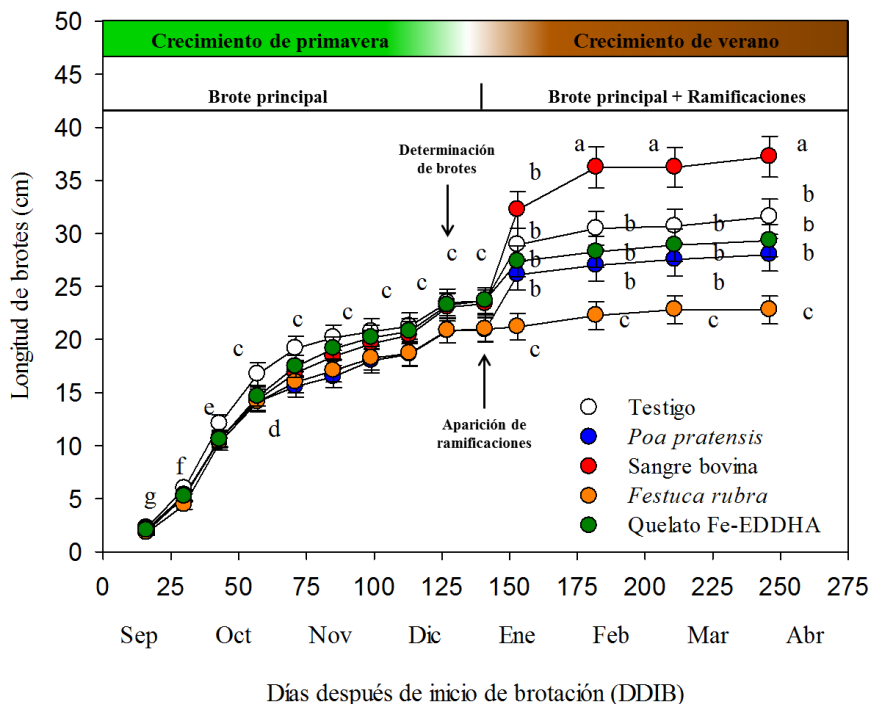


Figura 14. Longitud de los brotes durante la temporada 2014 en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes cada fecha indican diferencias significativas según la prueba de DGC ( $p < 0,05$ ). Interacción tratamiento\*fecha significativa ( $p < 0,0001$ ). Barras verticales indican el error estándar.

## Crecimiento de verano

### Cañas por planta y longitud de caña

El número de cañas de verano emitidas por las plantas estuvo entre 3,8 y 7,2. Las plantas que presentaron el mayor número de cañas fueron aquellas tratadas con Fe-EDDHA, sangre bovina y las plantas testigo, sin diferenciarse estadísticamente entre ellas. Por su parte, las plantas bajo asociación con ambas gramíneas obtuvieron un menor número de cañas, siendo más marcado para el caso de la *Festuca rubra*, que se diferenció estadísticamente del testigo (Cuadro 5).

En cuanto a la longitud de caña, ésta varió entre 37,6 y 47,2 cm. Los valores más contrastantes se dieron entre la aplicación de Fe-EDDHA y la de sangre bovina. Mientras las plantas tratadas con Fe-EDDHA alcanzaron una mayor longitud que el testigo, el resto de los tratamientos no se diferenciaron del mismo. Por su parte, las plantas bajo asociación con ambas gramíneas tampoco se diferenciaron significativamente entre ellas (Cuadro 5).

### Ramificaciones por caña y longitud de ramificación

El número de las ramificaciones presentes en las cañas estuvo entre 2,5 y 4,6. La aplicación de Fe-EDDHA indujo el menor número de ramificaciones en las cañas, con diferencias estadísticamente significativas respecto de las plantas testigo y de aquellas asociadas con *Festuca rubra*, que alcanzaron el mayor número de ramificaciones. Por su parte, la aplicación de sangre bovina y la asociación con *Poa pratensis* tuvieron valores intermedios, sin diferenciarse significativamente de los demás tratamientos (Cuadro 5).

Por su parte, la longitud de las ramificaciones se comportó de manera inversa al número de las mismas. Así, mientras las plantas tratadas con Fe-EDDHA presentaron la mayor longitud en las ramificaciones, con diferencias significativas respecto de los otros tratamientos, las plantas testigo y las asociadas con *Festuca rubra* manifestaron las ramificaciones más cortas. Por su parte, la aplicación de sangre bovina y la asociación con *Poa pratensis* obtuvieron una longitud intermedia (Cuadro 5).

### Crecimiento total

El mayor crecimiento total de verano lo alcanzaron las plantas tratadas con Fe-EDDHA, las cuales sólo se diferenciaron estadísticamente de las plantas asociadas con ambas gramíneas, que tuvieron el menor crecimiento. Las plantas tratadas con sangre bovina y el testigo presentaron un crecimiento intermedio, sin diferencias significativas entre ellos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Componentes del crecimiento vegetativo de verano, expresado como número y longitud de caña principal, número y longitud de ramificaciones, y crecimiento total de verano, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Caña principal		Ramificaciones		Crecimiento total cm
	Número	Longitud cm	Número	Longitud cm	
Testigo	6,3 ± 0,8 ab	39,7 ± 1,8 ab	4,6 ± 0,8 a	9,1 ± 1,0 c	306,7 ± 27,5 ab
Quelato Fe-EDDHA	7,2 ± 1,0 a	47,2 ± 1,8 a	2,5 ± 0,3 b	14,9 ± 1,0 a	410,2 ± 45,0 a
Sangre bovina	6,5 ± 0,9 a	37,6 ± 1,8 b	3,6 ± 0,4 ab	12,1 ± 1,0 b	327,7 ± 70,4 ab
<i>Poa pratensis</i>	4,4 ± 0,5 bc	41,3 ± 3,6 ab	3,9 ± 0,7 ab	9,5 ± 1,0 bc	257,7 ± 36,4 b
<i>Festuca rubra</i>	3,8 ± 0,4 c	39,4 ± 3,6 ab	4,4 ± 0,9 a	8,3 ± 1,0 c	231,0 ± 24,6 b
Significancia	p= 0,0066	p= 0,0215	p= 0,0449	p= 0,0005	p= 0,0305

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p<0,05).

### Estado nutricional

Los tratamientos modificaron la concentración de minerales en las hojas de los arándanos. Respecto del nitrógeno, las aplicaciones de sangre bovina incrementaron la concentración en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 6). Le siguió la aplicación de Fe-EDDHA, con diferencias significativas respecto de las plantas asociadas con gramíneas y de las plantas testigo, que tuvieron una concentración menor, siendo más marcado para la asociación con *Festuca rubra*. En cuanto a la concentración foliar de fósforo y potasio, las plantas tratadas con sangre bovina y las del testigo presentaron la mayor concentración, diferenciándose estadísticamente de aquellas asociadas con *Festuca rubra* y tratadas con Fe-EDDHA. Las plantas asociadas con *Poa pratensis* presentaron una concentración de fósforo y potasio intermedia entre los tratamientos descritos, sin diferencias significativas del testigo. Por su parte, las concentraciones del calcio y del magnesio no mostraron diferencias significativas entre tratamientos. Por otro lado, independiente del tratamiento, todos los macronutrientes estuvieron en una concentración que se encuentra dentro del rango adecuado (Hanson y Hancock, 1996) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Concentración de macroelementos, expresada en porcentaje, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. El muestreo se realizó en febrero del 2015.

Tratamiento	Macronutrientes				
	Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio
	%	%	%	%	%
Testigo	1,61 ± 0,04 c	0,14 ± 0,01 ab	0,67 ± 0,03 ab	0,83 ± 0,06	0,17 ± 0,02
Quelato Fe-EDDHA	1,66 ± 0,05 b	0,12 ± 0,01 c	0,49 ± 0,03 c	0,67 ± 0,06	0,16 ± 0,02
Sangre bovina	1,79 ± 0,06 a	0,15 ± 0,01 a	0,68 ± 0,03 a	0,87 ± 0,06	0,18 ± 0,02
<i>Poa pratensis</i>	1,60 ± 0,04 cd	0,13 ± 0,01 bc	0,58 ± 0,03 bc	0,81 ± 0,06	0,17 ± 0,02
<i>Festuca rubra</i>	1,57 ± 0,05 d	0,12 ± 0,01 c	0,49 ± 0,03 c	0,80 ± 0,06	0,19 ± 0,02
Significancia	p<0,0001	p= 0,0004	p= 0,0004	n.s.	n.s.
Rango adecuado (Hanson y Hancock, 1996)	1,60 - 2,10	0,12 - 0,40	0,35 - 0,65	0,40 - 0,80	0,12 - 0,25

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p<0,05). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

En el caso de los micronutrientes, el hierro, zinc y cobre no evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 7). Por otro lado, en el caso del manganeso, la aplicación de sangre bovina fue el tratamiento que más incrementó su concentración en las hojas, con diferencias significativas respecto de los otros tratamientos. En el otro extremo, las plantas tratadas con Fe-EDDHA tuvieron el menor valor. Finalmente, las plantas testigo y aquellas bajo asociación con gramíneas tuvieron valores intermedios, por lo cual se diferenciaron tanto de las aplicaciones de sangre bovina como de Fe-EDDHA, pero no entre ellas (Cuadro 7). Por otro lado, independientemente del tratamiento, todos los

micronutrientes alcanzaron una concentración que se encuentra dentro del rango adecuado (Hanson y Hancock, 1996).

Cuadro 7. Concentración de micronutrientes, expresada en  $\text{mg kg}^{-1}$ , en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. El muestreo se realizó en febrero del 2015.

Tratamiento	Micronutrientes			
	Hierro	Manganeso	Zinc	Cobre
	$\text{mg kg}^{-1}$	$\text{mg kg}^{-1}$	$\text{mg kg}^{-1}$	$\text{mg kg}^{-1}$
Testigo	122 $\pm$ 14,3	95 $\pm$ 7,0 b	17 $\pm$ 2,5	17 $\pm$ 1,0
Quelato Fe-EDDHA	128 $\pm$ 14,3	75 $\pm$ 5,4 c	15 $\pm$ 2,0	17 $\pm$ 1,1
Sangre bovina	126 $\pm$ 14,3	140 $\pm$ 10,9 a	15 $\pm$ 2,0	18 $\pm$ 1,1
<i>Poa pratensis</i>	117 $\pm$ 14,3	100 $\pm$ 7,2 b	18 $\pm$ 2,8	18 $\pm$ 1,1
<i>Festuca rubra</i>	101 $\pm$ 14,3	101 $\pm$ 7,1 b	18 $\pm$ 2,9	16 $\pm$ 1,1
Significancia	n.s.	p= 0,0001	n.s.	n.s.
Rango adecuado (Hanson y Hancock, 1996)	60 - 120	50 - 350	8 - 30	5 - 20

En cada columna se presenta el promedio ajustado  $\pm$  error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

### Biomasa seca aérea de gramíneas

Bajo las condiciones experimentales en que se realizó este estudio (Apéndice II, Figura 5), el crecimiento vegetativo aéreo de las especies gramíneas se produjo desde inicios de octubre a principios de mayo (Figura 15).

La *Festuca rubra* produjo mayor biomasa aérea que la *Poa pratensis*, siendo en los meses de verano cuando se observó la mayor diferencia entre ellas (Figura 15). Asimismo, la *Festuca rubra* presentó el mayor consumo de nitrógeno, fósforo y potasio, el cual fue de 26; 3,8 y 30,2  $\text{g m}^{-2}$ , respectivamente, mientras que el de la *Poa pratensis* fue de 18,3; 1,9 y 11,5  $\text{g m}^{-2}$ , respectivamente (Cuadro 8), es decir que la *Festuca rubra* consumió el doble de fósforo y potasio que la *Poa pratensis*. En términos de eficiencia de uso del nitrógeno, la *Festuca rubra* resultó más eficiente, siendo su eficiencia de 39,5 g b.s. g, mientras que la de la *Poa pratensis* fue de 30,2 g b.s.  $\text{g}^{-1}$  (Cuadro 8).

En cuanto al requerimiento hídrico, ambas gramíneas necesitaron una cantidad similar de agua durante la temporada, la cual es cercana a 0,7  $\text{m}^{-3} \text{m}^{-2}$  (Cuadro 8).



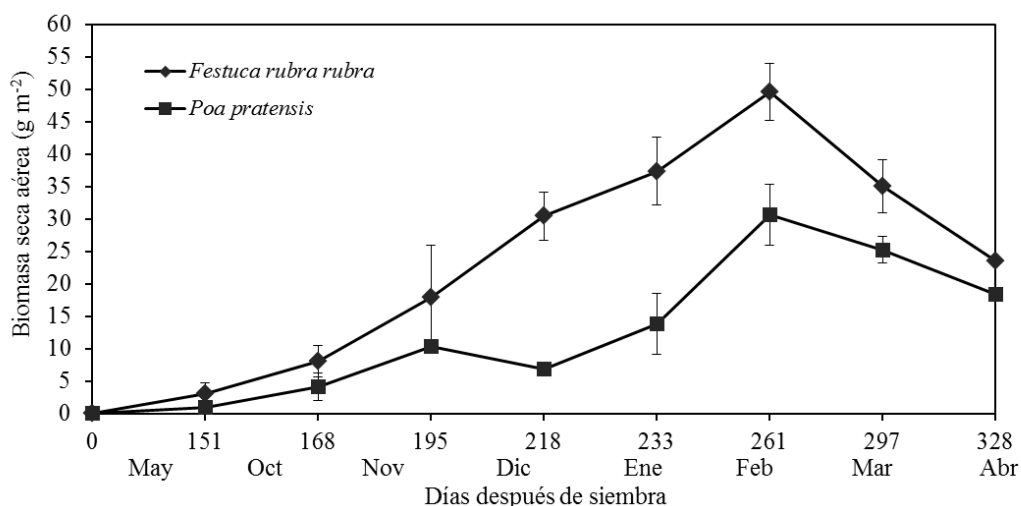


Figura 15. Producción de biomasa seca aérea, expresada en  $\text{g m}^{-2}$ , entre 151 días después de siembra y hasta el final de temporada, de *Festuca rubra rubra* y *Poa pratensis*, utilizadas como cultivos de cobertura en arándanos 'Emerald' con déficit de hierro. Barras verticales indican el error estándar.

Cuadro 8. Requerimiento hídrico, expresado en  $\text{m}^3 \text{m}^{-2}$ , consumo de nitrógeno, fósforo y potasio, expresados en  $\text{g m}^{-2}$ , y eficiencia de uso del nitrógeno, expresado en  $\text{g b.s. g}^{-1}$ , de *Festuca rubra rubra* y *Poa pratensis* utilizadas como cultivos de cobertura en arándanos 'Emerald' con déficit de hierro.

Tratamientos	Requerimiento hídrico	Consumo de nutrientes			EUN
		N	P	K	
	$\text{m}^3 \text{m}^{-2}$		$\text{g m}^{-2}$		$\text{g b.s. g}^{-1}$
<i>Poa pratensis</i>	0,75	18,3	1,9	11,5	30,2
<i>Festuca rubra rubra</i>	0,72	26,0	3,8	30,2	39,5

## DISCUSIÓN

La aplicación de Fe-EDDHA tuvo un efecto positivo en los componentes del crecimiento vegetativo del arándano, debido a que, en comparación con el testigo, logró un mayor aumento en el área foliar durante la temporada, y evidenció menos ramificaciones, y de mayor longitud, en sus cañas de verano. Asimismo, a pesar de que no hubo una diferencia significativa, se observó una tendencia tanto hacia el mayor tamaño de planta, como al mayor número y longitud de cañas. Estos resultados coinciden con los reportados por Smith y Cheng (2006), y pueden ser atribuidos a la eficacia del Fe-EDDHA para corregir la clorosis férrica, dado que su aplicación aumentó la concentración foliar de clorofila, superando ampliamente al testigo durante toda la temporada (Capítulo II), lo cual se ha observado anteriormente en numerosas especies frutales, como vid (Smith y Cheng, 2006), peral (Tagliavini et al., 2000), duraznero (Álvarez-Fernández et al., 2005), cítricos (Huang et al., 2012), kiwi (Loupassaki et al., 1995), olivo (Fernández-Escobar et al., 1993) y palto (Gregoriou et al., 1983). Así, al controlar el déficit de hierro, el Fe-EDDHA estimuló un menor número de brotes anticipados pero de mayor longitud, favoreciendo la cantidad y calidad de fruta para la siguiente temporada (San Martín, 2009).

Por su parte, la aplicación de sangre bovina también afectó positivamente la mayoría de los componentes del crecimiento vegetativo, puesto que, respecto del testigo, logró un mayor aumento en el área foliar, y en la longitud de brotes y de ramificaciones de las cañas, concordando con lo observado por López-Rayó et al. (2015). A su vez, si bien la diferencia con las plantas testigo no fue significativa, se observó un mayor tamaño de planta y número de cañas. De esta manera, la aplicación de sangre bovina logró, por un lado, generar más material de reemplazo para la poda y, por el otro, incrementar los centros productivos para la temporada siguiente, favoreciendo, en ambos casos, la capacidad de producir una mayor cantidad de fruta, y de mayor tamaño (Flores et al., 2011).

En este caso, dado que las plantas tratadas con sangre bovina evidenciaron una concentración foliar de clorofila menor a la del testigo en gran parte de la temporada (Capítulo II), su mayor crecimiento no puede atribuirse a la corrección de la clorosis férrica sino, más bien, al aporte adicional de nitrógeno que significó su aplicación (Chan et al., 2007; Gaskell y Smith, 2007; Yunta et al., 2013), el cual fue de 14 g/planta, es decir, más de la mitad de lo que necesita una planta de arándano de esa edad, que son 25,5 g de nitrógeno por temporada (Retamales y Hancock, 2012b). Teniendo en cuenta que todas las plantas recibían fertilización nitrogenada por el fundo, la cual era a base de sulfato de amonio, nitrato de potasio y nitrato de magnesio, y que la dosis de aplicación de la sangre bovina fue mayor a la recomendada en la literatura (Tagliavini et al., 2000; López-Rayó et al., 2015), es muy probable que estas plantas sufrieran una intoxicación por exceso de nitrógeno, lo que estaría respaldado por los síntomas típicos de una dosis elevada de este nutriente, o superior a la requerida por la planta, entre los cuales destacan el exceso de crecimiento vegetativo y el vigor desmesurado (Razeto, 2006).

En este sentido, resulta curioso que las plantas tratadas con sangre bovina superaran a las plantas testigo en varios componentes del crecimiento vegetativo, dada la baja actividad

fotosintética de estas plantas, detectada a los 66 y 123 DDIB (Capítulo II). De allí surge la hipótesis de que la aplicación de sangre bovina causó una intoxicación temporal de las plantas, y que la evaluación de los parámetros fotosintéticos se realizó dentro del periodo que duró dicha condición. Al respecto, y con base en los resultados y lo observado en el ensayo, puede especularse que la intoxicación se produjo a los 57 DDIB, con 7 g/planta de nitrógeno aplicado con la sangre bovina, y que se prolongó hasta los 182 DDIB, es decir 55 días después de la última aplicación y 64 días antes de que finalizara la temporada. De esta manera, es muy probable que el crecimiento de las plantas tratadas con sangre bovina se haya debido a la fotosíntesis realizada antes y después de la intoxicación, es decir antes de los 57 DDIB, periodo en que, según se detectó, ocurre el 70% del crecimiento de primavera, y después de los 182 DDIB, momento en que se constató una mejoría de las plantas, no sólo por un aumento en la longitud de los brotes de primavera, que diferenció estadísticamente a la sangre bovina del resto de los tratamientos, sino por un aumento en la concentración foliar de clorofila, el cual le permitió superar al testigo nuevamente (Capítulo II). Al respecto, ha sido reportada la rápida recuperación del crecimiento cuando una planta deja de estar sometida al estrés de la clorosis férrica, puesto que trata de compensar las pérdidas sufridas mientras estuvo estresada (Thoiron et al., 1997; Mahmoudi et al., 2007). Por lo anteriormente expuesto, en una futura investigación deberían evaluarse otras dosis y frecuencias de aplicación de la sangre bovina, de manera de optimizar el crecimiento de las plantas y lograr, a su vez, el control de la clorosis férrica.

En el caso de la asociación con gramíneas, se observó una disminución en la longitud de brotes y el número de cañas, únicamente con diferencias significativas para las plantas asociadas con *Festuca rubra*. Asimismo, a pesar de no existir diferencias estadísticas, la asociación con ambas gramíneas condujo a una menor radiación interceptada. Este menor crecimiento de las plantas se ha observado en otros estudios (Inal et al., 2007; Palliotti et al., 2007; Zuo y Zhang, 2008; Cañasveras et al., 2014; Covarrubias et al., 2014), y ha sido atribuido a la competencia que las especies gramíneas ejercen sobre el cultivo, en términos de espacio, agua y nutrientes. De hecho, se ha señalado que es necesario controlar el crecimiento de las gramíneas durante el periodo de mayor demanda del cultivo, con el objetivo de reducir al mínimo el consumo de las mismas (Benites et al., 2005). Así, se ha constatado que la asociación con gramíneas disminuye la biomasa seca radical de las plantas y la concentración de nitratos en el suelo (Covarrubias et al., 2014), reafirmando que compiten por el suelo y los nutrientes disponibles.

A su vez, se ha señalado que la asociación con gramíneas aumenta el volumen de agua consumido, puesto que un cultivo de cobertura demanda cierta cantidad de agua adicional, que debe ser incorporada (Cañasveras et al., 2014). Al respecto, la información resulta contradictoria, puesto que Kamal et al. (2000) encontraron que, sin suplemento hídrico, el crecimiento de plantas de guayaba bajo asociación no se redujo e, incluso, aumentó, mientras que en este estudio se detectó cierta disminución en el crecimiento de las plantas, a pesar del aporte adicional de agua. Es por ello que no debe descartarse cierta interferencia alelopática, la cual consiste en la liberación de sustancias químicas por parte de ciertas especies usadas como cultivos de cobertura (Einhellig, 1999). En este sentido, se sabe que dentro de un ecosistema los fenómenos alelopáticos coexisten con la competencia por los recursos (Weston, 2000), y que su presencia es estimulada por estrés en el cultivo, como plagas y enfermedades, temperaturas extremas, restricción hídrica, carencias nutricionales y

radiación solar (Einhellig, 1996). Dado que con la evaluación realizada no puede aseverarse esta hipótesis, en futuros trabajos deberían considerarse mediciones que permitan esclarecer este efecto.

A pesar de lo anteriormente expuesto, también existen reportes en los que la asociación con gramíneas causó un efecto positivo en el crecimiento vegetativo del cultivo (Zuo et al., 2000; Ammari y Rombolà, 2008; Bavaresco et al., 2010). En este estudio, ambas gramíneas lograron un aumento del área foliar superior al del testigo, tal como observaron Ammari y Rombolà (2008). Esto podría atribuirse a una mejoría de la clorosis férrica inicial de estas plantas, reflejada por la concentración foliar de clorofila al final de la temporada (Capítulo II), puesto que se ha señalado que el aumento de la superficie foliar es un proceso sensible al estado nutricional de la planta (Weyers y Meidner, 1990). A su vez, este aumento en el área foliar podría interpretarse como una estrategia de las plantas bajo asociación para mantener el nivel fotosintético, al compensar el menor número de hojas, dado por una menor longitud de brotes (Apéndice II, Figura 6) y número de cañas, mediante un incremento del área foliar. Más estudios son necesarios para corroborar esta hipótesis.

Así, el efecto de la asociación con gramíneas sobre el crecimiento vegetativo del cultivo es variable, dependiendo de las condiciones experimentales, tales como la disponibilidad de agua y nutrientes, la especie gramínea y la densidad de siembra utilizada (Covarrubias y Rombolà, 2012). Considerando esto, en un futuro estudio, sería interesante evaluar otras especies gramíneas así como otras densidades de siembra, con el objetivo de encontrar el tipo de asociación más adecuado para el arándano ‘Emerald’, el cual le permita corregir el déficit de hierro, sin afectar negativamente su crecimiento vegetativo.

En cuanto a la distribución del crecimiento vegetativo a lo largo de la temporada, expresado como la interceptación de radiación ( $PAR_i$ ), se observó que, independientemente del crecimiento total logrado por los tratamientos, tanto las aplicaciones de Fe-EDDHA como de sangre bovina condujeron a un mayor crecimiento de primavera, mientras que las asociaciones con gramíneas llevaron a un mayor crecimiento de verano. Se presume que aquellas plantas tratadas con Fe-EDDHA o con sangre bovina crecieron más en primavera porque ése fue el periodo en que se aplicaron ambas soluciones, por lo cual las plantas recibieron una fertilización adicional que les permitió crecer a pesar de la presencia de fruta, y crecieron en menor proporción durante el verano porque se dejó de aplicar. Así, podría deducirse que ambos productos tienen un efecto inmediato y cortoplacista, en el sentido de que ejercen su efecto mientras se mantengan las aplicaciones. En el caso del Fe-EDDHA, esto es esperable considerando que, dada su elevada solubilidad (Lucena, 2009), son necesarias repetidas aplicaciones porque es fácilmente lixiviado hacia la napa freática (Rombolà et al., 2002; Rombolà y Tagliavini, 2006). En el caso de la sangre bovina, una posible explicación es que el nitrógeno orgánico incorporado haya completado el proceso de mineralización, alcanzando la forma de nitrato, con su consecuente lixiviación. Sin embargo, dado que son numerosos los factores que influyen en la mineralización del nitrógeno, tales como la temperatura de suelo, textura de suelo y prácticas de labranza (Gaskell et al., 2006; Silgram y Shepherd, 1999), la estimación de la cantidad y el momento en que el nitrógeno es mineralizado es sumamente compleja (Gaskell y Smith, 2007), por lo cual se necesita un estudio más profundo para poder hacer esta aseveración. Como consecuencia, puede inferirse que tanto el Fe-EDDHA como la sangre bovina deben

aplicarse al inicio de los flujos de crecimiento, con lo cual se logrará una respuesta inmediata en el momento de mayor tasa de crecimiento, obteniendo, de esta manera, un mejor resultado en términos vegetativos. Por su parte, es probable que las plantas bajo asociación con gramíneas hayan crecido más durante el verano porque en primavera estaban expuestas no sólo a la presencia de la fruta sino a la competencia que ejercían las gramíneas. Luego, una vez que la fruta fue cosechada, recuperaron el crecimiento. Esto se encuentra acorde con el hecho de que los frutos representan el principal sumidero de fotoasimilados en las especies frutales (Pavel y Dejong, 1993), de manera que la partición de fotoasimilados siempre estará dirigida, en forma mayoritaria, hacia ellos (Coombe, 1988).

Respecto al análisis foliar, tal como se ha reportado con anterioridad, las hojas con clorosis férrica evidencian cambios en la concentración foliar de nutrientes (Maldonado-Torres et al., 2006). En este sentido, sólo se encontraron diferencias entre los tratamientos en la concentración de nitrógeno, fósforo, potasio y manganeso. Las plantas tratadas con sangre bovina evidenciaron la mayor concentración de estos minerales, pero la diferencia respecto del resto de los tratamientos sólo fue significativa para el caso del nitrógeno. Esto indicaría que, independientemente del grado de clorosis de las plantas, la aplicación del producto conlleva a una fertilización adicional de estos nutrientes, lo cual es esperable dado que éstos se encuentran presentes en la formulación (Apéndice II, Cuadro 1). De esta manera, la sangre representaría un fertilizante potencial, principalmente de nitrógeno y potasio, el cual puede ser usado en la agricultura orgánica puesto que se encuentra, en forma comercial, como fertilizante orgánico certificado (Van-Camp et al., 2004) y, por ende, constituiría una alternativa viable para complementar e, incluso, reemplazar a la fertilización nitrogenada tradicional, conduciendo a una agricultura más sostenible.

Por su parte, la aplicación de Fe-EDDHA indujo una mayor concentración de nitrógeno foliar, y una menor concentración de fósforo y potasio, respecto del testigo. En el caso del nitrógeno, la mayor concentración de las plantas tratadas con Fe-EDDHA justificaría, al menos en parte, su mayor crecimiento durante la temporada, y confirmaría, a su vez, la mayor actividad de la nitrato reductasa bajo un adecuado suministro de hierro (Darnell y Cruz-Huerta, 2011). En el caso del fósforo, dado el antagonismo que existe entre éste y el hierro (Brown et al., 1959; Lindsay, 1984), la mayor concentración observada en el testigo puede ser debida a un posible desequilibrio nutricional, causado por una absorción preferencial del fósforo bajo la carencia de hierro. Respecto del potasio, numerosos trabajos han reportado que plantas con clorosis férrica acumulan más potasio, por unidad de peso seco, que plantas no cloróticas (Hamzé et al., 1985; Abadía et al., 1989; Szlek et al., 1990; Welkie and Miller, 1993; Belkhodja et al., 1998), lo que ha sido atribuido, por un lado, al aumento en la exudación de  $H^+$  por la ATP-asa ubicada en la membrana plasmática de las células radicales, favoreciendo el intercambio y la absorción de potasio (White, 2011) y, por otro lado, a la acumulación de los ácidos orgánicos málico y cítrico en los órganos deficientes en hierro (Welkie y Miller, 1993). Asimismo, es posible que el aumento en la concentración de potasio foliar, frente a una carencia de hierro, sea con el fin de optimizar la regulación de la apertura estomática y evitar, así, la pérdida excesiva de agua, aumentando la eficiencia de uso de la misma (Arquero et al., 2006). Si bien es factible pensar que existió cierto efecto de dilución del fósforo y potasio, dado por el aumento del área foliar que causó la aplicación de Fe-EDDHA, esto resulta poco probable puesto que

dicha dilución debería haberse generalizado en todos los minerales por igual, lo cual no ocurrió.

En el caso de las plantas asociadas con gramíneas, los resultados del análisis foliar están en línea con el concepto de competencia formulado anteriormente, puesto que se encontró una menor concentración de nitrógeno, fósforo y potasio respecto del testigo, siendo esto significativo sólo para la asociación con *Festuca rubra*. Esto se encuentra acorde a lo reportado por Gunes et al. (2007) y reflejaría cierta competencia por la absorción de nutrientes. Al comparar entre las dos especies gramíneas, la menor concentración foliar de estos nutrientes en las plantas asociadas con *Festuca rubra* la señalarían como una especie más competitiva y justificaría, así, el menor crecimiento vegetativo que alcanzaron las plantas asociadas a ella, respecto del testigo, en términos de longitud de brotes y número de cañas. Esto se encuentra acorde con la literatura, donde la *Festuca rubra* ha sido identificada como una especie vigorosa y muy demandante de agua y nutrientes (Ingels et al., 1998; Aamlid et al., 2016). Dado que el requerimiento de agua fue similar para ambas gramíneas, el cual rondó los  $0,7 \text{ m}^3 \text{ m}^{-2}$ , las diferencias observadas en el crecimiento vegetativo y análisis foliar de las plantas asociadas a ellas estarían, entonces, más relacionadas con el consumo de nutrientes, el cual varió sustancialmente entre las gramíneas. De hecho, el consumo de nitrógeno, fósforo y potasio de la *Festuca rubra* fue de 26; 3,8 y 30,2  $\text{g m}^{-2}$ , respectivamente, mientras que el de la *Poa pratensis* fue de 18,3; 1,9 y 11,5  $\text{g m}^{-2}$ , respectivamente.

Al respecto, se ha señalado que las distintas especies difieren en la eficiencia de absorción de los nutrientes (Trehan y Claassen, 1998; Dessougi et al., 2002; Trehan y Sharma, 2002; Zhang et al., 2007), y que esta eficiencia está dada, principalmente, por el tamaño del sistema radicular, la fisiología de absorción y la capacidad de las plantas para aumentar la solubilidad del nutriente en la rizósfera mediante la exudación de compuestos orgánicos (Steingrobe y Claassen, 2000; Rengel y Damon, 2008). En el caso del potasio, los pelos radicales contribuyen en la capacidad de absorción debido a que aumentan tanto la superficie radical como la extensión de la zona de agotamiento (Samal et al., 2010), creando un gradiente de difusión más pronunciado, simplemente por tener un diámetro menor que las raíces (Jungk, 2001). En este sentido, Boot y Mensink (1990) evaluaron las diferencias interespecíficas de cinco gramíneas perennes, en varias características radicales fundamentales, y encontraron que la *Festuca rubra* no sólo se destacó de las otras por poseer una mayor densidad y longitud de pelos radicales, sino también una mayor relación de peso de la raíz (peso seco de raíz por unidad de peso seco de la planta) y una mayor tasa de crecimiento relativo diario, convirtiéndola en una especie altamente eficiente en la absorción de nutrientes y, por ende, especialmente competitiva. Esto explicaría, a su vez, el hecho de que la *Festuca rubra* alcanzara una mayor biomasa aérea que la *Poa pratensis* durante toda la temporada.

Es importante destacar que, aunque al momento del muestreo foliar existían claras diferencias entre los tratamientos en la concentración de clorofila foliar, no se encontraron diferencias en la concentración de hierro foliar, respaldando resultados de estudios previos (Bavaresco y Poni, 2003; Chen et al., 2004; Inal et al., 2007), los cuales indican que la concentración foliar de hierro no es un parámetro fiel y representativo del estado férrico de

las plantas en campo, puesto que esta variable no se correlaciona bien con la concentración foliar de clorofila (Mengel et al., 1984; Häussling et al., 1985; Krewer y NeSmith, 2006).

Finalmente, cabe mencionar que los tratamientos no provocaron cambios en el patrón de crecimiento de los brotes. Al respecto, Salvatierra y Sierra (2010) sostienen que las etapas fenológicas y/o los ciclos de crecimiento del arándano se encuentran más afectados por las condiciones ambientales que por el estado nutricional de las plantas. En todos los casos, el 70% del crecimiento de primavera se produjo en los primeros 57 días y el 90% del crecimiento de verano, en los primeros 12. Esto toma especial relevancia a la hora de planificar las aplicaciones nitrogenadas, las que deberían concentrarse en los momentos de mayor crecimiento vegetativo (Hanson, 2006), con el objetivo de tener brotes más largos en primavera, que contribuyan al sustento y desarrollo de la fruta, y con ramificaciones más largas en verano, que permitan la diferenciación de un mayor número de yemas florales, y de mejor calidad, para la temporada siguiente (Salvatierra y Sierra, 2010). De esta manera, la fertilización nitrogenada se optimizaría, al requerir una menor cantidad de fertilizante y obtener una respuesta de mejor calidad.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo este estudio, se concluye que:

La aplicación de quelato Fe-EDDHA favorece el crecimiento vegetativo en arándanos 'Emerald', al aumentar el área foliar durante la temporada, y estimular la emisión de pocas ramificaciones pero de mayor longitud.

La aplicación de un formulado a base de sangre bovina ejerce un efecto positivo sobre el crecimiento vegetativo en arándanos 'Emerald', principalmente, por incrementar el área foliar durante la temporada, la longitud de los brotes y de las ramificaciones de las cañas.

La asociación con *Festuca rubra* afecta negativamente el crecimiento vegetativo en arándanos 'Emerald', al disminuir la longitud de los brotes y el número de cañas.

El crecimiento total de la temporada, dado por el aumento de tamaño de las plantas, tiene una mayor proporción concentrada en primavera para la aplicación de quelato Fe-EDDHA y de sangre bovina, y en verano para la asociación con gramíneas.

La aplicación de quelato Fe-EDDHA incrementa la concentración foliar de nitrógeno, y disminuye la de fósforo y potasio, sin afectar significativamente el resto de los nutrientes.

La aplicación de un formulado a base de sangre bovina incrementa la concentración foliar de nitrógeno, sin afectar significativamente el resto de los nutrientes.

La asociación con *Festuca rubra* disminuye la concentración foliar de nitrógeno, fósforo y potasio, sin afectar significativamente el resto de los nutrientes.

La asociación con *Poa pratensis* no modifica sustancialmente el crecimiento vegetativo y el estado nutricional en arándanos 'Emerald'.

La *Festuca rubra* es una especie más demandante y competitiva que la *Poa pratensis*, dado su mayor consumo de nitrógeno, fósforo y potasio, lo que resulta en una mayor producción de biomasa aérea durante la temporada.



**LITERATURA CITADA**

Aamlid, T.S.; J.W. Knox; H. Riley; A. Kvalbein and T. Pettersen. 2016, feb. Crop coefficients, growth rates and quality of cool-season turfgrasses. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(1): 69-80.

Abadía A.; M. Sanz; J. de las Rivas and J. Abadía. 1989. Photosynthetic pigments and mineral composition of iron deficient pear leaves. *Journal of Plant Nutrition*, 12(7): 827-838.

Akaike, H. 1974, dec. A new look at the statistical identification model. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 19(6): 716-723.

Allen, R.G.; L. Pereira; D. Raes y M. Smith. 2006. Evapotranspiración del cultivo: Guía para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos. Estudio FAO Riego y Drenaje, Vol. 56. Roma, Italia: FAO. 323p.

Álvarez-Fernández, A.; J. Abadía and A. Abadía. 2006. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. (cap. 4, pp. 85-101). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Álvarez-Fernández, A.; S. García-Marco and J. Lucena. 2005, feb. Evaluation of synthetic iron(III)-chelates (EDDHA/Fe<sup>3+</sup>, EDDHMA/Fe<sup>3+</sup> and the novel EDDHSA/Fe<sup>3+</sup>) to correct iron chlorosis. *European Journal of Agronomy*, 22(2): 119-130.

Ammari, T. and A.D. Rombolà. 2008, may. Overcoming iron deficiency chlorosis in citrus through intercropping with perennial grass species. *Acta Horticulturae*, 868: 327-330.

Arquero, O.; D. Barranco and M. Benlloch. 2006, apr. Potassium starvation increases stomatal conductance in olive trees. *Horticultural Science*, 41(2): 433-436.

Bañados, M.P. 2005, jul. Claves para la poda de arándanos. Temporada de invierno. *Agronomía y forestal UC*, 25: 28-31.

Bañados, M.P. 2007, dic. Poda del arándano. *Revista Frutícola*, 28(3):116-123.

Bañados, M.P.; D. Donnay y P. Uribe. 2007, ene. Poda en verde en arándanos. *Agronomía y Forestal UC*, 31: 16-19.

Bavaresco, L. and S. Poni. 2003. Effect of calcareous soil on photosynthesis rate, mineral nutrition and source-sink ratio of table grape. *Journal of Plant Nutrition*, 26(10-11): 2123-2135.

Bavaresco, L.; M.I. Van Zeller; S. Civardi; M. Gatti and F. Ferrari, F. 2010, jun. Effects of traditional and new methods on overcoming lime-induced chlorosis of grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 61(2): 186-190.

Belkhodja, R., F. Morales, M. Sanz, A. Abadía and J. Abadía. 1998, jun. Iron deficiency in peach trees: Effects on leaf chlorophyll and nutrient concentration in flowers and leaves. *Plant and Soil*, 203(2): 257-268.

Benites, J.; M. Pisante and F. Stagnari (Eds). 2005. The role and importance of integrated soil and water management for orchard development. (cap. 3; pp. 21-28). In: Integrated soil and water management for orchard development: role and importance. Rome, Italy: FAO. 170p.

Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2005. Grapevine growth and physiological responses to iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 28(5): 737-749.

Bonilla, I. 2008. Introducción a la nutrición mineral de las plantas. Los elementos minerales. (cap. 6, pp. 103-121). En: Azcón-Bieto, J. y M. Talón (eds.). Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2a. ed. Madrid, España: McGRAW-HILL. 651p.

Boot, R. and M. Mensink. 1990, dec. Size and morphology of root systems of perennial grasses from contrasting habitats as affected by nitrogen supply. *Plant and Soil*, 129(2): 291-299.

Brady, N. and R. Weil. 2008. Soils of dry regions: alkalinity, salinity and sodicity. (cap. 10, pp. 401-442). In: The nature and properties of soils. 14a. ed., rev. New Jersey, USA: Pearson Education, Inc. 975p.

Broadley, M.; P. Brown; I. Cakmak; Z. Rengel and F. Zhao. 2011. Function of Nutrients: Micronutrients. (cap. 7; pp. 191-248). In: Marschner, H. (ed.). Mineral nutrition of higher plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.

Brown, J.C.; R.S. Holmes and L.O. Tiffin. 1959. Hypothesis concerning iron chlorosis. *Soil Science Society of America Journal*, 23(3): 231-234.

Buzeta, A. 1997. Arándano. (cap 2; pp. 52-89). En su: Chile, Berries para el 2000. Fundación Chile. Santiago, Chile: Departamento Agroindustrial, Fundación Chile. 135p.

Cañasveras, J.C.; M.C. del Campillo; V. Barrón and J. Torrent. 2014, sep. Intercropping with grasses helps to reduce iron chlorosis in olive. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 14(3): 554-564.

Casierra-Posada, F.; J.I. Rodríguez Puerto y J. Cárdenas-Hernández. 2007. La relación hoja:fruto afecta la producción, el crecimiento y la calidad del fruto en duraznero (*Prunus persica* L. Batsch) cv. 'Rubidoux'. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín, Colombia*, 60(1): 3657-3669.

Chan, W.; K.V. Lo and P.H. Liao. 2007. Solubilization of blood meal to be used as a liquid fertilizer. *Journal of Environmental Science and Health*, 42(4): 417-422.

Chen, L.S.; B.R. Smith and L. Cheng. 2004, sep. CO<sub>2</sub> assimilation, photosynthetic enzymes and carbohydrates of 'Concord' grape leaves in response to iron supply. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(5): 738-744.

Coombe, B.G. 1988, jul. The grape berry as a sink. *Acta Horticulturae*, 239: 149-158.

Covarrubias, J.I. and A.D. Rombolà. 2012, may. Changes in the iron deficiency response mechanisms of grapevine with sustainable strategies for iron chlorosis prevention. *Acta Horticulturae*, 984: 315-322.

Covarrubias, J.I.; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2014, feb. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1): 149-159.

Crawford, N.M.; J.Q. Wilkinson and S.T. LaBrie. 1992. Control of nitrate reduction in plants. *Australian Journal of Plant Physiology*, 19(4): 377-385.

Darnell, R.B. and N. Cruz-Huerta. 2011, jun. Uptake and assimilation of nitrate and iron in cultivated and wild *Vaccinium* species. *International Journal of Fruit Science*, 11(2): 136-150.

Dessougi, H.I.; N. Claassen and B. Steingrobe. 2002, dec. Potassium efficiency mechanisms of wheat, barley and sugar beet grown on a K fixing soil under controlled conditions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(6): 732-737.

Di Rienzo, J.A.; A.W. Guzmán and F. Casanoves. 2002, jun. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree obtained by average linkage of the matrix of euclidean distances between treatment means. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 7(2): 129-142.

Di Rienzo, J.A.; F. Casanoves; M.G. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada y C.W. Robledo. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

Dubey, R.S. 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. (cap. 56, pp. 859-875). In: Pessarakli, M. (ed.). Handbook of photosynthesis. New York, USA: Marcel Dekker Inc. 1030p.

Eichert, T.; J. Peguero-Pina; E. Gil-Pelegrín; A. Heredia and V. Fernández. 2010, jan. Effects of iron chlorosis and iron resupply on leaf xylem architecture, water relations, gas exchange and stomatal performance of field-grown peach (*Prunus persica*). *Physiologia Plantarum*, 138(1): 48-59.

Einhellig, F. 1999. An integrated view of allelochemicals amid multiple stresses. (cap. 30; pp. 479-494). In: Inderjit, K.; M.M. Dakshini and C.L. Fay (*eds.*). Principles and practices in plant ecology: allelochemical interactions. Boca Raton, USA: CRC Press. 608p.

Einhellig, F.A. 1996. Interactions involving allelopathy in cropping systems. *Agronomy Journal*, 88(6): 886-893.

Faust, M. 1989. Pruning and related manipulations: physiological effects. (cap. 6, pp. 275-305). In: Physiology of temperate zone fruit trees. New York, USA: John Wiley and Sons. 338p.

Fernández-Escobar, R.; D. Barranco and M. Benlloch. 1993, mar. Overcoming iron chlorosis in olive and peach trees using a low-pressure trunk-injection method. *Horticultural Science*, 28(3):192-194.

Flores, D.A; M.E. Vázquez y J.C. Mildemberg. 2011, may-ago. Efecto de la fertilización cálcica sobre el crecimiento vegetativo de arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum* L.). *Horticultura Argentina*, 30(72): 20-26.

Gaskell, M. and R. Smith. 2007, oct-dec. Nitrogen sources for organic vegetable crops. *HortTechnology*, 17(4): 431-441.

Gaskell, M.; R. Smith; J. Mitchell; S.T. Koike; C. Fouche; T. Hartz; W. Horwath and L. Jackson. 2006. Soil fertility management for organic crops. (Public. N°7249). Division of Agriculture and Natural Resources, University of California. California, EE.UU.: UC Peer Reviewed. 8p.

Gil, G. 2009a. Diseño del huerto e intercepción de luz (cap. 10; pp. 305-386). En su: El Potencial Productivo: Crecimiento vegetativo y Diseño de huertos y viñedos. 4a. ed., act. Santiago, Chile: Universidad Católica de Chile Ediciones. 398p. (Colección en Agricultura).

Gil, G. 2009b. Relación copa-raíz (cap. 7; pp. 247-276). En su: El Potencial Productivo: Crecimiento vegetativo y Diseño de huertos y viñedos. 4a. ed., act. Santiago, Chile: Universidad Católica de Chile Ediciones. 398p. (Colección en Agricultura).

Gough, R.E. 1994. Growth and Development. (cap. 3; pp. 11-65). In: The Highbush Blueberry and Its Management. New York, USA: Food Products Press. 272p.

Gregoriou, C.; M. Papademetriou and L. Christofides. 1983. Use of chelates for correcting iron chlorosis in avocados growing in calcareous soils in Cyprus. *California Avocado Society Yearbook*, 67(3): 115-122.

Gruber, B. and H. Kosegarten. 2002, feb. Depressed growth of non-chlorotic vine grown in calcareous soil is an iron deficiency symptom prior to leaf chlorosis. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 165(1): 111-117.

Gunes; A.; A. Inal; M.S. Adak; M. Alpaslan; E.G. Bagci; T. Erol; D.J. Pilbeam. 2007, may. Mineral nutrition of wheat, chickpea and lentil as affected by mixed cropping and soil moisture. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 78(1): 83-96.

Hamzé, M.; J. Ryan; R. Shwayri and M. Zaabout. 1985. Iron treatment of lime-induced chlorosis: Implications for chlorophyll,  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$  and  $K^+$  in leaves. *Journal of Plant Nutrition*, 8(5): 437-448.

Hanson, E. 2006. Nitrogen fertilization of highbush blueberry. *Acta Horticulturae*, 715: 347-351.

Hanson, E. and J. Hancock. 1996, mar. Managing the nutrition of highbush blueberries. (Extension Bulletin E-2011), Michigan State University Extension. East Lansing, Michigan: Outreach Communications. 8p.

Häussling, M.; E. Leisen; H. Marschner and V. Romheld. 1985, jan. An improved method for non-destructive measurements of the pH of the root-soil interface (rhizosphere). *Journal of Plant Physiology*, 117(4): 371-375.

Hawkesford, M.; W. Horst; T. Kichey; H. Lambers; J. Schjoerring; I. Moller and P. White. 2011. Function of nutrients: macronutrients. (cap. 6; pp. 135-189). In: Marschner, H. (ed.). Mineral nutrition of higher plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.

Hirzel, J. (Ed.). 2014. El suelo como fuente nutricional. (cap. 2, pp. 69-109). En su: Diagnóstico nutricional y principios de fertilización en frutales y vides. 2a. ed., aum. y corr. Chillán, Chile: INIA Quilamapu. 322p. (Colección Libros INIA N°31).

Horneck, D.; J. Hart; R. Stevens; S. Petrie and J. Altland. 2004, feb. (EM N°8857-E). Acidifying Soil for Crop Production West of the Cascade Mountains. Oregon State University Extension Service. Oregon, USA: Oregon State University. 11p.

Huang H.; C.X. Hu; Q. Tan; X. Hu; X. Sun and L. Bi. 2012, oct. Effects of Fe-EDDHA application on iron chlorosis of citrus trees and comparison of evaluations on nutrient balance with three approaches. *Scientia Horticulturae*, 146: 137-142.

Inal, A.; A. Gunes; F. Zhang and I. Cakmak. 2007, may. Peanut/maize intercropping induced changes in rhizosphere and nutrient concentrations in shoots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(5): 350-356.

Ingels, C.A. and K.M. Klonsky. 1998. Historical and current uses. (cap. 1; pp. 3-7). In: Cover cropping in vineyards: a grower's handbook. California, EE.UU: Agriculture and Natural Resources. 162p.

Jungk, A. 2001, apr. Root hairs and the acquisition of plant nutrients from soil. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 164(2): 121-129.

- Kamal, K.; L. Hagagb and F. Awad. 2000. Improved Fe and Zn acquisition by guava seedlings grown in calcareous soils intercropped with graminaceous species. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2071-2080.
- Korcak, R.F. 1988. Nutrition of blueberry and other calcifuges. *Horticultural Reviews*, 10: 183-227.
- Krewer, G. and D. NeSmith. 2006. Blueberry Fertilization in Soil. (Fruit, N° 01-1), Georgia University Extension. Oregon, EE.UU: Georgia University Extension. 12p.
- Lindsay, W.L. 1984. Soil and plant relationships associated with Fe deficiency with emphasis on nutrient interactions. *Journal of Plant Nutrition*, 7(1-5): 489-500.
- Lindsay, W.L. and A.P. Schwab. 1982. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *Journal of Plant Nutrition*, 5(4-7): 821-840.
- López-Rayó, S.; M. Di Foggia; G. Bombai; F. Yunta; E. Rodrigues Moreira; G. Filippini; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2015, feb. Blood-derived compounds can efficiently prevent iron deficiency in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1): 135-142.
- Loue, A. 1988. El hierro. (cap. 2, pp. 53-82). In: Los microelementos en la agricultura. Madrid, España: Mundi-Prensa. 354p.
- Loupassaki, M.H.; S.M. Lionakis and I.I. Androulakis. 1995, sep. Iron deficiency in kiwi and its correction by different methods. *Acta Horticulturae*, 444: 267-271.
- Lucena, J.J. 2009, jul-ago. El empleo de complejantes y quelatos en la fertilización de micronutrientes. *Ceres*, 56(4): 527-535.
- Mahmoudi, H.; N. Labidi; R. Ksouri; M. Gharsalli and C. Abdelly. 2007, mar. Differential tolerance to iron deficiency of chickpea varieties and Fe resupply effects. *Comptes Rendus Biologies*, 330(3): 237-246.
- Maldonado-Torres, R.; J.D. Etchevers-Barra; G. Alcántar-González; J. Rodríguez-Alcazar and M.T. Colinas-León. 2006. Morphological changes in leaves of Mexican lime affected by iron chlorosis. *Journal of Plant Nutrition*, 29(4): 615-628.
- Marini, R. 2003, jul. Peach Fruit Weight, Yield and Crop Value are affected by Number of Fruiting Shoots per Tree. *Horticultural Science*, 38(4): 512-514.
- Marsh, H.V.; H.J. Evans and G. Matrone. 1963, nov. Investigations of the role of iron in chlorophyll metabolism I: Effect of iron deficiency on chlorophyll and heme content and on the activities of certain enzymes in leaves. *Plant Physiology*, 38(6): 632-638.
- Mengel, K. 1994, may. Iron availability in plant tissues: iron chlorosis on calcareous soils. *Plant and Soil*, 165(2): 275-283.

Mengel, K.; E. Kirkby; H. Kosegarten and T. Appel (Eds.). 2001. The Soil as a Plant Nutrient Medium (cap. 2, pp. 15-110) In: Principles of plant nutrition. 5a. ed. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 849p.

Mengel, K.; M. Breininger and W. Bübl. 1984, oct. Bicarbonate, the most important factor inducing iron chlorosis in vine grapes on calcareous soil. *Plant and Soil*, 81(3): 333-344.

Merhaut, D.J and R.L. Darnell. 1995, dec. Ammonium and nitrate accumulation in containerized southern highbush blueberry plants. *Horticultural Science*, 30(7): 1378-1381.

Palliotti, A.; A. Cartechini; D. Petoumenou; O. Silvestroni; S. Mattioli and J.G. Berrios. 2005, sep. Long-term effects of seeded cover-crop on vegetative characteristics, yield and grape and wine composition of 'Grechetto' grapevines in central Italy. *Acta Horticulturae*, 754: 515-521.

Pavel, E.W. and T.M. Dejong. 1993, nov. Source-and sink-limited growth periods of developing fruits indicated by relative growth rate analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118(6): 820-824.

Pescie, M.A. y C.G. López. 2007, ago. Inducción floral en arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum*) var. O'Neal. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 36(2): 97-107.

Pestana M.; A. De Varennes and E. Araújo. 2003, jan. Agriculture Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: a review. *Food, Agriculture and Environment*, 1(1): 46-51.

Pinheiro, J.; D. Bates; S. DebRoy; D. Sarkar and R Core Team. 2014. nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-117, CRAN-Package. Auckland, New Zealand.

Poonnachit, U. and R. Darnell. 2004, apr. Effect of ammonium and nitrate on ferric chelate reductase and nitrate reductase in *Vaccinium* species. *Annals of Botany*, 93(4): 399-405.

Razeto, B. 2006. Nutrición mineral. (cap. 4, pp. 203-276). En su: Para entender la Fruticultura. 4a. ed., aum. y corr. Santiago, Chile: Salesianos S.A. 518p.

Rengel, Z. and P.M. Damon. 2008, ago. Crops and genotypes differ in efficiency of potassium uptake and use. *Physiologia Plantarum*, 133(4): 624-636.

Retamales, J. and F. Hancock. 2012a. Growth and Development. (cap. 3, pp. 51-73). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Retamales, J. and F. Hancock. 2012b. Nutrition. (cap. 5, pp. 103-142). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Rodríguez, V.; M. Beltrán; J. Lerma y M. Licón. 1998, mar. 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. (cap. 3, pp. 61-83). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Rombolà, A.D.; W. Brüggemann; A.F. López-millán; M. Tagliavini; J. Abadía; B. Marangoni and P.R. Moog. 2002, aug. Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology*, 22(12): 869-875.

Salvatierra, A. y C. Sierra (Eds.). 2010. Comportamiento de variedades bajo condiciones de Vicuña en el Valle de Elqui. (cap. 1; pp. 9-18). En su: Antecedentes sobre el manejo agronómico para variedades híbridas de arándanos bajo las condiciones de la Región de Coquimbo. (Bol. INIA N°218), Estación Experimental Intihuasi, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). La Serena, Chile: INIA. 153p.

Samal, D.; J.L. Kovar; B. Steingrobe; U.S. Sadana; P.S. Bhadoria and N. Claassen. 2010, jul. Potassium uptake efficiency and dynamics in the rhizosphere of maize (*Zea mays* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.) and sugar beet (*Beta vulgaris* L.) evaluated with a mechanistic model. *Plant and Soil*, 332(1): 105-121.

San Martín, J. 2009, sep. Manejo de poda en arándanos. (Inf. Téc. N°40), Estación Experimental Raihuén, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Villa Alegre, Chile: INIA. 4p.

San Martín, J. 2012, dic. Manejo de poda en arándanos. *Revista Frutícola*, 3(36): 23-28.

Schwarz, G. 1978, mar. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6(2):461-464.

Silgram, M. and M.A. Shepherd. 1999. The effects of cultivation on soil nitrogen mineralization. *Advances in Agronomy*, 65: 267-311.

Smith, B.R. and L. Cheng. 2006, oct. Fe-EDDHA alleviates chlorosis in 'Concord' grapevines grown at high pH. *Horticultural Science*, 41(6): 1498-1501.

Sorrenti, G.; M. Toselli and B. Marangoni. 2012, mar. Use of compost to manage Fe nutrition of pear trees grown in calcareous soil. *Scientia Horticulturae*, 136(1): 87-94.

Steingrobe, B. and N. Claassen. 2000, feb. Potassium dynamics in the rhizosphere and K efficiency of crops. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 163(1): 101-106.

Szlek, M.; G.V. Miller and G.W. Welkie. 1990. Potassium effect on iron stress in tomato I: the effect on pH, Fe-reductase and chlorophyll. *Journal of Plant Nutrition*, 13(2): 215-229.



Tagliavini, M.; J. Abadía; A.D. Rombolà; A. Abadía; C. Tsipouridis and B. Marangoni. 2000. Agronomic means for the control of iron chlorosis in deciduous fruit trees. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2007-2022.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2010. Mineral nutrition (cap. 5, pp. 107-130). In: Plant physiology. 5a. ed. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc. 782p.

Tessarini, P.; F. Yunta; E. Ingrosso; A. Boliani; J.I. Covarrubias and A.D. Rombolà. 2013, apr. Improvement of grapevine iron nutrition by a bovine blood-derived compound. *Acta Horticulturae*, 1(984): 335-338.

Thoiron, S.; N. Pascal and J.F. Briat. 1997, ago. Impact of iron deficiency and iron re-supply during the early stages of vegetative development in maize (*Zea mays* L.). *Plant, Cell and Environment*, 20(8): 1051-1060.

Trehan, S.P. and N. Claassen. 1998, sep. External K requirement of young plants of potato, sugar beet and wheat in flowing culture resulting from different internal requirements and uptake efficiency. *Potato Research*, 41(3): 229-237.

Trehan, S.P. and R.C. Sharma. 2002. Potassium uptake efficiency of young plants of three potato cultivars as related to root and shoot parameters. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 33(11-12): 1813-1823.

Van-Camp, L.; B. Bujarrabal; A.R. Gentile; R.J. Jones; L. Montanarella; C. Olazabal and S.K. Selvaradjou (Eds.). 2004. Reports of the technical working groups established under the thematic strategy for soil protection. Volume 3: Organic matter. Ispra, Italy: European Communities. 195p.

Vose, P. 1982. Iron nutrition in plants: A world overview. *Journal of Plant Nutrition*, 5(4-7): 233-249.

Wallace, A. 1991. Rational approaches to control of iron deficiency other than plant breeding and choice of resistant cultivars. (cap. 39, pp. 323-330). In: Chen, Y. and Y. Hadar. (eds.). Iron nutrition and interactions in plants. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 396p. (Developments in plant and soil sciences series, Vol. 43).

Welkie, G.W. and G.W. Miller. 1993. Plant iron uptake physiology by nonsiderophore systems. (cap. 16, pp. 345-369). In: Barton, L. and B. Hemming (eds.). Iron chelation in plants and soil microorganisms. California, USA: Academic Press. 506p.

Wertheim, S.J. 2005. Pruning. (cap. 14, pp. 176-189). In: Tromp, J.; A.D. Webster and S.J. Wertheim (eds.). Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production. Leiden, the Netherlands: Backhuys Publishers. 400p.

Weston, L.A. 2000, sep. Are laboratory bioassays for allelopathy suitable for prediction of field responses? *Journal of Chemical Ecology*, 26(9): 2111-2118.

Weyers, J.D. and H. Meidner. 1990. In: Methods in stomatal research. Essex, UK: Longman Scientific and Technical. 233p.

White, P.F. and A.D. Robson. 1990, jun. Response of lupins (*Lupinus angustifolius* L.) and peas (*Pisum sativum* L.) to Fe deficiency induced by low concentrations of Fe in solution or by addition of  $\text{HCO}_3^-$ . *Plant and Soil*, 125(1): 39-47.

White, P.J. 2011. Ion uptake mechanisms of individual cells and roots: short-distance transport. (cap. 2; pp. 7-47). In: Marschner, H. (ed.). Mineral nutrition of higher plants. 3a. ed. Adelaide, Australia: Academic Press. 649p.

Yang Y. 2005, dec. Can the strengths of AIC and BIC be shared? A conflict between model identification and regression estimation. *Biometrika*, 92(4): 937-950.

Yunta, F.; F. Di Foggia; V. Bellido; M. Morales; P. Tessarin; S. López-Rayó; A. Tinti; K. Kovács; Z. Klencsár; F. Fodor and A. Rombolà. 2013, apr. Blood meal-based compound. Good choice as iron fertilizer to be used in organic farming. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(17): 3995-4003.

Zhang, Z.; X. Tian; L. Duan; B. Wang; Z. He and Z. Li. 2007. Differential responses of conventional and *Bt*-transgenic cotton to potassium deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 30(5): 659-670.

Zuo, Y. and F. Zhang. 2008, may. Effect of peanut mixed cropping with gramineous species on micronutrient concentrations and iron chlorosis of peanut plants grown in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 306(1): 23-36.

Zuo, Y.; F. Zhang; X. Li and Y. Cao. 2000, may. Studies on the improvement in iron nutrition of peanut by intercropping with maize on a calcareous soil. *Plant and Soil*, 220(1): 13-25.

APÉNDICE II

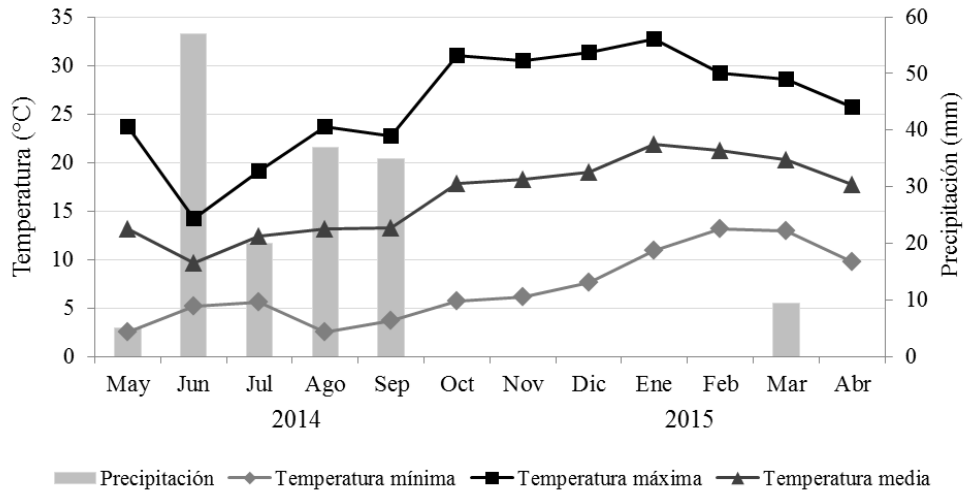


Figura 5. Evolución de la temperatura máxima, media y mínima, expresada en °C, y precipitación mensual, en mm, desde mayo del 2014 a abril del 2015. Catemu, San Felipe, Región de Valparaíso.

Cuadro 1. Composición nutricional de la sangre bovina, dividida en macronutrientes, expresados en porcentaje, y micronutrientes, expresados en mg kg<sup>-1</sup>.

Macronutrientes						Micronutrientes			
Nitrógeno	Fósforo	Potasio	Calcio	Magnesio	Azufre	Hierro	Zinc	Manganeso	Cobre
%						mg kg <sup>-1</sup>			
14,4	0,34	0,8	0,02	0,02	0,49	2675	15,75	0,4	2,55

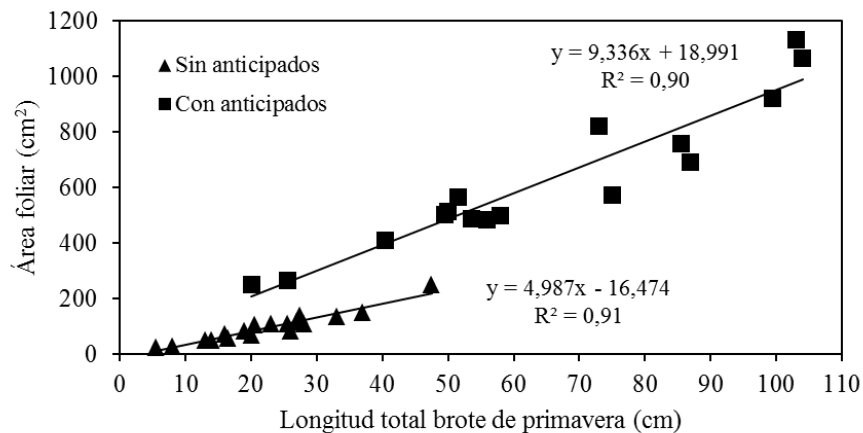


Figura 6. Área foliar, en cm<sup>2</sup>, como función de la longitud, en cm, de brotes de primavera, sin y con brotes anticipados, en arándanos ‘Emerald’ (p<0,0001).

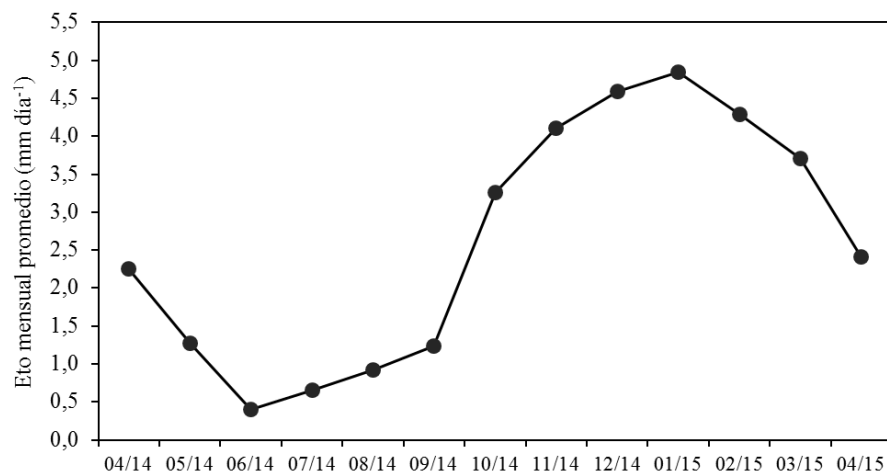


Figura 7. Evolución de la evapotranspiración de referencia ( $Et_0$ ) mensual promedio, expresada en mm/día, desde abril del 2014 a abril del 2015. Catemu, San Felipe, Región de Valparaíso.

## **CAPÍTULO IV: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN VARIABLES PRODUCTIVAS Y CALIDAD DE BAYAS DE ARÁNDANOS ‘EMERALD’**

### **RESUMEN**

El déficit de hierro es un problema nutricional común en suelos calcáreos y alcalinos, resultando particularmente perjudicial para las especies calcífugas, como el arándano alto, el cual ve afectadas su longevidad y productividad, crecimiento de raíces y brotes, y rendimiento y calidad de baya. Las técnicas de manejo tradicionales se basan en aplicaciones repetidas de quelatos de hierro y/o ácidos fuertes, las cuales implican altos costos, y riesgos ambientales y de salud. Como consecuencia, se evaluaron dos técnicas de manejo sostenible: (1) aplicación de un formulado a base de sangre bovina y (2) asociación del cultivo con especies gramíneas, siendo elegidas *Festuca rubra rubra* y *Poa pratensis*.

Con el objetivo de estudiar el efecto de estas técnicas en algunas variables productivas y de calidad de baya en arándanos ‘Emerald’, se utilizó un diseño en cuadrado latino, con 5 tratamientos (testigo, quelato Fe-EDDHA, sangre bovina, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) y 5 repeticiones. Se midió número de frutos, producción y productividad por planta, y el peso y diámetro de los frutos. Asimismo, se elaboró la curva de distribución de cosecha y de distribución de calibre de los frutos. A su vez, se evaluó la calidad de los frutos mediante firmeza, materia seca, concentración de sólidos solubles, pH y acidez titulable.

La asociación con ambas especies gramíneas incrementó el número de frutos por planta, sin afectar el tamaño de los mismos de manera significativa, pero sólo la asociación con *Festuca rubra* condujo a un aumento en la producción de las plantas. En contraste, la aplicación de sangre bovina no afectó la producción de las plantas, puesto que no modificó el número de frutos ni su tamaño respecto de las plantas testigo. Por otro lado, se encontró que las plantas bajo asociación con gramíneas no sólo tuvieron una mayor proporción de frutos cosechados en las primeras cosechas sino una menor firmeza de los mismos, sugiriendo que existe un leve adelanto de la maduración de estos frutos, lo que permitiría alcanzar un mayor precio en el mercado, conduciendo, así, a un aumento en la rentabilidad del cultivo.

**Palabras clave:** asociación con gramíneas, calidad de baya, clorosis férrica, rendimiento, sangre bovina, *Vaccinium corymbosum*

**ABSTRACT**

Iron deficiency is a common nutritional problem in calcareous and alkaline soils, being particularly harmful to calcifuges species such as highbush blueberry, being affected its longevity and productivity, root and shoot growth, and berry yield and quality. Traditional techniques are based on repeated applications of iron chelates and strong acids, which implies high costs and environmental and health risks. As a consequence, two sustainable techniques were evaluated: (1) application of a bovine blood meal compound and (2) intercropping with graminaceous species, being selected *Festuca rubra rubra* and *Poa pratensis*.

In order to study the effect of these techniques in productive and berry quality variables of 'Emerald' blueberry, a latin square design was used, with 5 treatments (control, Fe-EDDHA chelate, bovine blood meal, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) and 5 replicates. Fruit number, production and yield per plant, and fruit weight and diameter were evaluated. In addition, harvest distribution curve and fruit size distribution curve were developed. Moreover, berry quality was measured, as firmness, soluble solids concentration, pH and titratable acidity.

Intercropping with both graminaceous species increased fruit number per plant, without affecting their size significantly, but only intercropping with *Festuca rubra* triggered to an increase in plant production. In contrast, application of bovine blood meal did not affect plant production, since it did not change fruit number or their size, in comparison to control plants. On the other hand, it was found that plants intercropped with gramineous not only had a higher proportion of harvested fruits in the two earliest harvests but also less firmness of them, suggesting a slight advance ripening of these fruits, which leads to a higher price in the market and thus to an increase in crop profitability.

**Keywords:** intercropping with graminaceous, berry quality, iron chlorosis, yield, bovine blood meal, *Vaccinium corymbosum*

## INTRODUCCIÓN

El exceso y/o déficit de nutrientes representan un inconveniente especialmente importante en los árboles frutales, dado que su crecimiento depende de los nutrientes almacenados en la planta al final de la temporada anterior, por lo cual un desequilibrio nutricional puede afectar el rendimiento por más de una temporada (Pestana et al., 2003). En este sentido, el déficit de hierro (Fe) es un problema nutricional importante en numerosas especies frutales que son cultivadas en suelos calcáreos y alcalinos (Rombolà y Tagliavini, 2006), donde la carencia se produce como resultado de la combinación entre una limitada biodisponibilidad de Fe en el suelo y el cultivo de especies susceptibles, las cuales carecen de mecanismos de respuesta o adaptación frente a dicha carencia (Brown y Jolley, 1989). Tal es el caso del arándano alto, el cual, por ser una especie calcífuga (Mengel et al., 2001), manifiesta una clorosis férrica intensa en este tipo de suelos (Retamales y Hancock, 2012a) y, como consecuencia, ve reducidos su rendimiento y calidad de fruta tanto en la temporada en curso como en la siguiente, debido a las yemas florales pobremente desarrolladas (Tagliavini y Rombolà, 2001).

En este sentido, el efecto del déficit de Fe depende del grado y período en el que se desarrolle la clorosis férrica, siendo, en general, más grave durante la floración y el cuaje (Rombolà y Tagliavini, 2006). Así, efectos adversos del déficit de Fe en el rendimiento se han reportado en numerosos frutales, tales como cítricos (Bañuls et al., 2003), kiwi (Tagliavini et al., 2000), olivo (Pastor et al., 2001), duraznero (Yoshikawa, 1988; Sauz et al., 1992), peral (Elkins et al., 2002) y ciruelo (Yoshikawa et al., 1982).

Una posible explicación para esta disminución del rendimiento es el menor poder de asimilación que ocasiona la falta de clorofila, dado que en hojas carentes de Fe la cantidad de clorofila que contiene la membrana tilacoidal es muy baja, por lo cual el transporte de electrones es limitado y, a su vez, la capacidad de fijar carbono se reduce drásticamente (Álvarez-Fernández et al., 2006). Por lo tanto, existe una relación indirecta entre el déficit de Fe y el rendimiento, debido a que se produce una reducción en el potencial fotosintético de la planta y, así, se ve afectada su capacidad para llevar a cabo los procesos de cuaje, retención y maduración de frutos (Zelitch, 1982; Bertamini y Nedunchezian, 2005).

Por su parte, la influencia de la carencia de Fe en la calidad de la fruta es indirecta, relacionada con el metabolismo subóptimo de la hoja y la fotosíntesis neta (Chen et al., 2004). Así, la disminución en la calidad de la fruta debido a la carencia de hierro puede deberse a distintos factores, incluyendo cambios en el color, la firmeza o la cantidad de jugo, y también a cambios en la concentración de ácidos orgánicos, vitaminas y compuestos fenólicos, los que, a su vez, pueden afectar las características organolépticas (Álvarez-Fernández et al., 2006). De hecho, algunos efectos de la clorosis férrica sobre la calidad de la fruta podrían estar asociados con un retraso en la maduración del fruto, conduciendo a un estado de desarrollo menos avanzado, una menor intensidad de color y características químicas típicas de un fruto inmaduro (Álvarez-Fernández et al., 2006).

Teniendo en cuenta que el objetivo principal de un huerto de arándanos es obtener producciones altas, sostenidas en el tiempo y con fruta de buena calidad (Retamales y Hancock, 2012b), deben desarrollarse prácticas de manejo conducentes a maximizar el flujo de la materia seca producida hacia la fruta, sin alterar la productividad de la planta a largo plazo (Flore y Layne, 1999). Al respecto, Retamales y Hancock (2012b) señalan que, cuando se desea conocer el impacto que tiene una determinada práctica de manejo en el rendimiento del cultivo, deben analizarse los componentes del rendimiento, dado que la influencia de esa práctica puede evaluarse examinando sus efectos sobre cada componente del rendimiento. Según Siefker y Hancock (1986), en el arándano, estos componentes son:

$$\text{Rendimiento} = \text{número de cañas/planta} * \text{número de frutos/caña} * \text{peso de fruto}$$

De esta manera, las pérdidas de rendimiento pueden deberse a una disminución en el número total de frutos por planta, o a una disminución del tamaño del fruto, o bien, a una combinación de ambas (Álvarez-Fernández et al., 2006). Al respecto, ha sido señalado que el rendimiento total de árboles con y sin déficit de hierro, creciendo uno al lado del otro en el campo, es diferente, debido a que se afecta el número de frutos por planta y, luego, el tamaño de la fruta. En consecuencia, la pérdida potencial de rendimiento puede ser de un 50% en árboles moderadamente cloróticos, mientras que en plantas con un déficit de hierro severo la disminución en el número de frutos por árbol puede superar el 80% y la pérdida en el tamaño del fruto puede alcanzar un 30% (Álvarez-Fernández et al., 2006).

Actualmente, las técnicas de manejo más difundidas y utilizadas en campo para controlar el déficit de Fe consisten en la aplicación de quelatos sintéticos de Fe, vía edáfica y/o foliar, y la acidificación del agua de riego, con ácido sulfúrico o fosfórico, principalmente (Pestana et al., 2003). A pesar de que la eficacia de ambas técnicas ha sido ampliamente demostrada (Briat et al., 2015), estos productos constituyen fuentes potenciales de contaminación del ambiente, toxicidad para la flora microbiana del suelo y peligro para quienes deben manipularlos (Rombolà y Tagliavini, 2006). Como consecuencia, es necesario desarrollar alternativas de manejo que no sólo sean viables y prácticas, sino que le permitan al productor mantener los rendimientos y disminuir los costos, sin ocasionar perjuicios para el medioambiente (Pestana et al., 2003; López-Rayó et al., 2015). Con este objetivo, se han evaluado, entre otras técnicas, la asociación del cultivo con especies gramíneas y la aplicación de productos derivados de sangre animal.

El peso de fruto se relaciona significativamente con el tamaño del mismo, y éste es uno de los principales factores de calidad de la fruta (Sozzi, 2007); de hecho, en la gran mayoría de las especies, los frutos grandes son más apetecidos que los chicos, puesto que además de ser más llamativos, por lo general, son más dulces y aromáticos (Razeto, 2006). Sin embargo, el principal factor determinante de la calidad de la fruta, es decir el grado de excelencia o superioridad en la combinación de atributos o características que le dan valor en términos de alimentación humana (Kader, 1999), es el grado de madurez a cosecha, puesto que la calidad de la baya de arándano no puede mejorar después de ser cosechada (Gough, 1994). Así, es importante cosechar la fruta cuando su desarrollo es óptimo para la manipulación y consumo (Retamales y Hancock, 2012c). En este sentido, la fruta desarrolla su máxima concentración de azúcar e intensidad de aromas cuando se le permite madurar completamente en la planta (Beaudry, 1992).



La importancia relativa de cada componente de la calidad depende del producto y de su uso previsto (fresco o industrializado), y varía entre productores, distribuidores y consumidores (Retamales y Hancock, 2012c). En general, la compra inicial de los consumidores se basa en la apariencia de la fruta, incluyendo la frescura y la firmeza. Sin embargo, las compras posteriores dependen de la satisfacción de los consumidores, dada por el sabor y la calidad, principalmente, los que están relacionados con los sólidos solubles, acidez titulable, relación SS/acidez, firmeza de la pulpa y calidad nutricional (Kader, 1999).

Debido a que los frutos de un racimo de arándano no maduran simultáneamente, dada su prolongada floración en el tiempo, la cosecha debe hacerse en varias pasadas, distanciadas una semana entre sí, aproximadamente, extendiendo la cosecha de 2 a 6 semanas, en función de la variedad y de las condiciones ambientales (Gough, 1994). En este sentido, las cosechas tempranas representan un beneficio económico debido al mayor precio pagado a inicios de temporada, cuando hay escasez de arándanos frescos en el Hemisferio Norte. Por lo tanto, adelantar y concentrar la producción de fruta, de manera de cosechar el mayor porcentaje posible en las primeras pasadas, significa un aumento relevante en la rentabilidad del cultivo (Bustos, 2008).

Así, y con base en lo anteriormente expuesto, resulta beneficioso comprender el impacto de las diversas prácticas de manejo en los componentes del rendimiento, tanto en diferentes variedades como regiones productivas (Retamales y Hancock, 2012b). En tal contexto, si bien existen numerosos estudios sobre el efecto del déficit de Fe en la producción, productividad y calidad de fruta de distintas especies frutales, poco ha sido indagado en el arándano alto, y no se han probado, a la actualidad, alternativas sostenibles de corrección de la clorosis férrica en esta especie. Por ende, conocer estos aspectos se torna sumamente relevante, dado que las técnicas de manejo utilizadas en un huerto sólo pueden considerarse sostenibles si representan una ventaja productiva para el agricultor, por lo cual los estudios relacionados con la clorosis férrica deben considerar las implicancias en el rendimiento y calidad de la fruta (Pestana et al., 2003).

### **Hipótesis**

El uso de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro, basadas en la aplicación de un compuesto derivado de sangre animal y en la asociación del cultivo con especies gramíneas, modifica las variables productivas y la calidad de bayas en arándanos ‘Emerald’ con déficit de hierro.

### **Objetivo**

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro en las variables productivas y de calidad de bayas en arándanos ‘Emerald’.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Ubicación del estudio

La investigación se llevó a cabo entre marzo del 2014 y abril del 2015.

La parte experimental se realizó en el huerto comercial “Los Fundos-Catemu S.A.”, ubicado en La Poza s/n, Localidad del Ñilhue, Comuna de Catemu, Provincia de San Felipe de Aconcagua, Región de Valparaíso (32°42'S y 70°54'O, 560 m.s.n.m.). El sector del huerto en el cual se ejecutó el estudio fue plantado en el año 2012, se encuentra en ladera y posee camellones de 0,9 m de ancho y 0,4 m de alto.

Cabe destacar que el huerto, y en particular el cuartel utilizado para el estudio, fue elegido en base a los resultados de un análisis químico de suelo (Cuadro 9), realizado en enero del 2014, el cual evidenció la presencia de elevadas concentraciones de carbonatos totales y caliza activa. En consecuencia, el suelo del sector presentó condiciones idóneas para inducir la carencia de hierro en las plantas.

Cuadro 9. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.

Variable	Unidad	Entre-hilera	Sobre-hilera	Condición*
pH	-	7,7	7,5	Alcalino
RAS	-	0,7	0,9	Normal
Cond. Eléctrica	dS m <sup>-1</sup>	3,3	3,2	Lev. salino
Materia orgánica	%	1,1	1,9	Bajo
Calcio	meq/100 g	21,1	20,6	Alto
	% CIC	70	79	
Magnesio	meq/100 g	4,1	3,6	Alto
	% CIC	14	14	
Bicarbonatos	mg L <sup>-1</sup>	159	104	Regular
Carbonato total	% CaCO <sub>3</sub>	1,2	2,0	Alto
Caliza activa	% CaCO <sub>3</sub>	1,0	1,0	Alto

\* Según nivel adecuado para huerto de arándanos (Hirzel, 2014).

La parte analítica del experimento se realizó en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, la cual se encuentra ubicada en la Comuna de La Pintana, Región Metropolitana. La evaluación de calidad de bayas se realizó en el Centro de Estudios de Postcosecha, y la firmeza y peso de bayas se midió en el Laboratorio de Mejoramiento y Calidad de la fruta, ambos pertenecientes al Departamento de Producción Agrícola.

## Material biológico

Se utilizaron plantas de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) ‘Emerald’ de 4 años de edad, las cuales se encontraban bajo un marco de plantación de 3 x 0,8 m, establecidas sobre camellones de orientación noroeste-sureste y con un sistema de riego por goteo, formado por una doble línea de goteros, distanciados a 40 cm y cuyo caudal era de 4 L h<sup>-1</sup>.

Al inicio del experimento, las plantas evidenciaban notables síntomas de clorosis en sus hojas apicales (Apéndice I, Foto 1). Para corroborar que se trataba de una clorosis férrica y descartar, así, cualquier otro tipo de déficit nutricional, se seleccionaron, al azar, 5 plantas cloróticas, en cada una de las cuales se marcó un brote representativo. A cada brote se le midió el índice SPAD, para lo cual se utilizó un *chlorophyll meter* portátil (SPAD Minolta 502, Konica Minolta, Osaka, Japón). La medición se realizó en la primera hoja completamente expandida de los brotes; los valores estuvieron en el rango de 20 a 25. Luego, los brotes fueron sumergidos varias veces en una solución de quelato de hierro sintético Fe-EDTA a una concentración de 2 mM y pH 6,0, con el objetivo de mojar completamente la superficie de las hojas apicales. A los 10 días se repitió la medición del índice SPAD en cada uno de los brotes marcados, y los resultados obtenidos arrojaron valores mayores a 30, concluyendo que las plantas tenían síntomas de déficit de hierro.

## Tratamientos y diseño experimental

Dentro del sector de estudio, se seleccionaron visualmente 5 hileras contiguas y homogéneas, es decir, que tuviesen plantas de un tamaño, desarrollo y grado de clorosis lo más uniforme posible, y sin problemas fitosanitarios y fisiológicos aparentes.

Se utilizó un diseño en cuadrado latino, en el cual el factor de bloqueo fue tanto la altura de la ladera como la hilera. La unidad experimental (UE) fue de 10 plantas y la unidad de observación (UO) de 6 plantas. Cada UE fue separada de la siguiente por un ‘borde’ de 2 plantas, de la misma forma en que se separó la primera UE del camino.

Se trabajó con 5 tratamientos: (1) testigo absoluto; (2) testigo comercial, que consistió en la aplicación de quelato de hierro al suelo (Fe-EDDHA); (3) aplicación de un compuesto formulado a base de sangre bovina; (4) asociación con *Festuca rubra rubra* L. y (5) asociación con *Poa pratensis* L. El diseño experimental consideró la implementación de 5 repeticiones para cada tratamiento (Apéndice I, Figura 1).

## Manejo del experimento

El formulado a base de sangre bovina y el quelato de hierro fueron aplicados al suelo en forma líquida, previa preparación de una solución. El compuesto formulado a base de sangre bovina se preparó a una concentración de 20 g L<sup>-1</sup> y se aplicó en dosis de 0,5

L/planta, de manera que cada planta recibió 10 g de formulado por aplicación. El producto poseía una concentración de hierro de  $2.675 \text{ mg kg}^{-1}$ , por lo cual cada planta recibió 26,75 mg de hierro en cada aplicación. Por otra parte, se utilizó el producto comercial Basafer® PLUS, 5% p/p orto-orto Fe-EDDHA (Compo®), el cual corresponde a un quelato Fe-etilendiamino-N,N'-di(2-hidroxifenil) ácido acético. Tal producto se preparó con una concentración de  $4 \text{ g L}^{-1}$  y se aplicó en dosis de 0,5 L/planta, de manera que cada planta recibió 2 g de quelato en cada aplicación y, por ende, 0,1 g de hierro. Las aplicaciones de ambos productos se realizaron en forma manual (Apéndice I, Foto 2), cada 15 días, y desde inicios de brotación (*Late green tip stage*) hasta la aparición de las ramificaciones del segundo flujo de crecimiento de brotes (*Fruit bud set stage*), por lo que ambos productos fueron aplicados 10 veces en total.

Por otro lado, las especies gramíneas fueron sembradas en la hilera del cultivo, a lo largo de toda la unidad experimental, cubriendo todo el espacio existente entre las plantas y debajo de las mismas (Apéndice I, Foto 3). La siembra se realizó en abril del 2014, a una densidad de 20.000 semillas/m<sup>2</sup>. Se utilizaron semillas certificadas, y en perfecto estado sanitario, de las especies *Festuca rubra rubra* L. y *Poa pratensis* L. La siembra consistió en mullir el suelo, colocar la semilla a 0,5 cm de profundidad, aproximadamente, tapar con una capa delgada de suelo del lugar y, luego, esparcir un poco de arena con el objeto de mejorar la infiltración del agua y evitar la evaporación del agua de riego. Finalmente, para favorecer la germinación, se regó diariamente durante las dos primeras semanas desde la fecha de siembra, con un pulverizador manual de 5 L, mediante el cual se proporcionó una fina lluvia, suficientemente abundante como para humedecer el suelo, pero no tan excesiva como para provocar escurrimiento. Una vez establecidas las gramíneas, y con el objetivo de realizar un aporte adicional de agua a las plantas bajo asociación, se colocaron 8 microjets de 180° a lo largo de la UE, ubicándose 4 en cada línea de gotero. El caudal de los microaspersores utilizados era de  $60 \text{ L h}^{-1}$ . A su vez, durante toda la temporada, las gramíneas fueron segadas manualmente cuando alcanzaban 15 cm de altura, y se llevaban a una altura de 5 cm, aproximadamente.

Las labores agronómicas de poda, riego, control fitosanitario y fertilización con macro y micronutrientes, a excepción del hierro, se ejecutaron según el criterio y manejo implementado por la administración del predio. No se efectuó una poda “en verde” (de verano) en las plantas del ensayo.

## Evaluaciones

Las variables productivas se evaluaron en cada una de las cosechas, mientras que la calidad de las bayas se evaluó en la etapa de poscosecha.

La cosecha se realizó en forma manual, por pasadas, en cajas plásticas de 3 kg, y el índice de cosecha utilizado fue el color (75% *Blue stage*) usado con fines comerciales. Así, en cada pasada, sólo se cosechó la fruta de color completamente azul (Apéndice III, Foto 5).

### **Radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$ 1)**

La medición se realizó en cada planta de la UO, una vez llegado el momento de cosecha. Se utilizó un ceptómetro (modelo ACCUPAR LP-80, Decagon Device, Washington, EE.UU.), con el cual se midió la radiación no interceptada ( $PAR_{ni}$ ), 10 a 15 cm del suelo, durante el mediodía solar. El procedimiento utilizado durante la evaluación, así como el cálculo posterior de la radiación interceptada, fueron los mismos que aparecen descritos en el Capítulo III.

### **Variables productivas**

**Carga frutal.** En cada una de las pasadas que integraron la cosecha, se contó el número de frutos de cada planta de la UO. La carga frutal se expresó como frutos/planta y como frutos/m<sup>2</sup>  $PAR_i$ , para lo cual se utilizó el  $PAR_i$  medido a inicios de cosecha (Capítulo III).

**Tamaño de fruto.** Se consideró el peso y el diámetro ecuatorial de baya. El peso promedio de baya se calculó dividiendo la producción total de las plantas por el número de frutos, y se expresó en g. Por su parte, el diámetro ecuatorial promedio de baya se estimó a partir de una curva de regresión entre el peso de fruto y su diámetro.

- **Curva de relación peso-diámetro.** Se colectaron, al azar, 100 bayas maduras, de color completamente azul, y de todos los tamaños posibles. A cada baya se le midió su peso mediante una balanza (modelo AQT 2600, Adam, Connecticut, EE.UU.), y su diámetro ecuatorial mediante un pie de metro digital (Veto, Santiago, Chile). Finalmente, con los datos obtenidos se elaboró una curva para poder estimar el diámetro ecuatorial de una baya de arándano en función de su peso.

**Producción por planta.** En cada pasada de la cosecha, se evaluó la producción individual de cada planta de la UO, para lo cual, una vez recolectada la totalidad de la fruta de la planta, ésta se pesó en una balanza digital (modelo Counting Scale ACS-JS, Precision, China). Una vez finalizada la cosecha, se sumó la producción de la planta en cada pasada y se expresó en g/planta.

**Productividad.** Esta variable se calculó, para cada planta de la UO, como el cociente entre la producción total por planta y el  $PAR_i$  medido en cada planta a inicios de cosecha (Capítulo III). Se expresó en kg/m<sup>2</sup>  $PAR_i$ .

### **Calidad de bayas**

En la pasada número 3, la cual correspondió a la pasada representativa de la cosecha, puesto que en esa pasada se cosechó el mayor porcentaje de frutos de las plantas, se tomaron 2 muestras de bayas de cada UE. La primera muestra estuvo compuesta por 40

bayas y la segunda muestra por 200 bayas. En ambos casos, las bayas se tomaron al azar, considerando que su tamaño fuera representativo de la UE.

Las muestras de 40 bayas se colocaron en una cámara de frío a 1°C, durante 12 horas, en cajas plásticas de 125 g, con tapa (Apéndice III, Foto 6).

**Firmeza.** Las muestras colocadas en cámara de frío se expusieron a temperatura ambiente durante 3 horas y, luego, a cada una de las bayas se le midió la firmeza, para lo cual se utilizó un texturómetro motorizado o *fruit texture analyzer* (modelo FTA 65-14, GÜSS, Strand, Sudáfrica), con un émbolo de 3 cm de diámetro, y una deformación de 1 mm. Esta variable se midió como fuerza máxima, es decir la fuerza necesaria para deformar la película de la baya, y se expresó en Newton (N).

**Porcentaje de materia seca.** A cada baya de la muestra, se le calculó su porcentaje de materia seca. Para ello, después de evaluar su firmeza, cada baya fue pesada en una balanza (modelo AQT 2600, Adam, Connecticut, EE.UU.). Luego, las bayas fueron colocadas en forma individual en una bolsa de papel, y se las llevó a estufa, a 50°C, hasta peso constante. Finalmente, se calculó el porcentaje de materia seca de la baya con la siguiente fórmula:

$$\text{Materia seca (\%)} = (100 - ((\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}) / \text{Peso fresco})) * 100$$

Por su parte, las muestras de 200 bayas fueron colocadas en bolsas plásticas, y se llevaron a -20°C. Una vez congeladas, las bayas se pelaron para separar la piel de la pulpa. Para la evaluación de sólidos solubles, pH y acidez titulable se utilizó la pulpa, la cual se expuso a temperatura ambiente durante 15 horas, con el objetivo de descongelarla. Ésta se molió en forma manual, de manera de obtener un jugo compuesto y homogéneo por muestra, el que luego fue filtrado y colocado en frascos plásticos con tapa.

**Concentración de sólidos solubles.** Se evaluó en el jugo de la pulpa de cada muestra mediante un refractómetro termocompensado a 20 °C (modelo PAL-1, Atago, Japón).

**Acidez titulable.** Se determinó mediante la titulación de 2 mL de jugo con NaOH 0,1 N hasta la neutralización de los ácidos orgánicos a pH 8,2 a 8,3. Los resultados se expresaron como porcentaje de ácido cítrico, según la fórmula:

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{(V * C * F * 100)}{M}$$

Donde: V= volumen de NaOH utilizado (mL)

C= concentración de NaOH (N)

M= cantidad de muestra (mL)

F= factor ácido cítrico = 0,06404

**pH.** Se evaluó en el jugo obtenido de la pulpa de cada muestra, utilizando un potenciómetro pH21 (modelo pHep-HI98107, Hanna Instrument, Padua, España).

**Relación SS/Acidez.** Esta variable se calculó a través de la división entre el valor de sólidos solubles y el de acidez, obteniéndose un valor adimensional.

### Análisis estadístico

Para contemplar las fuentes de variación independientes de los tratamientos, se utilizó un diseño en cuadrado latino 5x5, considerando como fuente de variación la pendiente (fila) y la hilera (columna). Un análisis exploratorio preliminar mostró que los bloques no controlaban adecuadamente la heterogeneidad ambiental, por lo cual se ajustó un modelo que incluyó una función de correlación espacial.

Se ajustó un modelo de regresión lineal simple para evaluar la relación entre el peso y diámetro de baya, y entre la carga frutal y la productividad por planta. A su vez, se ajustaron modelos de regresión lineal múltiple para describir la carga frutal en función del índice SPAD y  $PAR_i$ , y el tamaño promedio de fruto en función del índice SPAD,  $PAR_i$  y carga frutal. Para las regresiones múltiples, se consideró la multicolinealidad entre las variables regresoras.

Se analizó si existían diferencias estadísticamente significativas, para todas las variables evaluadas, bajo el marco teórico de Modelos Lineales Mixtos.

Se ajustó un modelo mixto de análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo de la cosecha, en la comparación entre tratamientos. El modelo incluyó bloques, tratamiento, fecha de cosecha e interacción tratamiento\*fecha.

Para contemplar la correlación temporal entre observaciones de una misma unidad experimental, se evaluaron los modelos:

- Modelo con efecto aleatorio de unidad experimental.
- Modelo con errores correlacionados sin especificar estructura de correlación.
- Modelo con errores correlacionados según una estructura de correlación autoregresiva.

Para la determinación de la bondad de ajuste de los modelos seleccionados, se valoraron los criterios de selección “Akaike Information Criterion” (AIC) (Akaike, 1974) y “Bayesian Information Criterion (BIC) (Schwarz, 1978; Yang, 2005). Para seleccionar modelos con similares criterios de selección (AIC y BIC), se compararon los modelos con el test del cociente de verosimilitud (LRT).

En el caso de existir varianzas heterocedásticas, éstas fueron corregidas.

En caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples DGC (Di Rienzo et al., 2002) ( $\alpha=0,05$ ) para la distribución de la

cosecha y calibre, y la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ( $\alpha=0,05$ ) para las variables productivas y calidad de bayas.

La estimación de los modelos se realizó utilizando la función *glm* y *lme* de la librería *nlme* de R (Pinheiro et al., 2014), mediante la interfaz del programa estadístico InfoStat versión 2013 (Di Rienzo et al., 2013).



## RESULTADOS

Dado que el número de frutos de una planta está influenciado por varios factores, se realizó una regresión múltiple para la carga frutal, expresada en frutos/planta, en función de la concentración foliar de clorofila (CFC) y de la radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$  1). Las dos variables regresoras se relacionaron significativamente ( $p < 0,05$ ) con la carga frutal: mientras el tamaño de la planta se relacionó en forma cuadrática, la CFC lo hizo en forma lineal. Puede observarse que la carga frutal está más influenciada por el tamaño de la planta a inicios de cosecha ( $PAR_i$  1) que por la CFC, debido a la contribución (Cp Mallows) de estas variables en el modelo estimado (Cuadro 10).

Cuadro 10. Carga frutal, expresada en frutos/planta, en función de la concentración foliar de clorofila (CFC) y la radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$  1), en arándanos 'Emerald' con déficit de hierro.

Variable dependiente	Variable independiente	<i>p</i> -valor variable	Cp de Mallows	Ecuación	R <sup>2</sup>	<i>p</i> -valor ecuación
Carga frutal (frutos/planta)	CFC	0,0013	17,07	$\hat{Y} = -$	0,89	<0,0001
	$PAR_i$ 1	0,0003	22,19	$196,9 + 7,76(SPAD)$		
	$PAR_i^2$ 1	0,0023	15,23	$+4251,49(PAR_i) - 2523,91(PAR_i)^2$		

Por otro lado, el tamaño de los frutos también se ve influenciado por varios factores, destacándose entre ellos la carga frutal, el tamaño de la planta y la CFC, factores que reflejan, al menos en parte, la capacidad fotosintética de la misma, por lo cual se realizó una regresión múltiple para el tamaño de fruto, expresado en gramos, en función de la CFC, la interceptación de radiación a inicios de cosecha ( $PAR_i$  1) y la carga frutal, expresada en frutos/planta. Se observó que la CFC y el  $PAR_i$  se relacionaron lineal y significativamente ( $p < 0,05$ ) con el tamaño de fruto, mientras que la carga frutal no se relacionó en forma significativa con el mismo. Asimismo, se aprecia que el tamaño de fruto está más influenciado por el tamaño de la planta ( $PAR_i$  1) que por la CFC, debido a la contribución (Cp Mallows) de estas variables en el modelo estimado (Cuadro 11).

Cuadro 11. Tamaño de fruto, expresado en g, en función de la concentración foliar de clorofila (CFC), de la radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$  1) y la carga frutal, expresada en frutos/planta, en arándanos 'Emerald' con déficit de hierro.

Variable dependiente	Variable independiente	<i>p</i> -valor variable	Cp de Mallows	Ecuación	R <sup>2</sup>	<i>p</i> -valor ecuación
Tamaño de fruto (g)	CFC	0,0043	13,44	$\hat{Y} = 0,07 + 0,01(SPAD) + 0,97(PAR_i)$	0,70	0,0002
	$PAR_i$ 1	0,0004	21,89			
	Carga frutal	0,6259	3,29			

### Radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$ 1)

La radiación interceptada a inicios de cosecha ( $PAR_i$  1), la cual reflejó el tamaño de las plantas en ese momento, no mostró diferencias significativas entre los tratamientos. Por ello, y dado que se relacionó significativamente con la carga frutal y el tamaño promedio de frutos, se la utilizó como covariable para realizar el análisis estadístico de estos parámetros, y también de la producción (Cuadro 12).

### Variables productivas

#### Carga frutal

La asociación con ambas gramíneas incrementó significativamente la carga frutal respecto del testigo. Si bien los arándanos asociados con *Festuca rubra* obtuvieron una carga frutal mayor respecto de aquellos asociados con *Poa pratensis*, no se registraron diferencias significativas. Por su parte, la aplicación de Fe-EDDHA también registró una carga frutal superior al testigo, mientras que la aplicación de sange bovina tuvo un valor intermedio entre estos dos tratamientos, sin diferenciarse de ninguno de ellos (Cuadro 12). La carga frutal evidenció las mismas diferencias significativas entre tratamientos, tanto cuando se expresó en frutos/planta como en frutos/m<sup>2</sup>  $PAR_i$  (Cuadro 12).

#### Tamaño de fruto

Los resultados evidenciaron que las aplicaciones de Fe-EDDHA incrementaron el tamaño de los frutos en comparación con la aplicación de sangre bovina, cuyas plantas mostraron el menor tamaño de los mismos. Por su parte, el testigo y la asociación con ambas gramíneas manifestaron valores intermedios, sin diferenciarse estadísticamente entre ellos. El tamaño de fruto tuvo las mismas diferencias significativas entre tratamientos, independientemente de su expresión en peso (g) o diámetro (mm) (Cuadro 12).

**Curva de regresión peso-diámetro.** El peso de las bayas se relacionó de forma directa, cuadrática y estadísticamente significativa con su diámetro ecuatorial.

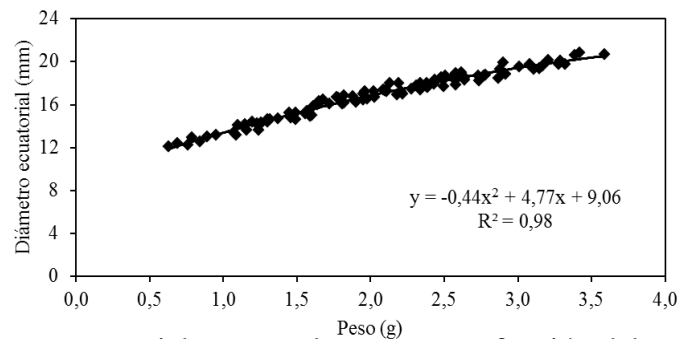


Figura 16. Diámetro ecuatorial, expresado en mm, en función del peso, expresado en g, de bayas maduras de arándano ‘Emerald’ ( $p < 0,0001$ ).  $n = 100$ .

## Producción por planta

En el experimento, los arándanos que alcanzaron la mayor producción individual de planta fueron aquellos tratados con Fe-EDDHA y aquellos sometidos al intercalado con ambas gramíneas, con diferencias estadísticas respecto de las plantas tratadas con sangre bovina. En cuanto a las plantas testigo, éstas alcanzaron una producción intermedia entre las plantas asociadas con *Poa pratensis* y las tratadas con sangre bovina, sin diferenciarse de ellas (Cuadro 12).

## Productividad

La mayor productividad se observó en los arándanos tratados con Fe-EDDHA y aquellos sometidos a asociación con ambas gramíneas, pero sólo la asociación con *Festuca rubra* se diferenció estadísticamente del testigo. Por su parte, las plantas tratadas con sangre bovina tuvieron una productividad inferior a la del testigo, pero la diferencia entre ellos no fue significativa (Cuadro 12).

Cuadro 12. Radiación interceptada a inicios de cosecha, en  $m^2 PAR_i$ ; producción, como g/planta; carga frutal, en frutos/planta y frutos/ $m^2 PAR_i$ ; tamaño de fruto en gramos de peso y milímetros de diámetro ecuatorial, y productividad, en  $kg/m^2 PAR_i$ , de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Radiación interceptada	Carga frutal		Tamaño de fruto		Producción	Productividad
	$m^2 PAR_i$	frutos/planta	frutos/ $m^2 PAR_i$	Peso g	Diámetro mm	g/planta	$kg/m^2 PAR_i$
Testigo	0,27 ± 0,02	585 ± 47 c	2426 ± 204 c	1,23 ± 0,05 ab	14,3 ± 0,3 ab	802 ± 55 bc	3,1 ± 0,3 bc
Quelato Fe-EDDHA	0,28 ± 0,02	663 ± 53 b	2682 ± 226 b	1,35 ± 0,06 a	14,7 ± 0,3 a	984 ± 70 ab	3,7 ± 0,3 ab
Sangre bovina	0,25 ± 0,02	629 ± 47 bc	2509 ± 212 bc	1,12 ± 0,05 b	13,8 ± 0,3 b	770 ± 51 c	2,7 ± 0,2 c
<i>Poa pratensis</i>	0,26 ± 0,02	749 ± 54 ab	3056 ± 256 ab	1,20 ± 0,06 ab	14,1 ± 0,3 ab	934 ± 64 ab	3,6 ± 0,3 ab
<i>Festuca rubra</i>	0,23 ± 0,02	844 ± 55 a	3545 ± 289 a	1,19 ± 0,06 ab	14,1 ± 0,3 ab	993 ± 66 a	4,2 ± 0,4 a
Significancia	n.s.	p=0,0033	p=0,0145	p=0,0490	p=0,0403	p=0,0105	p=0,0052
CV							
$PAR_i^2$ 1		p=0,0482					
$PAR_i$ 1		p=0,0003		p=0,0154	p=0,0323	p<0,0001	

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p<0,05$ ). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos. CV= covariable.  $PAR_i$  1=  $PAR_i$  a inicios de cosecha.

## Curva de distribución de calibre

Independientemente del tratamiento, alrededor del 50% de los frutos del experimento se ubicó dentro del calibre 14 a 16, y alrededor del 30% dentro del calibre 16 a 18, por lo cual el 80% de los frutos fue de calibre intermedio, quedando sólo el 20% repartido dentro del menor (12 a 14) y mayor (>18) calibre (Figura 17).

Los datos colectados indican que los tratamientos no influenciaron el porcentaje de frutos cosechados con calibres superiores a 16 mm. En contraste, las aplicaciones de Fe-EDDHA incrementaron la proporción de fruta de calibre 14 a 16 mm respecto del resto de los tratamientos, mientras que las plantas testigo y las aplicaciones de sangre bovina incrementaron la proporción de fruta de calibres pequeños (12 a 14 mm) (Figura 17).

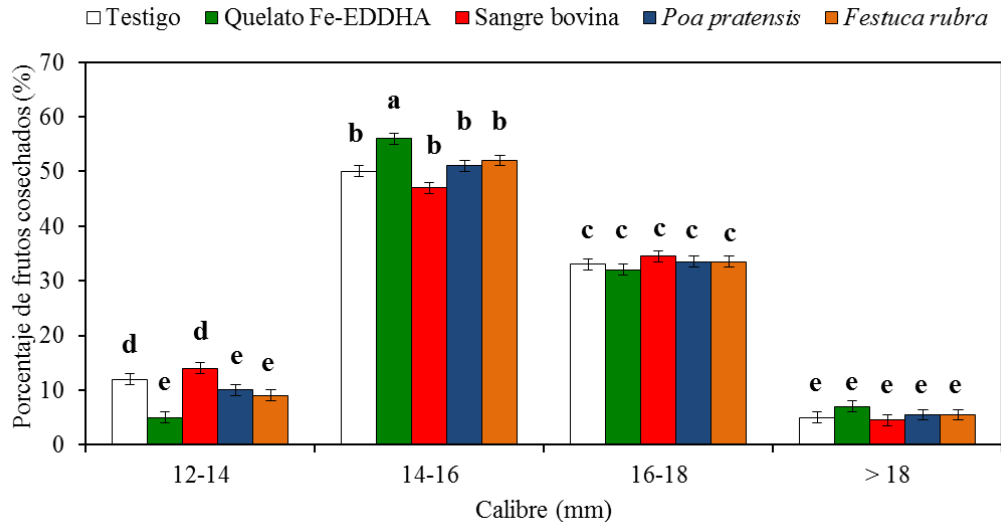


Figura 17. Distribución de calibres, expresada como porcentaje de frutos cosechados dentro de cada categoría, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes por calibre indican diferencias significativas según la prueba de comparación múltiple DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento\*calibre significativa ( $p < 0,0001$ ).

### Curva de distribución de cosecha

Bajo las condiciones experimentales en que se realizó este estudio (Apéndice II, Figura 5), la cosecha se extendió durante 50 días, desde el 17 de octubre al 05 de diciembre del 2014, y estuvo compuesta por un total de 5 pasadas, las cuales se realizaron los días 17 de octubre, 31 de octubre, 11 de noviembre, 19 de noviembre y 05 de diciembre.

La Figura 18 representa la distribución de la cosecha, es decir el porcentaje de frutos que se recolectó en cada una de las cosechas, para cada uno de los tratamientos. Puede observarse que, independientemente del tratamiento, la curva de distribución tiene una forma acampanada y que, en todos los casos, el ‘peak’ de cosecha, es decir el momento en que se recolectó el mayor porcentaje de frutos, se produjo en la tercera fecha. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre los tratamientos en las tres primeras fechas de cosecha, mientras que en las últimas dos, no hubo diferencias entre los mismos (Figura 18).

La asociación con ambas gramíneas incrementó el porcentaje de frutos cosechados en las dos primeras pasadas, alcanzando cerca del 40% de la cosecha total el día 31 de octubre, y diferenciándose así de los otros tratamientos, que no superaron el 30%. Luego, en la tercera pasada, la asociación con gramíneas tuvo un porcentaje de cosecha significativamente menor; así, todos los tratamientos alcanzaron, el 11 de noviembre, el 70% de la cosecha, aproximadamente. De esta manera, la asociación con gramíneas tuvo un efecto positivo en la curva de cosecha, puesto que condujo a un leve desplazamiento de la misma hacia fechas más tempranas, aumentando el porcentaje de frutos cosechados en las primeras dos pasadas, y disminuyéndolo en las sucesivas.

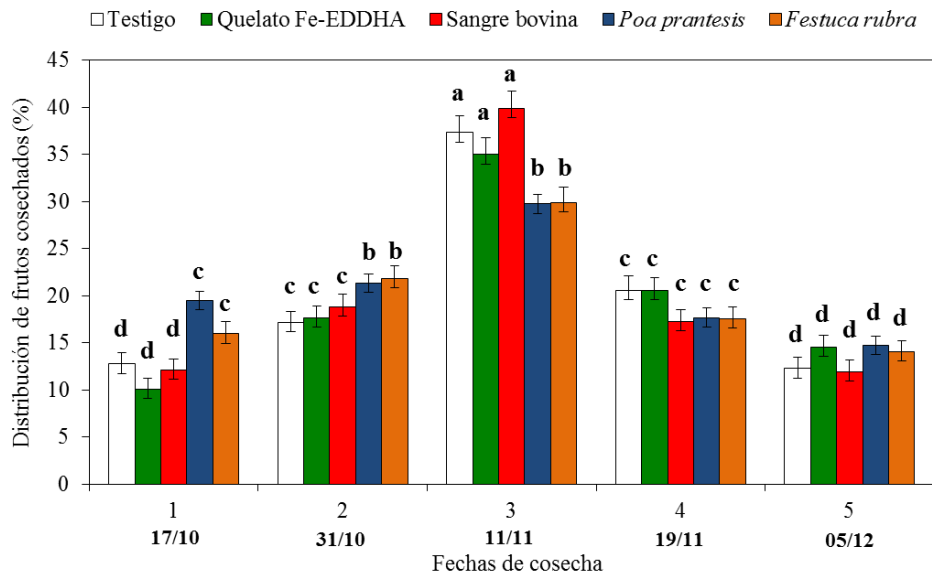


Figura 18. Distribución de la cosecha, expresada como porcentaje de frutos cosechados en cada fecha de cosecha, en arándanos ‘Emerald’ bajo tratamientos de corrección del déficit de hierro. Medias ajustadas con letras diferentes por fecha indican diferencias significativas según prueba de comparación múltiple DGC ( $p < 0,05$ ). Barras verticales indican el error estándar. Interacción tratamiento\*fecha significativa ( $p < 0,0001$ ).

## Calidad de bayas

### Firmeza

Los valores de firmeza variaron entre 2,88 y 3,11 N. Las plantas testigo y aquellas tratadas con sangre bovina o con Fe-EDDHA evidenciaron los mayores valores de firmeza, con diferencias estadísticas respecto de las plantas asociadas con gramíneas, pero sin diferencias entre ellos. La asociación con *Festuca rubra* fue quien tuvo el menor valor de firmeza, pero sin diferenciarse de la asociación con *Poa pratensis* (Cuadro 13).

### Porcentaje de materia seca

El porcentaje de materia seca estuvo entre 15,2 y 16,5. Los resultados no arrojaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y todos estuvieron dentro del rango adecuado, según Beaudry (1992) (Cuadro 13).

### Concentración de sólidos solubles, acidez titulable y pH

La concentración de sólidos solubles, expresada como °Brix, estuvo entre 14,6 y 16,5. La acidez, expresada como porcentaje de ácido cítrico, varió entre 0,48 y 0,54, y los valores de pH estuvieron entre 3,57 y 3,69. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y todos estuvieron dentro del rango adecuado, según Beaudry (1992) (Cuadro 13).

### Relación SS/Acidez

La relación SS/Acidez estuvo entre 28,7 y 33,1. Los resultados no arrojaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y todos estuvieron dentro del rango adecuado, según Beaudry (1992) (Cuadro 13).

Cuadro 13. Materia seca, expresada en %; firmeza, expresada en Newton; sólidos solubles, en °Brix; pH; acidez, en % de ácido cítrico, y relación SS/acidez en bayas de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Característica de baya			Calidad de pulpa		
	Firmeza	Materia seca	Sól. solubles	pH	Acidez	SS/Acidez
	N	%	°Brix		% Ác. Cítrico	
Testigo	3,11 ± 0,07 a	15,2 ± 0,24	15,9 ± 0,19 a	3,63 ± 0,06	0,45 ± 0,03	33,1 ± 4,03
Quelato Fe-EDDHA	2,99 ± 0,07 ab	15,8 ± 0,48	16,5 ± 1,23 a	3,68 ± 0,06	0,58 ± 0,03	28,7 ± 1,04
Sangre bovina	3,07 ± 0,07 a	15,2 ± 0,23	14,6 ± 0,59 a	3,69 ± 0,06	0,48 ± 0,03	30,5 ± 1,82
<i>Poa pratensis</i>	2,91 ± 0,07 bc	15,9 ± 0,51	15,1 ± 0,58 a	3,57 ± 0,06	0,50 ± 0,03	32,6 ± 3,44
<i>Festuca rubra</i>	2,88 ± 0,07 c	16,5 ± 1,00	14,9 ± 0,63 a	3,62 ± 0,06	0,56 ± 0,03	28,9 ± 1,11
Significancia	p= 0,0016	n.s.	p= 0,0203	n.s.	n.s.	n.s.
Rango adecuado (Beaudry, 1992)	< 4,5	15 a 17	> 10	2,25 a 4,25	0,30 a 1,30	10 a 33

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). n.s.= sin diferencias significativas entre tratamientos.

## DISCUSIÓN

El déficit de hierro (Fe) afecta negativamente las variables productivas del arándano, tal como se ha observado en duraznero (Sanz et al., 1997; Álvarez-Fernández et al., 2003), peral (Álvarez-Fernández et al., 2011), olivo (Fernández-Escobar et al., 1993), frutilla (Zaiter et al., 1993) y vid (Bavaresco et al., 2005), puesto que aquellos tratamientos que lograron corregir, al menos en parte, la clorosis férrica inicial de las plantas, evidenciaron una mejoría en dichas variables. De esta manera, si bien la diferencia no fue significativa, se observó que tanto las plantas tratadas con Fe-EDDHA como aquellas bajo asociación con gramíneas, tuvieron una tendencia hacia el aumento de producción y productividad, en comparación con las plantas testigo, al aumentar la concentración inicial de clorofila foliar (Capítulo II), mientras que la aplicación de sangre bovina condujo a una producción y productividad similares al testigo, por no revertir la clorosis (Capítulo II).

Dado que la producción y el número de frutos se relacionan positiva y significativamente (Apéndice III, Figura 8), al igual que la carga frutal y la productividad (Apéndice III, Figura 9), la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas evidenciaron un mayor número de frutos respecto del testigo, lo que podría atribuirse a una menor abscisión de los frutos cuajados. Esto se debe a que el déficit de Fe favorece la síntesis de etileno, hormona responsable de la abscisión de frutos pequeños (Lipe y Morgan, 1973), mediante dos vías: una directa, al favorecer la sobreexpresión de los genes involucrados en la síntesis y *signaling* de la hormona (Iqbal et al., 2013), y otra indirecta, al afectar la tasa fotosintética de las plantas, conduciendo a una escasez de carbono que induce la caída de los frutos mediante una ruta hormonal específica, cuyo producto final es el etileno (Gómez-Cadenas et al., 2000). En este sentido, ha sido señalado que las caídas poscuaje son procesos para los que la fotosíntesis foliar y, por ende, la producción de fotoasimilados resulta crucial (Buwalda y Smith, 1990; Mehouchi et al., 2000). De hecho, aquellos frutos que no alcanzan cierta concentración de carbohidratos umbral, tienen una alta probabilidad de caer (Mehouchi et al. 1995, Talon et al. 1997). Así, en un futuro ensayo, sería recomendable cuantificar la caída de frutos, con el fin de evaluar la influencia de los tratamientos en este proceso y corroborar, así, el efecto del déficit de Fe sobre la carga frutal.

En el caso de las plantas tratadas con Fe-EDDHA, el aumento de producción no sólo se debió a una mayor carga frutal sino a un leve aumento en el tamaño de fruto, a pesar de que éste no fue significativo, al igual que reportaron Sanz et al. (1997) y Álvarez-Fernández et al. (2003) en duraznero. Este mayor tamaño de los frutos también estaría indirectamente relacionado con una mayor fotosíntesis de las plantas (Capítulo II), debido a que el llenado de la baya depende, primordialmente, de la disponibilidad de fotoasimilados (Tromp y Wertheim, 2005).

Si bien es sabido que la carga frutal y el tamaño de fruto se relacionan inversamente, puesto que un aumento en el número de frutos causa una reducción en el peso promedio de los mismos (Reginato et al., 2007; Reginato et al., 2008; Ojer et al., 2009; Tapia, 2011; Beyá, 2014), en este ensayo no se encontró una relación significativa entre estas variables, al igual

que se ha reportado en manzano (Mesa, 2007) y duraznero (Álvarez-Fernández et al., 2003). Al respecto, se ha señalado que la relación entre el número de frutos y su tamaño promedio es variable, debido a que está influenciada por el tamaño de la planta, el vigor y las condiciones de crecimiento (Volz, 1988; Elfving y Schechter, 1993). No obstante, estos factores no pudieron influir en los resultados porque eran similares en todas las plantas al momento de iniciar la cosecha. Sumado a ello, el tamaño promedio de fruto se vio más influenciado por la concentración foliar de clorofila que por la carga frutal, lo cual quedó evidenciado por la contribución (Cp Mallows) de estas variables en el modelo estimado, indicando que las diferencias observadas entre tratamientos, para el tamaño de fruto, no se debieron a un efecto de la carga frutal presente sino, más bien, al efecto de los tratamientos sobre la clorosis férrica de las plantas.

De esta manera, el hecho de que la aplicación de Fe-EDDHA provocara un aumento en el número de frutos, sin disminuir el tamaño de los mismos, se puede atribuir a que las plantas utilizadas eran jóvenes, es decir, que no habían alcanzado la etapa de plena producción y, por lo tanto, existía una mayor proporción de materia seca ubicada en la parte vegetativa. Es por ello que, a pesar de que el nivel de carga aumentó, no logró afectar el tamaño de los frutos, dada la alta relación fuente:sumidero, típica de las plantas jóvenes (Webster, 2005). Dicho de otra forma, la oferta de fotoasimilados, proveniente de las hojas, alcanzó para expresar el máximo potencial de tamaño de los frutos, sin ser los carbohidratos una limitante para su crecimiento. Esto se encuentra respaldado, a su vez, por la regresión múltiple que demostró que el tamaño promedio de fruto estuvo más influenciado por el tamaño de la planta ( $PAR_i$ ), o bien la fuente, que por la carga frutal, o bien los sumideros, evidenciado por la contribución (Cp Mallows) de estas variables en el modelo estimado.

En el caso de la asociación con gramíneas, ambas especies aumentaron la producción debido, únicamente, a una mayor carga frutal, puesto que el tamaño de fruto no se diferenció del testigo. Así, a diferencia de lo ocurrido con la aplicación de Fe-EDDHA, es posible que el peso de fruto sí se viera afectado por el mayor número de sumideros presentes, dado que las plantas bajo asociación estaban expuestas a la competencia por agua ejercida por las gramíneas (Capítulo III), lo que posiblemente ocasionó una menor entrada de agua en las células, afectando su expansión (Gough, 1994) y conduciendo, así, a un menor tamaño de fruto.

Por su parte, las plantas tratadas con sangre bovina no se diferenciaron del testigo en carga frutal ni tamaño de fruto y, por ende, tampoco en producción y productividad. Este resultado es esperable considerando que la aplicación de sangre bovina resultó ineficaz en la corrección de la clorosis férrica de las plantas, probablemente porque se utilizó una dosis de aplicación mayor a la recomendada en la literatura para otros frutales (Tagliavini et al., 2000; López-Rayó et al., 2015). Por lo tanto, los resultados posiblemente sean consecuencia de un exceso temporal de nitrógeno en las plantas, lo que no sólo está corroborado por el análisis foliar (Capítulo III) sino que, a su vez, se encuentra acorde a lo observado en naranjo (Cantarella et al., 2003), tomate (Parisi et al., 2004), zapallo (Zotarelli et al., 2008) y melón (Cabello et al., 2009), expuestos a una elevada dosis de fertilización nitrogenada. En este sentido, se ha señalado que el arándano es una especie muy sensible a la fertilización excesiva (Buzeta, 1997; Hanson, 2006), por lo cual altas tasas de nitrógeno reducen su rendimiento (Eck, 1977; Cummings, 1978; Smolarz y Mercik, 1989), en



particular cuando se trata de plantas jóvenes (Buzeta, 1997), como las utilizadas en este ensayo. Por otro lado, se ha demostrado que, con una adecuada aplicación de nitrógeno, puede incrementarse no sólo el rendimiento sino la calidad de la fruta (Davenport, 1996; Percival y Privé, 2000; Escalante-Estrada, 2007; Quezada et al., 2007), de manera que, en una futura investigación, la sangre bovina debería evaluarse nuevamente, utilizando otras dosis y/o frecuencias de aplicación, con el fin de ajustar la condición óptima para el arándano ‘Emerald’.

Si bien Álvarez-Fernández et al. (2006) afirman que todo tipo de fertilización férrica, realizada en árboles frutales carentes de Fe, aumenta notablemente el rendimiento de fruta al año siguiente de la aplicación, en este ensayo se observaron marcadas diferencias de rendimiento el mismo año en que se probaron los tratamientos, lo cual resulta interesante. Sin embargo, se descarta la opción de que la respuesta observada haya sido por algún factor distinto del Fe puesto que, al inicio de la cosecha, ya existían claras diferencias entre tratamientos en cuanto a concentración foliar de clorofila (Capítulo II), demostrando que ya había cierta corrección del déficit de Fe y corroborando, así, la idea anterior. Al respecto, dado que la inducción floral del arándano se produce, en el Hemisferio Sur, en diciembre, sobre los brotes de primavera, y en abril, sobre las cañas de verano (Pescie et al., 2011), cuando comenzó la aplicación de los tratamientos ya se había completado dicho proceso, al igual que la diferenciación floral, por lo cual es probable que el aumento de rendimiento se haya debido, más bien, al efecto de los tratamientos sobre la caída poscujaje de frutos y el llenado de las bayas.

Respecto a la curva de distribución de calibre, las plantas con mayor grado de clorosis férrica, es decir las testigo y aquellas tratadas con sangre bovina, tuvieron un mayor porcentaje de frutos de menor calibre (12 a 14 mm) respecto de los demás tratamientos, mientras que las plantas tratadas con Fe-EDDHA se diferenciaron del resto por alcanzar un mayor porcentaje de frutos de 14 a 16 mm. De esta manera, se observó un efecto negativo del déficit de Fe en el calibre de los frutos, el cual ya ha sido reportado en duraznero (Yoshikawa, 1988; Álvarez-Fernández et al., 2006) y naranjo (Pestana et al.; 2002). En este caso, la disminución de calibre causada por el déficit de Fe, no fue suficiente como para que los frutos alcanzaran el calibre de descarte, es decir, menor a 10 mm (Beaudry, 1992; Rebolledo, 2013), pero sí influyó en la producción total de las plantas, tal como se explicó anteriormente. Como consecuencia, se hace primordial controlar el déficit de Fe en los huertos de arándanos, considerando el precio diferencial que paga el mercado por la fruta de mayor calibre (Gómez de Segura, 2015).

En este punto, es importante mencionar que la aplicación de sangre bovina pudo afectar el calibre de los frutos no sólo por no corregir la clorosis férrica sino también por mayor longitud de brotes de primavera que ocasionó en las plantas (Capítulo III), lo cual pudo representar una fuerte competencia para el llenado de los frutos. En este sentido, si bien las bayas son el principal sumidero de fotoasimilados en una planta de arándano (Coombe, 1988), ha sido señalado que si el crecimiento de los brotes jóvenes es muy intenso durante el crecimiento de los frutos, éste último puede resultar severamente afectado (Ho, 1988; Pavel y Dejong, 1993; Marcelis, 1996).

Ing. Agr. Gómez de Segura, J.L. 2015, ago. Precio del arándano alto en el mercado según calibre. [Entrevista personal]. Catemu, San Felipe, “Los Fundos-Catemu SA”.

En cuanto a los parámetros de calidad de baya, es decir sólidos solubles, pH, acidez titulable y relación SS/acidez, todos los tratamientos estuvieron dentro del rango adecuado que señala Beaudry (1992), y no se diferenciaron entre ellos. Considerando que la fruta era cosechada cuando alcanzaba un color completamente azul, se puede indagar que el déficit de Fe no afecta el nivel de los parámetros que determinan la maduración de la fruta a cosecha, lo cual se ha reportado anteriormente para otras especies frutales (Pestana et al., 2002; Álvarez-Fernández et al., 2003; Bañulz et al., 2003; Álvarez-Fernández et al., 2011). Esto conduce a pensar que una planta con déficit de Fe se adapta ajustando su producción, al disminuir el número de frutos, pero garantizando que los frutos remanentes alcanzarán la madurez. Dicho de otra manera, plantas carentes de Fe, con una menor capacidad fotosintética, ajustan su carga frutal, mediante las caídas poscosecha, hasta alcanzar una producción que sean capaces de mantener y llevar a término. En este sentido, ha sido señalado que tanto las condiciones nutricionales desfavorables como la escasez de carbohidratos disponibles, activan la síntesis de las hormonas implicadas en el proceso de abscisión de la fruta, es decir, el ácido abscísico y el etileno (Talon et al., 1997; Gómez-Cadenas et al., 2000). Sin embargo, son necesarios estudios más detallados para poder corroborar o rechazar la hipótesis mencionada.

Por otro lado, sí se observaron diferencias entre tratamientos en la curva de distribución de cosecha, la cual reflejó que, en las plantas bajo asociación con gramíneas, se cosechó un mayor porcentaje de frutos en las dos primeras pasadas, de lo que se deduce que una cierta proporción de los frutos totales maduró con anterioridad. Esto tiene sentido si se considera que 'Emerald' es una variedad capaz de mantener la fruta madura en la planta durante 7 a 10 días antes de comenzar a caer (Feippe, 2013), de manera que una proporción de la fruta proveniente de la asociación con gramíneas pudo madurar unos días antes que la fruta del resto de los tratamientos, y permanecer en la planta hasta que fue cosechada. Al respecto, se ha señalado que el porcentaje de azúcares totales de la baya de arándano aumenta durante nueve días después del cambio de color, y luego se estabiliza (Retamales y Hancock, 2012c), lo que justificaría que las gramíneas no se diferenciaron del resto de los tratamientos en la concentración de sólidos solubles, a pesar de haber madurado antes.

Reafirma esta hipótesis la diferencia encontrada en la firmeza de la fruta, parámetro considerado un buen indicador de madurez, puesto que está vinculado con los diferentes estados durante el proceso de maduración (Valero y Ruíz, 2000, citados por Ospina et al., 2007). Se observó que la fruta de las plantas testigo y de aquellas tratadas con sangre bovina y con Fe-EDDHA tuvieron los mayores valores de firmeza, mientras que la asociación con ambas gramíneas evidenció los menores valores. Por lo tanto, si bien al momento de cosecha la fruta de todos los tratamientos estaba madura, aquella proveniente de la asociación con gramíneas maduró antes, por lo cual su firmeza era menor cuando se la cosechó; sin embargo, es importante mencionar que todos los tratamientos tuvieron valores dentro del rango adecuado reportado en la literatura (Beaudry, 1992). En este sentido, la firmeza depende del estado de la fruta al momento de la recolección (Valero y Ruíz, 2000, citados por Ospina et al., 2007), siendo máxima cuando la baya se encuentra verde, y disminuyendo, luego, a medida que la baya madura, es decir, que desarrolla su color característico (Zapata et al., 2010; Feippe, 2013).

Por lo tanto, la asociación del arándano con especies gramíneas representaría un beneficio económico, debido a que esa proporción de fruta cosechada en fechas más tempranas tiene un mejor precio en el mercado, representando un aumento relevante en la rentabilidad del cultivo (Bustos, 2008; Gómez de Segura, 2015). Es importante mencionar que este desplazamiento de la curva de cosecha, en las plantas asociadas con especies gramíneas, no pudo deberse a la corrección de la clorosis férrica, puesto que la aplicación de Fe-EDDHA también aumentó la concentración foliar de clorofila (Capítulo II) y, sin embargo, su distribución de cosecha fue similar a la del testigo. Por lo tanto, es probable que esto se haya debido, más bien, al hecho de que las plantas bajo asociación estaban expuestas a una competencia por el agua, ejercida por las especies gramíneas (Capítulo III). Al respecto, se ha observado en otros estudios que cierta falta de agua acelera la acumulación de azúcares bayas de vid y, por lo tanto, adelanta la maduración (Matthews y Anderson, 1988; Castellarin et al.; 2007a; Van Leeuwen et al., 2009), lo que está asociado, por un lado, a una mayor síntesis de ácido abscísico (Jeong et al., 2004; Deluc et al., 2009;) y etileno (Apelbaum y Yang, 1981; Morgan et al., 1990) y, por el otro, a una mayor expresión de los genes involucrados en la síntesis de antocianinas (Jeong et al., 2004; Castellarin et al., 2007b; Deluc et al., 2009).

Por su parte, el porcentaje de materia seca de la baya, predictor relevante a la hora de definir mercados para la fruta cosechada (Gough, 1994; Feippe, 2013), tampoco evidenció diferencias entre los tratamientos. Según Gough (1994), la fruta con un alto contenido de materia seca es capaz de viajar hacia mercados distantes y conservar sus condiciones organolépticas. Debido a que todos los tratamientos tuvieron un porcentaje de materia seca que está dentro del rango adecuado señalado por Beaudry (1992), el déficit de Fe no influiría en la capacidad de la fruta para ser transportada a mercados lejanos. Sin embargo, es necesario un estudio más específico, que involucre una serie de mediciones de calidad en poscosecha, para poder hacer esta aseveración.

Cabe destacar que, al estandarizar la producción de las plantas por su radiación interceptada, se corrige el efecto del tamaño de las plantas y, entonces, el valor de producción pasa a un valor de productividad, el cual es un término de eficiencia productiva. La diferencia de productividad observada entre los tratamientos sigue la misma tendencia que la producción. De esta manera, el déficit de Fe afecta negativamente la productividad del arándano ‘Emerald’, por lo cual debe prestarse una particular atención a corregir, al menos en parte, este problema nutricional, con el fin de alcanzar una productividad alta en los huertos de arándanos.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo este estudio, se concluye que:

La clorosis férrica reduce la productividad en arándanos 'Emerald', probablemente por una disminución de la carga frutal.

La clorosis férrica no afecta significativamente el tamaño y la calidad de bayas en arándanos 'Emerald'.

La aplicación de quelato Fe-EDDHA aumenta la carga frutal en arándanos 'Emerald', sin afectar significativamente el tamaño y la calidad de las bayas.

La aplicación de un formulado a base de sangre bovina no afecta las variables productivas en el arándano 'Emerald', así como tampoco modifica la calidad de las bayas.

La asociación con las especies gramíneas *Festuca rubra* y *Poa pratensis* aumenta la carga frutal en arándanos 'Emerald', sin afectar el tamaño y la calidad de las bayas.

La asociación con *Festuca rubra* aumenta la producción en arándanos 'Emerald'.

La asociación con las gramíneas *Festuca rubra* y *Poa pratensis* adelanta la maduración de la fruta en el arándano 'Emerald'.

**LITERATURA CITADA**

Akaike, H. 1974, dec. A new look at the statistical identification model. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 19(6): 716-723.

Álvarez-Fernández, A.; J. Abadía and A. Abadía. 2006. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. (cap. 4, pp. 85-101). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Álvarez-Fernández, A.; J.C. Melgar; J. Abadía A. and Abadía. 2011, jun. Effects of moderate and severe iron deficiency chlorosis on fruit yield, appearance and composition in pear (*Pyrus communis* L.) and peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Environmental and Experimental Botany*, 71(2): 280-286.

Álvarez-Fernández, A.; P. Paniagua; J. Abadía A. and Abadía. 2003, sep. Effects of Fe deficiency-chlorosis on yield and fruit quality in peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(19): 5738-5744.

Apelbaum, A. and S.F. Yang. 1981, sep. Biosynthesis of stress ethylene induced by water deficit. *Plant Physiology*, 68(3): 594-596.

Bañuls, J.; A. Quiñones; B. Martín; E. Primo-Millo and F. Legaz. 2003. Effects of the frequency of iron chelate supply by fertigation on iron chlorosis in citrus. *Journal of Plant Nutrition*, 26(10-11): 1985-1996.

Bavaresco, L; S. Civardi; S. Pezzutto; S. Vezzulli and F. Ferrari. 2005. Grape production, technological parameters, and stilbenic compounds as affected by lime-induced chlorosis. *Vitis*, 44(2): 63-65.

Beaudry, R. 1992. Blueberry quality characteristics and how they can be optimized. *Annual Report of the Michigan State Horticultural Society*, 122: 140-145.

Bertamini, M. and N. Nedunchezian. 2005. Grapevine growth and physiological responses to iron deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 28(5): 737-749.

Beyá, V. 2014. Efecto de la alternancia productiva en la fenología y algunas variables productivas en olivo (*Olea europaea* L.) 'Frantoio' en la Región Metropolitana. Tesis Magíster en Ciencias Agropecuarias, mención Producción Frutícola. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 55h.

Briat, J.F.; C. Dubos and F. Gaymard. 2015, jan. Iron nutrition, biomass production and plant product quality. *Trends in Plant Science*, 20(1): 33-40.

Brown, J.C. and V.D. Jolley. 1989, sep. Plant metabolic responses to Fe-deficiency stress. *BioScience*, 39(8): 546-551.

Bustos, M.F. 2008. Efecto de la aplicación de cianamida hidrogenada sobre el período de floración y cosecha de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) variedad O'Neal. Taller de Licenciatura. Quillota, Chile: Facultad de Agronomía, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso. 60h.

Buwalda, J.G. and G.S. Smith. 1990, mar. Effects of partial defoliation at various stages of the growing season on fruit yields, root growth and return bloom of kiwifruit vines. *Scientia Horticulturae*, 42(1-2): 29-44.

Buzeta, A. 1997. Arándano. (cap 2; pp. 52-89). En su: Chile, Berries para el 2000. Fundación Chile. Santiago, Chile: Departamento Agroindustrial, Fundación Chile. 135p.

Cabello, M.J.; M.T. Castellanos; F. Romojarob; C. Martínez-Madrid and F. Ribasa. 2009, may. Yield and quality of melon grown under different irrigation and nitrogen rates. *Agricultural Water Management*, 96(5): 866-874.

Cantarella, H.; D. Mattos; J.A. Quaggio and A.T. Rigolin. 2003, nov. Fruit yield of Valencia sweet orange fertilized with different N sources and the loss of applied N. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 67(3): 215-223.

Castellarin, S.D.; A. Pfeiffer; P. Sivilotti; M. Degan; E. Peterlunger and G. Di Gaspero. 2007b, nov. Transcriptional regulation of anthocyanin biosynthesis in ripening fruits of grapevine under seasonal water deficit. *Plant, Cell and Environment*, 30(11): 1381-1399.

Castellarin, S.D.; M.A. Matthews; G. Di Gaspero and G.A. Gambetta. 2007a, dec. Water deficits accelerate ripening and induce changes in gene expression regulating flavonoid biosynthesis in grape berries. *Planta*, 227(1): 101-112.

Chen, L.S.; B.R. Smith and L. Cheng. 2004, sep. CO<sub>2</sub> assimilation, photosynthetic enzymes and carbohydrates of 'Concord' grape leaves in response to iron supply. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 129(5): 738-744.

Coombe, B.G. 1988, jul. The grape berry as a sink. *Acta Horticulturae*, 239: 149-158.

Cummings, G.A. 1978. Plant and soil effects of fertilizer and lime applied to highbush blueberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 103(3): 302-305.

Davenport, J.R. 1996, nov. The effect of nitrogen fertilizer rates and timing on cranberry yield and fruit quality. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 121(6): 1089-1094.

Deluc, L.G.; D.R. Quilici; A. Decendit; J. Grimplet; M.D. Wheatley; K.A. Schlauch; J.M. Mérrillon; J.C. Cushman and G.R. Cramer. 2009, dec. Water deficit alters differentially metabolic pathways affecting important flavor and quality traits in grape berries of Cabernet Sauvignon and Chardonnay. *BMC Genomics*, 10(1): 212-245.

- Di Rienzo, J.A.; A.W. Guzmán and F. Casanoves. 2002, jun. A multiple comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree obtained by average linkage of the matrix of euclidean distances between treatment means. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 7(2): 129-142.
- Di Rienzo, J.A.; F. Casanoves; M.G. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada y C.W. Robledo. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.
- Eck, P. 1977. Nitrogen requirement of the highbush blueberry, *Vaccinium corymbosum* L. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 102(6): 816-818.
- Elfving, D.C. and I. Schechter. 1993, aug. Fruit count, fruit weight and yield relationships in 'Delicious' apple trees on nine rootstock. *Horticultural Science*, 28(8): 793-795.
- Elkins, R.B.; R.D. Meyer and C.D. Adams. 2002, dec. Use of urea-sulfuric acid and iron chelate to mitigate iron chlorosis in pear. *Acta Horticulturae*, 596: 671-676.
- Escalante-Estrada, L.E.; Y. I. Escalante-Estrada y C. Linzaga-Elizald. 2007. La fertilización nitrogenada en el rendimiento del girasol en México. *Agronomía Costarricense*, 31(2): 95-100.
- Feippe, M.A. 2013. Tecnologías para aumentar la eficiencia en cosecha-poscosecha de arándanos. (Serie Técnica N°203), Estación Experimental Las Brujas, Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA). Osorno, Chile: INIA. 96p.
- Fernández-Escobar, R.; D. Barranco and M. Benlloch. 1993, mar. Overcoming iron chlorosis in olive and peach trees using a low-pressure trunk-injection method. *Horticultural Science*, 28(3):192-194.
- Flore, J.A. and D.R. Layne. 1999, oct. Photoassimilate production and distribution in cherry. *Horticultural Science*, 34(6): 1015-1019.
- Gómez-Cadenas, A.; J. Mehouchi; F.R. Tadeo; E. Primo-Millo and M. Talon. 2000, mar. Hormonal regulation of fruitlet abscission induced by carbohydrate shortage in citrus. *Planta*, 210(4): 636-643.
- Gough, R.E. 1994. Harvesting. (cap. 14; pp. 165-172). In: *The Highbush Blueberry and Its Management*. New York, USA: Food Products Press. 272p.
- Hanson, E. 2006. Nitrogen fertilization of highbush blueberry. *Acta Horticulturae*, 715: 347-351.
- Hirzel, J. (Ed.). 2014. El suelo como fuente nutricional. (cap. 2, pp. 69-109). En su: *Diagnóstico nutricional y principios de fertilización en frutales y vides*. 2a. ed., aum. y corr. Chillán, Chile: INIA Quilamapu. 322p. (Colección Libros INIA N°31).

Ho, L.C. 1988, jun. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 39(1): 355-378.

Iqbal, N; A. Trivellini; A. Masood; A. Ferrante and N. Khan. 2013, dec. Current understanding on ethylene signaling in plants: The influence of nutrient availability. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73: 128-138.

Jeong, S.T.; N. Goto-Yamamoto; S. Kobayashi and M. Esaka. 2004, aug. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Science*, 167(2): 247-252.

Kader, A.A. 1999, ago. Fruit maturity, ripening and quality relationships. *Acta Horticulturae*, 485: 203-208.

Lipe, J.A. and P.W. Morgan. 1973, may. Ethylene, a regulator of young fruit abscission. *Plant Physiology*, 51(5): 949-953.

López-Rayó, S.; M. Di Foggia; G. Bombai; F. Yunta; E. Rodrigues Moreira; G. Filippini; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2015, feb. Blood-derived compounds can efficiently prevent iron deficiency in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1): 135-142.

Marcelis, L.F. 1996. Sink strength as a determinant of dry matter partitioning in the whole plant. *Journal of Experimental Botany*, 47(Special Issue): 1281-1291.

Matthews, M.A. and M.M. Anderson. 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(4): 313-320.

Mehouachi, J.; D. Serna; S. Zaragoza; M. Agusti; M. Talon and E. Primo-Millo. 1995, jun. Defoliation increases fruit abscission and reduces carbohydrate levels in developing fruits and woody tissues of *Citrus unshiu*. *Plant Science*, 107(2): 189-197.

Mehouachi, J.; D.J. Iglesias; F.R. Tadeo; M. Agusti; E. Primo-Millo and M. Talon. 2000. The role of leaves in citrus fruitlet abscission: effects on endogenous gibberellin levels and carbohydrate content. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 75(1): 79-85.

Mengel, K.; E. Kirkby; H. Kosegarten and T. Appel (Eds.). 2001. The Soil as a Plant Nutrient Medium (cap. 2, pp. 15-110). In: Principles of plant nutrition. 5a. ed. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 849p.

Mesa, K.F. 2007. Efecto de la interceptación de la radiación solar y carga frutal sobre la productividad y peso de fruto en manzanos variedad Royal Gala. Memoria Ingeniera Agrónoma. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 32h.



Morgan, P.W.; C.J. He; J.A. De Greef and M.P. De Proft. 1990, dec. Does water deficit stress promote ethylene synthesis by intact plants? *Plant Physiology*, 94(4): 1616-1624.

Ojer, M.; G. Reginato y F. Vallejos. 2009. Manejo de la carga frutal y productividad de duraznos conserveros. *Revista FCA UNCuyo*, 16(1): 65-76.

Ospina, D.M.; H.J. Ciro y I.D. Aristizábal. 2007, dic. Determinación de la fuerza de la fractura superficial y fuerza de firmeza en frutas de lulo (*Solanum quitoense* x *Solanum hirtum*). *Revista de la Facultad Nacional de Agricultura de Medellín*, 60(2): 4163-4178.

Parisi, M.; I. Giordano; A. Pentangelo; B. D'Onofrio and G. Villari. 2004, jun. Effects of different levels of nitrogen fertilization on yield and fruit quality in processing tomato. *Acta Horticulturae*, 700: 129-132.

Pastor, M.; J. Castro y J. Hidalgo. 2001, may. Corrección de la clorosis férrica en olivar en zonas afectadas. *Vida rural*, 129: 42-44.

Pavel, E.W. and T.M. Dejong. 1993, nov. Source-and sink-limited growth periods of developing fruits indicated by relative growth rate analysis. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 118(6): 820-824.

Percival, D.C. and J.P. Privé. 2000, dec. Nitrogen formulation influences plant nutrition and yield components of lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*). *Acta Horticulturae*, 574: 347-353.

Pescie, M.A. and C.G. Lopez. 2007, ago. Inducción floral en arándano alto del sur (*Vaccinium corymbosum*), var. O'Neal. *Revista de Investigaciones Agropecuarias*, 36(2): 97-107.

Pestana M.; A. De Varennes and E. Araújo. 2003, jan. Agriculture Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: a review. *Food, Agriculture and Environment*, 1(1): 46-51.

Pestana, M.; P.J. Correia; M.G. Miguel; A. Varennes; J. Abadía and E.A. Faria. 2002. Foliar treatments as a strategy to control iron chlorosis in orange trees. *Acta Horticulturae*, 594: 223-228.

Pinheiro, J.; D. Bates; S. DebRoy; D. Sarkar and R Core Team. 2014. Nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-117, CRAN-Package. Auckland, New Zealand.

Quezada, C.; I. Vidal; L. Lemus y H. Sánchez. 2007. Efecto de la fertilización nitrogenada sobre rendimiento y calidad de fruta en frambueso (*Rubus idaeus* L.) bajo dos programas de fertirrigación. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 7(3): 1-15.

Razeto, B. 2006. Floración, desarrollo del fruto y raleo. (cap. 3, pp. 145-201). En su: Para entender la Fruticultura. 4a. ed., aum. y corr. Santiago, Chile: Salesianos S.A. 518p.

Rebolledo, C. 2013. Poda y polinización en arándano. (cap. 3; pp. 23-30). En: Undurraga, P. y S. Vargas (eds.). Manual del arándano (Bol. INIA N°263). Chillán, Chile: CRI Quilamapu. 120p.

Reginato, G.H.; T.L. Robinson and T.M. Yoon. 2008. Improving cherry fruit size of self-fertile cultivars in NY orchards. *New York Fruit Quarterly*, 16(3): 27-30.

Reginato, G.H.; T.L. Robinson and V. García de Cortázar. 2007, apr. Predicted crop value for nectarines and cling peaches of different harvest season as a function of crop load. *Horticultural Science*, 42(2): 239-245.

Retamales, J. and F. Hancock. 2012a. Nutrition. (cap. 5, pp. 103-142). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Retamales, J. and F. Hancock. 2012b. Light, photosynthesis, quality and yield in blueberries. (cap. 4, pp. 75-101). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Retamales, J. and F. Hancock. 2012c. Pre and postharvest management of fruit quality. (cap. 9, pp. 267-307). In: Blueberries. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Rombolà, A.D. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. (cap. 3, pp. 61-83). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

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.

Sauz, M.; L. Heras and L. Montañéz. 1992. Relationship between yield and leaf nutrient contents in peach trees: early nutritional status diagnosis. *Journal of Plant Nutrition*, 15(9): 1457-1466.

Schwarz, G. 1978, mar. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6(2):461-464.

Siefker, J.H. and J.F. Hancock. 1986, jul. Yield component interactions in cultivars of the highbush blueberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 111(4): 606-608.

Smolarz, K. and S. Mercik. 1989. Growth and yield of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) cv. Bluecrop in relation to the level of nitrogen fertilizer. *Acta Horticulturae*, 241: 171-174.

Sozzi, G.O. (Ed.). 2007. Tecnología de poscosecha y su influencia sobre la calidad de los frutos. (cap. 22; pp. 771-805). En: Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento. Buenos Aires, Argentina: Agronomía, UBA. 807p.

Tagliavini, M. and A.D. Rombolà. 2001, oct. Iron deficiency and chlorosis in orchard and vineyard ecosystems. *European Journal of Agronomy*, 15(2): 71-92.

Tagliavini, M.; J. Abadía; A.D. Rombolà; A. Abadía; C. Tsipouridis and B. Marangoni. 2000. Agronomic means for the control of iron chlorosis in deciduous fruit trees. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2007-2022.

Talon, M.; F.R. Tadeo; W. Ben-Cheikh; A. Gómez-Cadenas; J. Mehouchi; J. Pérez-Botella and E. Primo-Millo. 1997, apr. Hormonal regulation of fruit set and abscission in citrus: classical concepts and new evidence. *Acta Horticulturae*, 463: 209-217.

Tapia, F.I. 2011. Efecto de la carga frutal y época de cosecha sobre la productividad y calidad del fruto en ciruelo europeo variedad D'Agen. Memoria Ingeniera Agrónoma. Santiago, Chile: Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile. 38h.

Tromp, J. and S. Wertheim. 2005. Fruit growth and development. (cap. 18; pp. 240-266). In: Tromp, J.; A.D. Webster and S.J. Wertheim (eds.). *Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers. 400p.

Van Leeuwen, C.; O. Tregoat; X. Choné; B. Bois; D. Pernet and J.P. Gaudillère. 2009. Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red bordeaux wine: How can it be assessed for vineyard management purposes? *International Journal of Vine and Wine Science*, 43(3): 121-134.

Volz, R.K. 1988. Regulation and estimation of crop load on 'Gala' apple trees. *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, 16(1): 47-53.

Webster, A.D. 2005. Shoot growth. (cap. 11; pp. 120-135). In: Tromp, J.; A.D. Webster and S.J. Wertheim (eds.). *Fundamentals of Temperate Zone Tree Fruit Production*. Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers. 400p.

Yang Y. 2005, dec. Can the strengths of AIC and BIC be shared? A conflict between model identification and regression estimation. *Biometrika*, 92(4): 937-950.

Yoshikawa, F.T. 1988. Correcting iron deficiency of peach trees. *Journal of Plant Nutrition*, 11(6-11): 1387-1396.

Yoshikawa, F.T.; W.O. Reil and L.K. Stromberg. 1982, mar-apr. Trunk injection corrects iron deficiency in plum trees. *California Agriculture*, 36(2): 13.

Zaiter, H.Z.; I. Saad and M. Nimah. 1993. Yield of iron-sprayed and non-sprayed strawberry cultivars grown on high pH calcareous soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 24(11-12): 1421-1436.

Zapata, L.M.; A.D. Malleret; C.F. Quinteros; C.E. Lesa; C.O. Vuarant; M.F. Rivadeneira, and J.A. Gerard. 2010, nov. Estudio sobre cambios de la firmeza de bayas de arándanos durante su maduración. *Ciencia, Docencia Y Tecnología*, 41: 159-171.

Zelitch, I. 1982, nov. The close relationship between net photosynthesis and crop yield. *BioScience*, 32(10): 796-802.

Zotarelli, L.; M.D. Dukes; J.M. Scholberg; T. Hanselman; K.L Femminella and R. Muñoz-Carpena. 2008, mar. Nitrogen and water use efficiency of zucchini squash for a plastic mulch bed system on a sandy soil. *Scientia Horticulturae*, 116(1): 8-16.

## APÉNDICE III

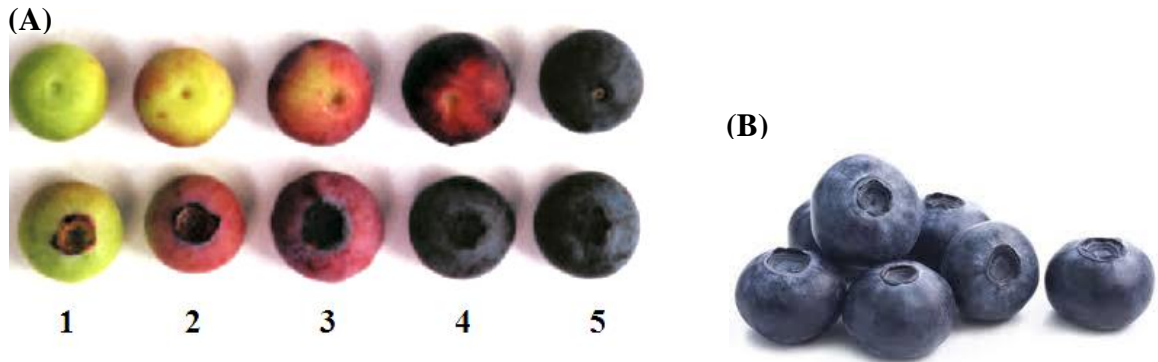


Foto 5. (A) Evolución del color de piel en bayas de arándano 'Emerald' según su estado de maduración o desarrollo. (1): baya completamente inmadura; (5): baya completamente madura. (B) Bayas con el estado de madurez adecuado para ser cosechadas.



Foto 6. Caja plástica con tapa, de 125 g, para arándano.

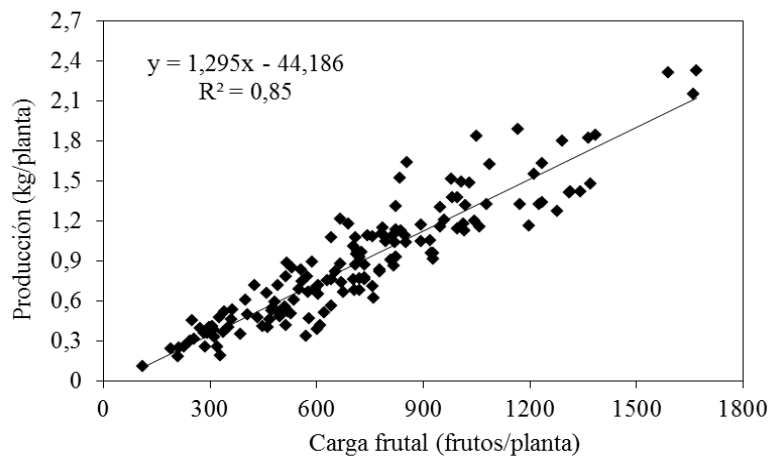


Figura 8. Producción, expresada en kg/planta, en función de la carga frutal, expresada en frutos/planta, en plantas de arándano 'Emerald' de 4 años ( $p < 0,0001$ ).  $n = 150$ .

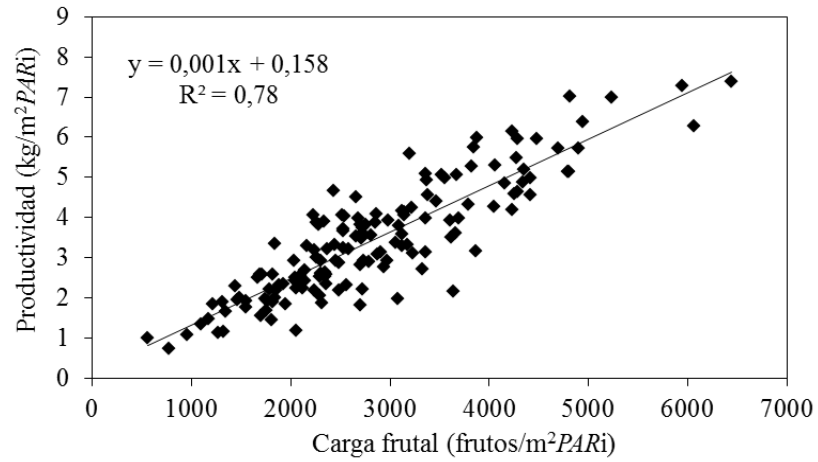


Figura 9. Productividad, expresada en  $\text{kg/m}^2\text{PAR}_i$ , en función de la carga frutal, expresada en  $\text{frutos/m}^2\text{PAR}_i$ , en plantas de arándano 'Emerald' de 4 años ( $p < 0,0001$ ).  $n = 150$ .

## CAPÍTULO V: EFECTO DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE DEL DÉFICIT DE HIERRO EN EL CONTENIDO, CONCENTRACIÓN Y COMPOSICIÓN FENÓLICA DE BAYAS EN ARÁNDANOS ‘EMERALD’

### RESUMEN

El déficit de hierro es un problema nutricional común en suelos calcáreos y alcalinos, resultando particularmente perjudicial para las especies calcífugas, como el arándano alto, el cual ve afectadas su longevidad y productividad, crecimiento de raíces y brotes, y rendimiento y calidad de baya. Las técnicas de manejo tradicionales se basan en aplicaciones repetidas de quelatos de hierro y/o ácidos fuertes, las cuales implican altos costos, y riesgos ambientales y de salud. Como consecuencia, se evaluaron dos técnicas de manejo sostenible: (1) aplicación de un formulado a base de sangre bovina y (2) asociación del cultivo con especies gramíneas, siendo elegidas *Festuca rubra rubra* y *Poa pratensis*.

Con el objetivo de caracterizar el contenido, concentración y composición fenólica de arándanos ‘Emerald’, y evaluar el efecto del déficit de hierro y de las técnicas de manejo sostenible sobre estas características, se utilizó un diseño en cuadrado latino, con 5 tratamientos (testigo, quelato Fe-EDDHA, sangre bovina, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) y 5 repeticiones. Se evaluó concentración foliar de clorofila, carga frutal y peso de frutos, relación piel/pulpa, intensidad colorante, contenido y concentración de fenoles, antocianos y taninos, cromatograma de antocianinas y fenoles de bajo peso molecular.

Se encontró que la piel del arándano ‘Emerald’ posee 9 antocianinas, siendo las principales la delfinidina 3-galactósido, malvidina 3-galactósido, cianidina 3-galactósido y delfinidina 3-arabinósido. Entre los fenoles de bajo peso molecular (BPM), predominan el ácido vainillínico, el ácido cafeico *cis*, la astilbina y la epicatequina. Por otro lado, se observó que el contenido fenólico y antociánico, tanto total como individual, depende directamente de la cantidad de piel, es decir, del peso de fruto, por lo cual el déficit de hierro disminuye este contenido, sin afectar la concentración, y tampoco la composición de la piel. Respecto de los tratamientos, dado que la aplicación de sangre bovina no modificó el peso de fruto, tampoco afectó el contenido total ni individual de ningún compuesto evaluado. Por otro lado, la asociación con gramíneas incrementó el peso de fruto, por lo cual evidenció un mayor contenido de fenoles y antocianos, tanto total como individual, pero sin afectar su concentración, sugiriendo que el hierro cumple un papel clave en la ruta de síntesis de estos compuestos, al evitar su dilución.

**Palabras clave:** antocianinas, asociación con gramíneas, clorosis férrica, fenoles de bajo peso molecular, sangre bovina, *Vaccinium corymbosum*

## ABSTRACT

Iron deficiency is a common nutritional problem in calcareous and alkaline soils, being particularly harmful to calcifuges species such as highbush blueberry, being affected its longevity and productivity, root and shoot growth, and berry yield and quality. Traditional management techniques are based on repeated applications of iron chelates and strong acids, which implies high costs and environmental and health risks. As a consequence, two sustainable management techniques were evaluated: (1) application of a bovine blood meal compound and (2) intercropping with graminaceous species, being selected *Festuca rubra rubra* and *Poa pratensis*.

In order to to characterize phenolic content, concentration and composition of 'Emerald' blueberries, and evaluate the effect of iron deficiency and sustainable management techniques on these features, a latin square design was used, with 5 treatments (control, Fe-EDDHA chelate, bovine blood meal, *Festuca rubra rubra*, *Poa pratensis*) and 5 replicates. Leaf chlorophyll concentration, fruit set and fruit weight, skin/pulp, color intensity, content and concentration of phenols, anthocyanins and tannins, and chromatographic profile of anthocyanins and low molecular weight phenols were evaluated.

It was found that skin of 'Emerald' blueberry has 9 anthocyanins, being more abundant delphinidin 3-galactoside, malvidine 3-galactoside, cyanidin 3-galactoside and delphinidin 3-arabinoside. Among low molecular weight phenols, predominate vanillic acid, caffeic *cis* acid, astilbin and epicatechin. Furthermore, it was observed that, both total and individual, content of phenols and anthocyanins is directly related to fruit weight, so iron deficiency reduces this content, without affecting skin concentration or composition.

Since the application of bovine blood meal did not change fruit weight, neither affected total or individual content of any compound evaluated. On the other hand, intercropping with graminaceous increased fruit weight, so they showed higher, both total and individual, content of phenols and anthocyanins, but without affecting its concentration, suggesting that iron plays a key role in the synthesis pathway of these compounds, to avoid dilution.

**Keywords:** anthocyanins, intercropping with graminaceous, iron chlorosis, low molecular weight phenols, bovine blood meal, *Vaccinium corymbosum*



## INTRODUCCIÓN

El consumo mundial del arándano se ha duplicado en los últimos 12 años, lo que se debe, al menos en parte, al descubrimiento realizado en la década de los 90', el cual lo señala como una de las frutas con el mayor contenido de antioxidantes (Prior et al., 1998). Existe importante evidencia acerca de que los antioxidantes presentes en la fruta protegen a los lípidos, proteínas y ácidos nucleicos contra el daño oxidativo que causan los radicales libres, los cuales poseen un rol primordial en el desarrollo del cáncer y otras enfermedades vasculares y neurodegenerativas (Howard et al., 2003). Así, los antioxidantes tienen diversos efectos positivos sobre la salud humana, y los mayores beneficios se obtienen al consumir la fruta fresca. En consecuencia, alrededor de dos tercios de la producción mundial de arándano se comercializa como fruta fresca, y su concepto de calidad ha cambiado de tal manera que, actualmente, no sólo se considera el tamaño, concentración de azúcares y ácidos, y firmeza de la fruta, sino también la concentración de compuestos antioxidantes (Retamales y Hancock, 2012).

Si bien se han identificado varios tipos de antioxidantes en la fruta, los compuestos fenólicos son los que han recibido una especial atención (You et al., 2011), puesto que no sólo constituyen uno de los grupos de compuestos químicos más abundantes del reino vegetal (Pridham, 1965), sino que cumplen numerosas funciones biológicas que han permitido la adaptación y evolución de las distintas especies (Shirley, 1996), destacándose como función principal la protección activa de las plantas frente a situaciones de estrés (Tadeo y Gómez-Cadenas, 2008) (Anexo I, Figura 1).

Químicamente, un compuesto fenólico se caracteriza por poseer, al menos, un anillo aromático de benceno unido a uno o varios grupos hidroxilo (Moutounet et al., 2000; Taiz y Zeiger, 2010a). Existen varias clases y subclases de compuestos fenólicos (Anexo I, Figura 2), las que se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de los elementos estructurales que presentan estos anillos (Quiñones et al., 2012). La división más general separa a los fenoles simples, como el catecol, tirosol, vainillina, etcétera, de los fenoles complejos. Los fenoles simples están formados por un sólo anillo aromático de benceno, mientras que los fenoles complejos están constituidos por dos o más anillos. En ambos casos, los anillos se acompañan de distintas estructuras hidroxiladas (Taiz y Zeiger, 2010a). Dentro de los fenoles complejos, o polifenoles, la clasificación más común se basa en la estructura de su esqueleto carbonado, dividiéndose en compuestos no flavonoides y flavonoides (Moutounet et al., 2000). Cada grupo se separa, a su vez, en diferentes familias químicas, cuyas características estructurales les confieren propiedades específicas, tales como color, aroma y sabor (Cheynier et al., 2006) (Anexo I, Figura 3).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular, que comparten un esqueleto común de difenilpirano (C6-C3-C6'), el cual está formado por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo de pirano heterocíclico (C). La clasificación de estos compuestos en familias se hace en función del estado de oxidación del anillo C y de la posición del anillo B. Dentro de cada familia existe una gran variedad de compuestos, que se diferencian entre sí por el número y la posición de los grupos hidroxilos, y por los grupos

funcionales que pueden presentar (metilos, azúcares, ácidos orgánicos). Las principales familias de flavonoides son: flavonoles, flavanoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas y antocianinas (Quiñones et al., 2012), siendo estas últimas las más importantes en la baya del arándano, puesto que representan más del 60% de los fenoles totales (Kalt et al., 2003).

Los flavonoles se caracterizan por un grupo ceto en el carbono C4 y una insaturación entre los carbonos C2 y C3. Poseen, además, un grupo hidroxilo adicional en el carbono C3. La quercetina es el compuesto más representativo (Quiñones et al., 2012). Por su parte, los flavanoles poseen el anillo C saturado y un grupo hidroxilo en el carbono C3 y, a diferencia de otros flavonoides, sus combinaciones de tipo heterosídico (entre el grupo reductor del azúcar y un grupo tiol) son poco habituales (Quiñones et al., 2012). Los flavanoles más representativos son del tipo flavan-3-ol, y aparecen como monómeros (catequinas), dímeros condensados, oligómeros (procianidinas), o polímeros (proantocianidinas) (Taiz y Zeiger, 2010a), siendo la epicatequina y catequina los mayoritarios (Quiñones et al., 2012).

Las antocianinas son los compuestos responsables de los colores rojos, azulados o violetas de las frutas, y el pigmento visible al ojo humano más importante, después de la clorofila (Taiz y Zeiger, 2010a). Su estructura básica es el 2-fenilbenzopirilo de la sal de flavilio, y existen como glicósidos de polihidroxi derivados de la sal. Las antocianinas difieren en el número de grupos hidroxilo y/o metoxilo presentes, en el sitio, tipo y número de azúcares unidos a la molécula, además del tipo y número de ácidos alifáticos o aromáticos unidos a los azúcares (glucosa, galactosa, arabinosa y xilosa) (Hernández, 2003). Cuando el azúcar es hidrolizado de la antocianina, el producto es una aglicona, denominada antocianidina, de las cuales existen diversas en la naturaleza. Las antocianidinas más importantes son: cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina y malvidina. Cada una genera cierta intensidad de rojo (Von-Elbe y Schwartz, 1996; Hosseinian y Beta, 2007) (Anexo I, Figura 4).

Por otro lado, los compuestos no flavonoides se encuentran en una concentración muy baja (Macheix et al., 1990), y se caracterizan por presentar, únicamente, un anillo de seis carbonos (C6). Entre ellos, los más importantes son: (1) ácidos hidroxibenzoicos (C6-C1), siendo los más representativos el ácido gálico, vainillínico y protocatéquico; (2) ácidos hidroxicinámicos (C6-C3), de los cuales destacan el ácido coumárico, férulico y cafeico; (3) cumarinas (C6-C3), siendo la principal la esculetina (Lafay y Gil-Izquierdo, 2008). Por su parte, los taninos son compuestos poliméricos más complejos que se clasifican en hidrolizables y condensados (Taiz y Zeiger, 2010a). Los taninos hidrolizables son compuestos no flavonoides, están constituidos por unidades de ácidos fenólicos, principalmente ácido elágico, y pueden estar unidos a una molécula de glucosa (Balasundram et al., 2006). En cambio, los taninos condensados son flavonoides, resultan de la condensación de unidades de flavanoles y tienden a polimerizarse. Al reaccionar con ácidos fuertes forman, a menudo, antocianidinas, por lo cual se los denomina proantocianidinas (Taiz y Zeiger, 2010a).

En el caso del arándano alto, los compuestos flavonoides se encuentran distribuidos, principalmente, en la piel y las semillas, mientras que los compuestos no flavonoides se ubican esencialmente en la pulpa (Kalt et al., 2003). En la fruta madura, los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados son los compuestos no flavonoides mayoritarios (Schuster y Herrmann, 1985), mientras que las antocianinas representan el principal

compuesto flavonoide (Macheix et al., 1990). Por su parte, los flavonoles y las catequinas están presentes en muy bajas cantidades (Kühnau, 1976; Macheix et al., 1990). Las antocianinas tienen una importante capacidad antioxidante (Wang et al., 1997), al igual que el ácido hidroxicinámico y los flavanoles (Prior y Cao, 2000), la cual ha sido cuantificada mediante su capacidad de absorción de radicales oxígeno (ORAC) (Wang et al., 1997).

En Chile, principal país productor y exportador de arándanos del Hemisferio Sur (Bañados 2006; Brazelton y Strik, 2007; Orellana, 2013), los huertos ubicados en la zona central, donde predominan los suelos calcáreos y alcalinos (Luzio et al., 2010; Retamales et al., 2014), se ven afectados por un problema nutricional importante, que es el déficit de hierro (Fe). Esto se atribuye, por un lado, a que en este tipo de suelos el Fe se encuentra presente bajo su forma férrica o reducida ( $\text{Fe}^{+3}$ ) (Loué, 1988; Essington, 2004), la cual es insoluble, precipita y disminuye, así, su biodisponibilidad (Taiz y Zeiger, 2010b) y, por el otro lado, a que el arándano es una especie calcífuga (Mengel et al., 2001), es decir que está adaptado a un pH ácido de suelo (Parker et al., 1991). Como consecuencia, y dado el papel clave que tiene el Fe en numerosos procesos metabólicos y enzimáticos (Briat, 2007; Jeong y Guerinot, 2009), la importancia del déficit de Fe radica en que conlleva a una gran variedad de efectos negativos, tanto a nivel radical como foliar (Abadía, 1992).

En este sentido, ha sido señalado que el Fe participa activamente en la síntesis de los compuestos flavonoides, dado su rol como cofactor de tres enzimas claves en la ruta: la antocianidina sintasa (ANS), también conocida como leucoantocianidina dioxigenasa, que cataliza el paso de los dihidroflavonoles (flavan-3,4-diol) a las antocianidinas; la flavanona-3 $\beta$ -hidroxilasa (F3H), quien cataliza la transformación de las flavanonas a los flavanoles, y la flavonol sintasa (FLS), encargada de catalizar el paso de los flavanoles a los flavonoles (Saito et al., 1999; Turnbull et al., 2000; Nakajima et al., 2001). Estas tres enzimas pertenecen a la familia de las oxigenasas dependientes del 2-oxoglutarato y, por ende, requieren de un centro de Fe ferroso para llevar a cabo la reacción (Turnbull et al., 2004). De esta manera, el déficit de Fe en las plantas puede alterar la actividad de estas enzimas, afectando la ruta de síntesis de los flavonoides.

Al respecto, la biosíntesis de los compuestos fenólicos, como producto del metabolismo secundario de las plantas, tiene lugar a través de dos importantes rutas primarias: la ruta del ácido siquímico y la ruta del ácido malónico, o ruta de los poliacetatos, como también se le llama (Bravo, 1998; Taiz y Zeiger, 2010a) (Anexo I, Figura 5). La ruta del ácido shiquímico consiste, básicamente, en la condensación del fosfoenol piruvato, proveniente de la glicólisis, y de la eritrosa 4-fosfato, procedente de la vía de las pentosas fosfato, para formar los aminoácidos aromáticos fenilalanina, tirosina y triptófano (Herrmann y Weaver, 1999) (Anexo I, Figura 6). La fenilalanina, un aminoácido esencial propio del metabolismo primario de las plantas, pasa a formar el metabolismo secundario al transformarse en ácido trans-cinámico, a través de la eliminación de un grupo amonio, reacción que es catalizada por la fenilalanina amonio liasa (PAL) (Piñol et al., 2008; Taiz y Zeiger, 2010a). La PAL está situada en un punto de separación entre el metabolismo primario y secundario, por lo que la reacción que cataliza es un paso regulador importante en la formación de muchos compuestos fenólicos. Posteriormente, el ácido trans-cinámico se transforma en el ácido p-coumárico por la incorporación de un grupo hidroxilo en el anillo aromático. Finalmente, mediante la acción de una coenzima A (CoA), la CoA-ligasa, el ácido p-coumárico pasa a

$\rho$ -cumarilCoA, el precursor activo de la mayoría de los flavonoides de origen vegetal (Taiz y Zeiger, 2010a) (Anexo I, Figura 7). Por otro lado, la ruta de los poliacetatos comienza con una molécula inicial de acetilCoA y, a través de una serie de condensaciones, se originan los poliacetatos. Por reducción de los mismos se forman los ácidos grasos, y por ciclación posterior se originan una gran variedad de compuestos aromáticos, como las quinonas (Quiñones et al., 2012).

Por lo tanto, dados los potenciales beneficios para la salud que se le atribuyen a los compuestos fenólicos presentes en el arándano, es necesario investigar todos los factores que puedan afectar este contenido fenólico y su composición (Kalt et al., 2003), siendo relevante, así, controlar el déficit de Fe. Al respecto, las técnicas de manejo tradicionales, basadas principalmente en la aplicación de quelatos sintéticos de Fe, vía edáfica y/o foliar, y la acidificación del agua de riego, con ácido sulfúrico o fosfórico (Pestana et al., 2003), han sido cuestionadas en términos económicos y ambientales, puesto que no sólo son prácticas costosas, sino muy contaminantes (Rombolà y Tagliavini, 2006). En tal contexto, se han evaluado técnicas de manejo más sostenibles, entre las cuales destacan el uso de formulados a base de sangre animal (Tagliavini et al., 2000; Sorrenti et al., 2012; Tessarin et al., 2013; López-Rayó et al., 2015) y la asociación del cultivo con distintas especies gramíneas (Zuo et al., 2000; Zuo y Zhang, 2008; Cesco et al., 2006; Inal et al., 2007; Ammari y Rombolà, 2008; Covarrubias et al., 2014).

En este punto, es importante mencionar que, si bien se ha demostrado la eficacia de estas técnicas para controlar la clorosis férrica en numerosas especies, no se ha evaluado su efecto sobre el contenido y la composición fenólica del arándano. Asimismo, dado que la composición química de la fruta no sólo está influenciada por el factor genético, sino también ambiental y de manejo (Skupieñ, 2006), y a pesar de que existen numerosos estudios sobre la composición fenólica del arándano alto, ésta no se conoce a cabalidad (Kalt et al., 2003), y no se ha considerado la influencia del déficit de hierro sobre la misma.

### **Hipótesis**

El uso de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro, basadas en la aplicación de un compuesto derivado de sangre animal y en la asociación del cultivo con especies gramíneas modifica el contenido, concentración y composición fenólica de arándanos ‘Emerald’.

### **Objetivos**

Caracterizar el contenido, concentración y composición fenólica de arándanos ‘Emerald’, y evaluar el efecto del déficit de hierro sobre estas características.

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible del déficit de hierro sobre el contenido, concentración y composición fenólica en arándanos ‘Emerald’.

## MATERIALES Y MÉTODO

### Ubicación del estudio

La investigación se llevó a cabo entre marzo del 2014 y abril del 2015.

La parte experimental se realizó en el huerto comercial “Los Fundos-Catemu S.A.”, ubicado en La Poza s/n, Localidad del Ñilhue, Comuna de Catemu, Provincia de San Felipe de Aconcagua, Región de Valparaíso (32°42'S y 70°54'O, 560 m.s.n.m.). El sector del huerto en el cual se ejecutó el estudio fue plantado en el año 2012, se encuentra en ladera y posee camellones de 0,9 m de ancho y 0,4 m de alto.

Cabe destacar que el huerto, y en particular el cuartel utilizado para el estudio, fue elegido en base a los resultados de un análisis químico de suelo (Cuadro 14), realizado en enero del 2014, el cual evidenció la presencia de elevadas concentraciones de carbonatos totales y caliza activa. En consecuencia, el suelo del sector presentó condiciones idóneas para inducir la carencia de hierro en las plantas.

Cuadro 14. Propiedades químicas del suelo perteneciente al cuartel utilizado para la investigación, según análisis de suelo realizado en enero 2014, a una profundidad de 10-15 cm.

Variable	Unidad	Entre-hilera	Sobre-hilera	Condición*
pH	-	7,7	7,5	Alcalino
RAS	-	0,7	0,9	Normal
Cond. Eléctrica	dS m <sup>-1</sup>	3,3	3,2	Lev. salino
Materia orgánica	%	1,1	1,9	Bajo
Calcio	meq/100 g	21,1	20,6	Alto
	% CIC	70	79	
Magnesio	meq/100 g	4,1	3,6	Alto
	% CIC	14	14	
Bicarbonatos	mg L <sup>-1</sup>	159	104	Regular
Carbonato total	% CaCO <sub>3</sub>	1,2	2,0	Alto
Caliza activa	% CaCO <sub>3</sub>	1,0	1,0	Alto

\* Según nivel adecuado para huerto de arándanos (Hirzel, 2014).

La parte analítica del experimento se realizó en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, la cual se encuentra ubicada en la Comuna de La Pintana, Región Metropolitana. La extracción de los compuestos fenólicos se realizó en el Laboratorio de Análisis Sensorial, y su medición y cuantificación se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis Cromatográfico y Antioxidantes; ambos laboratorios son dependientes del Departamento de Agroindustria y Enología.

## Material biológico

Se utilizaron plantas de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) ‘Emerald’ de 4 años de edad, las cuales se encontraban bajo un marco de plantación de 3 x 0,8 m, establecidas sobre camellones de orientación noroeste-sureste y con un sistema de riego por goteo, formado por una doble línea de goteros, distanciados a 40 cm y cuyo caudal era de 4 L h<sup>-1</sup>.

Al inicio del experimento, las plantas evidenciaban notables síntomas de clorosis en sus hojas apicales (Apéndice I, Foto 1). Para corroborar que se trataba de una clorosis férrica y descartar, así, cualquier otro tipo de déficit nutricional, se seleccionaron, al azar, 5 plantas cloróticas, en cada una de las cuales se marcó un brote representativo. A cada brote se le midió el índice SPAD, para lo cual se utilizó un *chlorophyll meter* portátil (SPAD Minolta 502, Konica Minolta, Osaka, Japón). La medición se realizó en la primera hoja completamente expandida de los brotes; los valores estuvieron en el rango de 20 a 25. Luego, los brotes fueron sumergidos varias veces en una solución de quelato de hierro sintético Fe-EDTA a una concentración de 2 mM y pH 6,0, con el objetivo de mojar completamente la superficie de las hojas apicales. A los 10 días se repitió la medición del índice SPAD en cada uno de los brotes marcados, y los resultados obtenidos arrojaron valores mayores a 30, concluyendo que las plantas tenían síntomas de déficit de hierro.

## Tratamientos y diseño experimental

Dentro del sector de estudio, se seleccionaron visualmente 5 hileras contiguas y homogéneas, es decir, que tuviesen plantas de un tamaño, desarrollo y grado de clorosis lo más uniforme posible, y sin problemas fitosanitarios y fisiológicos aparentes.

Se utilizó un diseño en cuadrado latino, en el cual el factor de bloqueo fue tanto la altura de la ladera como la hilera. La unidad experimental (UE) fue de 10 plantas y la unidad de observación (UO) de 6 plantas. Cada UE fue separada de la siguiente por un ‘borde’ de 2 plantas, de la misma forma en que se separó la primera UE del camino.

Se trabajó con 5 tratamientos: (1) testigo absoluto; (2) testigo comercial, que consistió en la aplicación de quelato de hierro al suelo (Fe-EDDHA); (3) aplicación de un compuesto formulado a base de sangre bovina; (4) asociación con *Festuca rubra rubra* L. y (5) asociación con *Poa pratensis* L. El diseño experimental consideró la implementación de 5 repeticiones para cada tratamiento (Apéndice I, Figura 1).

## Manejo del experimento

El formulado a base de sangre bovina y el quelato de hierro fueron aplicados al suelo en forma líquida, previa preparación de una solución. El compuesto formulado a base de sangre bovina se preparó a una concentración de 20 g L<sup>-1</sup> y se aplicó en dosis de 0,5

L/planta, de manera que cada planta recibió 10 g de formulado por aplicación. El producto poseía una concentración de hierro de  $2.675 \text{ mg kg}^{-1}$ , por lo cual cada planta recibió 26,75 mg de hierro en cada aplicación. Por otra parte, se utilizó el producto comercial Basafer® PLUS, 5% p/p orto-orto Fe-EDDHA (Compo®), el cual corresponde a un quelato Fe-etilendiamino-N,N'-di(2-hidroxifenil) ácido acético. Tal producto se preparó con una concentración de  $4 \text{ g L}^{-1}$  y se aplicó en dosis de 0,5 L/planta, de manera que cada planta recibió 2 g de quelato en cada aplicación y, por ende, 0,1 g de hierro. Las aplicaciones de ambos productos se realizaron en forma manual (Apéndice I, Foto 2), cada 15 días, y desde inicios de brotación (*Late green tip stage*) hasta la aparición de las ramificaciones del segundo flujo de crecimiento de brotes (*Fruit bud set stage*), por lo que ambos productos fueron aplicados 10 veces en total.

Por otro lado, las especies gramíneas fueron sembradas en la hilera del cultivo, a lo largo de toda la unidad experimental, cubriendo todo el espacio existente entre las plantas y debajo de las mismas (Apéndice I, Foto 3). La siembra se realizó en abril del 2014, a una densidad de 20.000 semillas/m<sup>2</sup>. Se utilizaron semillas certificadas, y en perfecto estado sanitario, de las especies *Festuca rubra rubra* L. y *Poa pratensis* L. La siembra consistió en mullir el suelo, colocar la semilla a 0,5 cm de profundidad, aproximadamente, tapar con una capa delgada de suelo del lugar y, luego, esparcir un poco de arena con el objeto de mejorar la infiltración del agua y evitar la evaporación del agua de riego. Finalmente, para favorecer la germinación, se regó diariamente durante las dos primeras semanas desde la fecha de siembra, con un pulverizador manual de 5 L, mediante el cual se proporcionó una fina lluvia, suficientemente abundante como para humedecer el suelo, pero no tan excesiva como para provocar escurrimiento. Una vez establecidas las gramíneas, y con el objetivo de realizar un aporte adicional de agua a las plantas bajo asociación, se colocaron 8 microjets de 180° a lo largo de la UE, ubicándose 4 en cada línea de gotero. El caudal de los microaspersores utilizados era de  $60 \text{ L h}^{-1}$ . A su vez, durante toda la temporada, las gramíneas fueron segadas manualmente cuando alcanzaban 15 cm de altura, y se llevaban a una altura de 5 cm, aproximadamente.

Las labores agronómicas de poda, riego, control fitosanitario y fertilización con macro y micronutrientes, a excepción del hierro, se ejecutaron según el criterio y manejo implementado por la administración del predio. No se efectuó una poda “en verde” (de verano) en las plantas del ensayo.

## Evaluaciones

La composición fenólica de las bayas se evaluó en la etapa de poscosecha.

Para ello, la cosecha se realizó en forma manual, por pasadas, en cajas plásticas de 3 kg, y el índice de cosecha utilizado fue el color (*75% Blue stage*). De esta manera, en cada pasada, sólo se cosechaba la fruta de color completamente azul (Apéndice III, Foto 5), debido a que éste es el estado de madurez en que se efectúa la recolección con fines comerciales. En la pasada número 3, la cual correspondió a la pasada representativa de la cosecha, puesto que en esa pasada se cosechó el mayor porcentaje de frutos de las plantas,

se tomaron 2 muestras de bayas de cada UE. La primera muestra estuvo compuesta por 40 bayas y la segunda muestra por 200 bayas. En ambos casos, las bayas se tomaron al azar, considerando que su tamaño fuera representativo de la UE.

Las muestras de 200 bayas fueron colocadas en bolsas plásticas, y llevadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Una vez congeladas, se pesaron en una balanza (modelo AQT 2600, Adam, Connecticut, EE.UU.) y las bayas se pelaron para separar la piel de la pulpa. Luego, se pesó la piel total de la muestra.

### **Concentración foliar de clorofila**

Al momento de iniciar la cosecha, se evaluó la concentración foliar de clorofila, a través del índice SPAD, de 2 brotes marcados en cada planta de la UO. La medición se hizo en la primera hoja completamente expandida del brote y se tomaron 4 lecturas por hoja, 2 a cada lado de la nervadura central. Luego, utilizando la curva de calibración del índice SPAD (Capítulo II), se estimó la concentración foliar de clorofila total, mediante la ecuación:

$$\text{Concentración foliar de clorofila } (\mu\text{g cm}^{-2}) = 0,3039 * \text{Índice SPAD} + 0,032$$

### **Carga frutal**

En cada una de las pasadas que integraron la cosecha, se contó el número de frutos de cada planta de la UO. La carga frutal se expresó como frutos/m<sup>2</sup> PAR<sub>i</sub>, para lo cual se utilizó el PAR<sub>i</sub> medido a inicios de cosecha (Capítulo III).

### **Peso de fruto**

Para esta evaluación se utilizó la muestra compuesta por 200 bayas. Se calculó el peso promedio de los frutos que componían la muestra mediante el cociente entre el peso de la muestra y el número de frutos de la misma.

### **Porcentaje de materia seca de fruto**

Se utilizó la muestra compuesta por 40 bayas. Las bayas fueron pesadas en una balanza (modelo AQT 2600, Adam, Connecticut, EE.UU.) y llevadas a estufa, a  $50^{\circ}\text{C}$ , hasta peso constante. Finalmente, se calculó el porcentaje de materia seca de la baya con la siguiente fórmula: Materia seca (%) =  $(100 - ((\text{Peso fresco} - \text{Peso seco}) / \text{Peso fresco})) * 100$



### Relación piel/pulpa

Para esta evaluación se utilizó la muestra compuesta por las 200 bayas peladas. Se calculó la relación piel/pulpa de cada muestra a través del cociente entre el peso de la piel y el peso de la pulpa.

### Extracción de compuestos fenólicos

Para la obtención del extracto, la piel de las bayas fue homogeneizada con una minipimer en una solución metanol:agua (80:20 v/v), en una relación 1:5. Los homogenizados se colocaron en agitación por 30 minutos, usando un agitador orbital (BioScan OS-20, LabTec, Chile) y, luego, se centrifugaron por 10 minutos a 1500 rpm y 20°C, en una centrifuga (Universal 320, HettichLab, Alemania). Posteriormente, el extracto se separó en su parte líquida y sólida. La parte líquida se refrigeró y la sólida fue nuevamente macerada, agitada y centrifugada, siguiendo la metodología anterior. Una vez realizada esta segunda extracción, se recuperó la fracción líquida y se juntó con la primera. Se centrifugó a 4000 rpm y 20°C por 15 minutos. Finalmente, las muestras fueron filtradas al vacío mediante una membrana PVDF de 0,45 µm y colocadas en frascos de vidrio con tapa, color ámbar.

### Análisis y cuantificación de compuestos fenólicos

**Intensidad colorante.** Se determinó según la metodología de Bordeu y Scarpa (1998). Se evaluó directamente en el extracto mediante espectrofotometría (Lambda 25, PerkinElmer, Hartford, EE.UU.) DO 420; 520 y 620 nm contra agua, con cubetas de vidrio de 1 mm. El cálculo utilizado para cuantificar fue el siguiente:

$$\text{Intensidad colorante (IC)} = (10\text{mm}/1\text{mm}) * (A_{420} + A_{520} + A_{620})$$

La intensidad colorante es un valor adimensional.

**Fenoles totales.** Se determinó según la metodología de García-Barceló (1990). Previa dilución 1:100 del extracto, se midió mediante espectrofotometría (Lambda 25, PerkinElmer, Hartford, EE.UU.) DO 280 nm contra agua, con cubetas de cuarzo de 10 mm. El cálculo utilizado para cuantificar fue el siguiente:

$$(1) \text{ Fenoles totales (mg L}^{-1} \text{ ác. gálico)} = (A_{280} / 38,054 + 0,001411) * \text{Dilución} * 1000$$

$$(2) \text{ Fenoles totales (mg EAG g}^{-1} \text{ fruta)} = (1) * 0,2 / \text{Peso piel}$$

Se expresó en mg EAG g<sup>-1</sup> fruta.

**Antocianos totales.** Se determinó según la metodología de García-Barceló (1990), la cual se basa en la decoloración por bisulfito. Previa dilución 1:100 del extracto, se colocó 1 mL del extracto diluido en un Erlenmeyer; se adicionó 1 mL de alcohol ácido y 20 mL de HCl

2%. La muestra preparada se separó en dos tubos de ensayos, cada uno con 10 mL, y se les añadió 4 mL de NaHSO<sub>3</sub> (metabisulfito de sodio) y 4 mL de agua destilada, respectivamente. Luego, se esperó 20 minutos y ambas muestras se evaluaron con espectrofotometría (Lambda 25, PerkinElmer, Hartford, EE.UU.) DO 520 nm contra agua, con cubetas de vidrio de 10 mm. El cálculo utilizado para cuantificar fue el siguiente:

$$(1) \text{ Antocianos totales (mg/L malvidina) } = (A_{520} \text{ HCl} - A_{520} \text{ NaHSO}_3) * 865 * \text{Dilución}$$

$$(2) \text{ Antocianos totales (mg malvidina/g fruta) } = (1) * 0,2 / \text{Peso piel}$$

Se expresó en mg malvidina/g fruta.

**Taninos totales.** Se trabajó con la metodología de Bate-Smith (1972), la cual se basa en que los taninos se hidrolizan en medio ácido y, en presencia de oxígeno, pasan a formar moléculas rojas (antocianos). Previa dilución 1:50 del extracto, en dos tubos de ensayo se colocó 4 mL de la muestra, se agregó 2 mL de agua destilada y 6 mL de HCl 35%. Luego, un tubo fue sometido a baño maría (BM) a 90°C, durante 30 minutos, y el otro a oscuridad a temperatura ambiente. Ambas muestras se evaluaron con espectrofotometría (Lambda 25, PerkinElmer, Hartford, EE.UU.) DO 550 nm contra agua, con cubetas de vidrio de 10 mm. El cálculo para cuantificar fue el siguiente:

$$(1) \text{ Taninos totales (mg/L procianidina) } = (A_{550} \text{ con BM} - A_{550} \text{ sin BM}) * \text{Dilución} / 50$$

$$(2) \text{ Taninos totales (mg procianidina/g fruta) } = (1) * 19,33 * 200 / \text{Peso piel}$$

Se expresó en mg procianidina/g fruta.

**Perfil de antocianinas.** Se determinó según la metodología de Peña-Neira et al. (2007). Previa filtración del extracto en membranas de 0,45 µm, se evaluó mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD). El equipo utilizado correspondió a un HPLC (Merck Hitachi, Tokio, Japón), equipado con una bomba modelo L-6200, un inyector automático (L-7200), un detector de arreglo de fotodiodos alineados (L-7455) y una columna LiChrospher RP-18(5µm), de 250mm. Los cromatogramas correspondieron a temperatura ambiente, longitud de detección 520 nm y volumen de inyección de 10 µm. Los compuestos antociánicos fueron posteriormente identificados mediante la comparación de su espectro de absorción y tiempo de retención con su respectivo estándar.

**Fenoles de bajo peso molecular.** Se determinaron según la metodología de Peña-Neira et al. (2007), mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC-DAD). El equipo utilizado fue el mismo que en el caso de las antocianinas.

Los cromatogramas correspondieron a temperatura ambiente, longitud de detección 280 nm y volumen de inyección de 10 µm. Los compuestos fenólicos fueron posteriormente identificados mediante la comparación de su espectro de absorción y tiempo de retención con su respectivo estándar.

### Análisis estadístico

La caracterización de la composición fenólica de la piel, es decir contenido porcentual de las antocianidinas y de los grupos de fenoles de bajo peso molecular, independiente de los tratamientos, se presentan en forma descriptiva, mediante figuras.

Para contemplar las fuentes de variación independientes de los tratamientos, se utilizó un diseño en cuadrado latino 5x5, considerando como fuente de variación la pendiente (fila) y la hilera (columna). Un análisis exploratorio preliminar mostró que el bloqueo no controlaba adecuadamente la heterogeneidad ambiental, por lo cual se ajustó un modelo que incluyó una función de correlación espacial.

Se realizó un análisis de componentes principales para evaluar la variabilidad de los distintos tratamientos de control del déficit de hierro en arándanos ‘Emerald’, así como la correlación entre las diferentes variables, considerando la concentración foliar de clorofila, piel/pulpa, intensidad colorante, contenido de fenoles totales, antocianos totales, taninos totales, carga frutal y peso de fruto, el contenido individual de las antocianinas, y el contenido de cada grupo de los fenoles de bajo peso molecular.

Se analizó si existían diferencias estadísticamente significativas, para todas las variables evaluadas, bajo el marco teórico de Modelos Lineales Mixtos.

Para la determinación de la bondad de ajuste de los modelos seleccionados, se valoraron los criterios de selección “Akaike Information Criterion” (AIC) (Akaike, 1974) y “Bayesian Information Criterion (BIC) (Schwarz, 1978; Yang, 2005). Para seleccionar modelos con similares criterios de selección (AIC y BIC), se compararon los modelos con el test del cociente de verosimilitud (LRT).

En el caso de existir varianzas heterocedásticas, éstas fueron corregidas.

En caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se utilizó la prueba de comparaciones múltiples LSD Fisher ( $\alpha=0,05$ ) para todas las variables evaluadas.

La estimación de los modelos se realizó utilizando la función `glm` y `lme` de la librería `nlme` de R (Pinheiro et al., 2014), mediante la interfaz del programa estadístico InfoStat versión 2013 (Di Rienzo et al., 2013).

## RESULTADOS

El análisis de componentes principales muestra que la componente principal 1 (CP1) explica el 72,7% de la variabilidad, y la componente principal 2 (CP2), el 24,6%, es decir que, entre ambas CP, se explica el 97,3% de la variabilidad total (Figura 19). La separación de los tratamientos indica una alta variabilidad entre los mismos, es decir que son muy distintos. Adicionalmente, existe una alta correlación entre la mayoría de las variables consideradas, exceptuando a los taninos totales y la carga frutal (Cuadro 15).

La concentración foliar de clorofila se correlacionó positiva y significativamente con la carga frutal, contenido de fenoles y antocianos totales, intensidad colorante y peso de los frutos, y se correlacionó negativa y significativamente con la relación piel/pulpa, mientras que con el contenido de taninos totales no existió correlación significativa (Cuadro 15). Dado que el ángulo que forman los vectores de dos variables es proporcional a la correlación que existe entre ellas, la concentración foliar de clorofila está altamente correlacionada con el peso de fruto, intensidad colorante, contenido de fenoles totales y antocianos totales (Figura 19), lo que puede apreciarse, a su vez, en la matriz de correlación de Pearson (Cuadro 15).

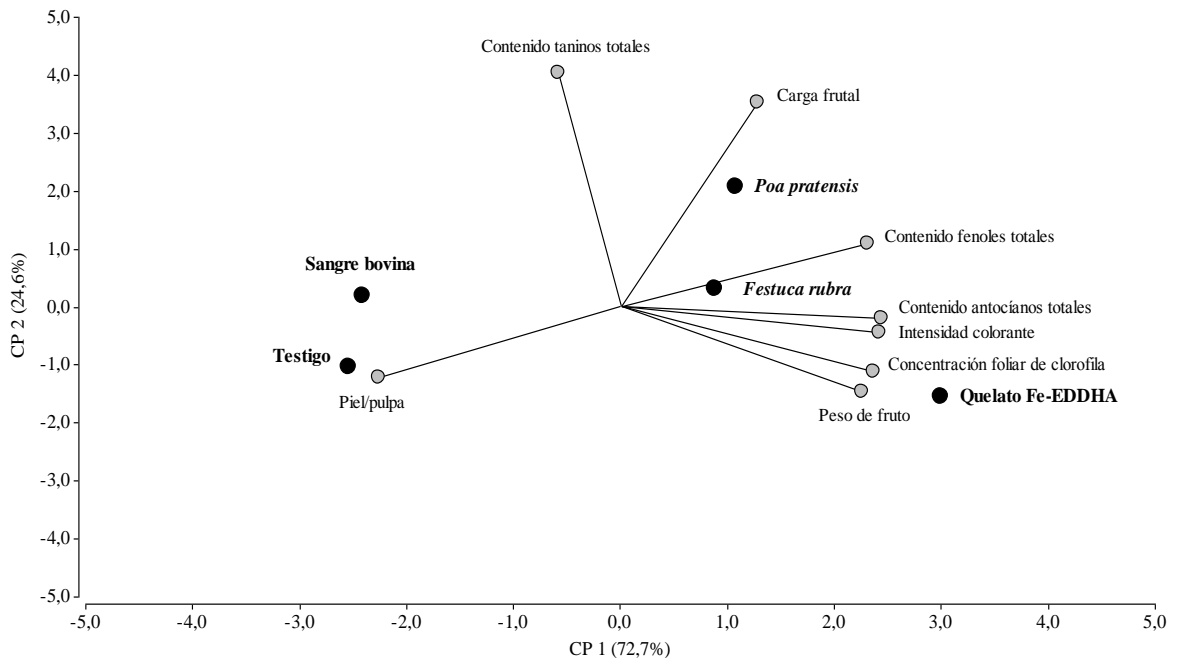


Figura 19. Biplot del ACP para los distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro en arándanos 'Emerald', considerando concentración foliar de clorofila, piel/pulpa, intensidad colorante, contenido de fenoles totales, antocianos totales y taninos totales, carga frutal y peso de fruto de cada repetición de los tratamientos (n=25).

Cuadro 15. Matriz de correlación de Pearson entre la concentración foliar de clorofila, carga frutal, peso de fruto, relación piel/pulpa, intensidad colorante, contenido de fenoles totales, antocianos totales y taninos totales de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

	Concentr. Clorofila	Piel/Pulpa	Int. Colorante	Fenoles totales	Antocianos totales	Taninos totales	Carga frutal
Concentr. Clorofila							
Piel/Pulpa	-0,80*						
Int. Colorante	0,99**	-0,86*					
Fenoles totales	0,85*	-0,89*	0,92*				
Antocianos totales	0,97**	-0,92*	0,98**	0,92*			
Taninos totales	-0,49ns	-0,10ns	-0,35ns	-0,01ns	-0,27ns		
Carga frutal	0,59*	-0,68ns	0,45ns	0,74ns	0,47ns	0,65ns	
Peso de fruto	0,97**	-0,80*	0,93*	0,74*	0,94*	-0,52ns	0,16ns

\*, \*\*, ns: significativo a una probabilidad de 0,05, 0,01 y no significativo, respectivamente.

Es importante mencionar que la carga frutal sólo se correlacionó significativamente con la concentración foliar de clorofila y no con el resto de las variables (Cuadro 15), de manera que la clorofila foliar afectó el número de frutos, pero el número de frutos no modificó el peso de fruto, las características de la piel ni la composición fenólica del extracto.

La concentración foliar de clorofila y sus variables correlacionadas están proyectadas hacia la derecha del Biplot, y los tratamientos que se orientan en la misma dirección son el Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas (Figura 19), es decir los tratamientos que corrigieron la clorosis férrica inicial del arándano (Capítulo II), lo que permite inferir que estos tratamientos tendrán un mayor valor de esas variables. En cambio, el testigo y la sangre bovina se encuentran orientados en la dirección contraria, por lo que tendrán un mayor valor de las variables que estén proyectadas hacia la izquierda del Biplot, o sea, la relación piel/pulpa.

### Concentración foliar de clorofila

Al momento del muestreo de las bayas (88 DDIB), la concentración foliar de clorofila se encontraba entre 8,27 y 13,3  $\mu\text{g cm}^{-2}$ . La aplicación de Fe-EDDHA fue el tratamiento que más incrementó la concentración de clorofila foliar respecto del testigo y la sangre bovina, seguido de la asociación con *Festuca rubra* y luego de la *Poa pratensis* (Cuadro 16).

### Carga frutal y peso de fruto

La carga frutal varió entre 2.426 y 3.545 frutos/m<sup>2</sup> PAR<sub>i</sub>. La asociación con ambas gramíneas incrementó significativamente la carga frutal, respecto del testigo y de las plantas tratadas con sangre bovina. Si bien la *Festuca rubra* se destacó sobre la *Poa pratensis*, no hubo diferencias significativas entre ellas. Por su parte, las plantas tratadas con Fe-EDDHA alcanzaron una carga frutal intermedia entre los tratamientos mencionados, sin diferenciarse estadísticamente de ellos (Cuadro 16).

Por su parte, el peso de fruto en la muestra varió entre 1,70 y 2,18 g. A excepción de la aplicación de sangre bovina, todos los tratamientos superaron significativamente al testigo. Las plantas tratadas con Fe-EDDHA alcanzaron el mayor peso de fruto, diferenciándose tanto del testigo como de las plantas bajo asociación con gramíneas, las que manifestaron valores intermedios, y no se diferenciaron entre ellas (Cuadro 16).

### **Porcentaje de materia seca de fruto**

El porcentaje de materia seca estuvo entre 15,2 y 16,5 %. El análisis estadístico no arrojó diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 16), lo que implica que el porcentaje de humedad de los frutos también es similar para todos los tratamientos (Apéndice IV, Figura 11). Por lo tanto, el contenido y la concentración de las variables fenólicas pueden expresarse en base a fruta fresca o fruta seca, puesto que las diferencias estadísticas que existan entre los tratamientos serán las mismas. De esta manera, se decidió expresar el contenido y la concentración de todos los compuestos fenólicos en base a fruta fresca, considerando que es así como se encuentra, mayoritariamente, en la literatura.

### **Relación piel/pulpa e intensidad colorante**

La relación piel/pulpa se refiere a la relación superficie (piel)/volumen (pulpa) de una baya. Así, una baya más pequeña tiene una mayor relación piel/pulpa, o sea que a mayor diámetro de fruto, la relación disminuye. La relación piel/pulpa de las bayas varió entre 0,05 y 0,08. La aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas redujeron la relación piel/pulpa de las bayas respecto del testigo, mientras que las aplicaciones de sangre bovina no modificaron tal variable (Cuadro 16).

Tal como cabría esperar, la relación piel/pulpa se correlacionó de manera negativa y significativa con el peso de fruto, es decir que a mayor tamaño de fruto, esta relación disminuye. A su vez, la relación piel/pulpa se correlacionó negativa y significativamente con la concentración foliar de clorofila, lo que es lógico puesto que esta concentración se correlacionó positiva y significativamente con el peso de fruto (Cuadro 15).

Por su parte, la intensidad colorante del extracto varió entre 13,8 y 19,1. Las plantas tratadas con Fe-EDDHA y las asociadas con ambas gramíneas fueron las que alcanzaron el mayor valor respecto del testigo, que obtuvo el menor valor. La aplicación de sangre bovina, por su parte, tuvo un valor intermedio, sin diferenciarse significativamente del testigo y de las plantas asociadas a *Poa pratensis* (Cuadro 16).

La intensidad colorante se correlacionó de manera positiva y significativa con el contenido de antocianos totales (Cuadro 15), es decir que mientras más intenso fue el color del extracto de la piel, mayor fue su contenido de antocianos totales.

Cuadro 16. Concentración foliar de clorofila al momento de muestreo de las bayas (88 DDIB), carga frutal en frutos/m<sup>2</sup>PAR<sub>i</sub>, peso de fruto de la muestra en gramos, porcentaje de materia seca, relación piel/pulpa e intensidad colorante en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Concentración de clorofila foliar	Carga frutal	Peso promedio de fruto	Materia seca de fruto	Relación piel/pulpa	Intensidad colorante
	µg cm <sup>-2</sup>	frutos/m <sup>2</sup> PAR <sub>i</sub>	g	%		
Testigo	8,60 ± 1,72 d	2426 ± 204 c	1,72 ± 0,05 c	15,2 ± 0,2	0,08 ± 0,01 a	13,8 ± 1,1 c
Quelato Fe-EDDHA	13,13 ± 1,81 a	2682 ± 226 b	2,18 ± 0,06 a	15,8 ± 0,5	0,05 ± 0,00 c	19,1 ± 1,2 a
Sangre bovina	8,26 ± 1,87 d	2509 ± 212 bc	1,70 ± 0,05 c	15,2 ± 0,2	0,07 ± 0,00 ab	15,6 ± 1,1 bc
<i>Poa pratensis</i>	9,96 ± 1,68 c	3056 ± 256 ab	1,84 ± 0,06 b	15,9 ± 0,5	0,06 ± 0,00 bc	17,6 ± 1,1 ab
<i>Festuca rubra</i>	11,43 ± 1,61 b	3545 ± 289 a	1,87 ± 0,06 b	16,5 ± 1,0	0,06 ± 0,00 b	18,6 ± 1,3 a
Significancia	p < 0,0001	p = 0,0145	p = 0,0003	n.s.	p < 0,0001	p = 0,0008
CV			PAR <sub>i</sub> 1		PAR <sub>i</sub> 1	
Significancia			p = 0,0154		p = 0,0001	

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p < 0,05). n.s. = Sin diferencias significativas entre tratamientos. CV = covariable. PAR<sub>i</sub> 1 = PAR<sub>i</sub> a inicios de cosecha.

### Fenoles totales

El contenido de fenoles totales varió entre 5,97 y 7,59 mg EAG/fruta. Las aplicaciones de Fe-EDDHA mostraron un mayor contenido de fenoles respecto del testigo, diferenciándose estadísticamente de éste. En contraste, las aplicaciones de sangre bovina tuvieron un menor contenido, sin diferenciarse del testigo. Por su parte, la asociación con ambas gramíneas alcanzó un contenido intermedio, sin diferencias estadísticas respecto del Fe-EDDHA ni del testigo (Cuadro 17).

El contenido de fenoles totales se correlacionó positiva y significativamente con la concentración foliar de clorofila (Cuadro 15), de manera que mientras mayor es la clorofila foliar, se alcanza una mayor cantidad de fenoles totales en la piel de las bayas.

Por su parte, la concentración de fenoles totales varió entre 3,47 y 3,71 mg EAG/g fruta. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 17). Al expresarlo como mg EAG/g piel, la concentración varió entre 53,2 y 78,1. En este caso, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas especies gramíneas obtuvieron los mayores valores, diferenciándose estadísticamente del testigo y de la sangre bovina (Cuadro 17).

### Antocianos totales

El contenido de antocianos totales varió entre 1,58 y 2,58 mg malvidina/fruta. Todos los tratamientos tuvieron un mayor valor respecto del testigo, pero sólo las plantas tratadas con Fe-EDDHA se diferenciaron significativamente de éste (Cuadro 17).

El contenido de antocianos totales se correlacionó positiva y significativamente con la concentración foliar de clorofila (Cuadro 15), de manera que mientras mayor es la clorofila foliar, se alcanza una mayor cantidad de antocianos totales en la piel de las bayas. A su vez, el contenido de antocianos totales se correlacionó positiva y significativamente con el contenido de fenoles totales (Cuadro 15), lo que guarda relación con el hecho de que los antocianos son compuestos flavonoides incluidos dentro de los fenoles.

Por otro lado, la concentración de antocianos totales varió entre 0,91 y 1,19 mg malvidina/g fruta. No se observaron diferencias significativas entre tratamientos (Cuadro 17). Al expresarlo como mg malvidina/g piel, la concentración varió entre 13,7 y 24,2. En este caso, las plantas tratadas con Fe-EDDHA alcanzaron el mayor valor, diferenciándose del resto de los tratamientos. Por su parte, la asociación con gramíneas superó al testigo y a la sangre bovina, con diferencias estadísticas respecto de estos tratamientos, y sin diferencias entre ambas especies (Cuadro 17).

### Taninos totales

El contenido de taninos totales varió entre 0,06 y 0,07 mg procianidina/fruta. No se evidenciaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (datos no mostrados), y esta variable no se correlacionó significativamente con ninguna otra (Cuadro 15).

La concentración de taninos totales varió entre 0,02 y 0,03 mg procianidina/g fruta, y entre 0,39 y 0,41 mg procianidina/g piel. En ningún caso, se observaron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos (datos no mostrados).

Cuadro 17. Contenido y concentración de fenoles y antocianos totales, expresados en mg EAG/fruta, mg EAG/g fruta y mg EAG/g piel; mg malvidina/fruta y mg malvidina/g fruta y mg malvidina/g piel, respectivamente, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Contenido fenoles totales mg EAG/fruta	Concentración fenoles totales mg EAG/g fruta	Concentración fenoles totales mg EAG/g piel	Contenido antoc. totales mg mv/fruta	Concentración antoc. totales mg mv/g fruta	Concentración antoc. totales mg mv/g piel
Testigo	6,27 ± 0,30 bc	3,64 ± 0,16	54,3 ± 5,53 b	1,61 ± 0,23 b	0,93 ± 0,12	13,7 ± 1,55 c
Quelato Fe-EDDHA	7,59 ± 0,30 a	3,50 ± 0,16	78,1 ± 5,53 a	2,58 ± 0,22 a	1,19 ± 0,12	24,2 ± 1,63 a
Sangre bovina	5,97 ± 0,30 c	3,47 ± 0,15	53,2 ± 5,53 b	1,58 ± 0,22 b	0,91 ± 0,11	14,7 ± 1,83 c
<i>Poa pratensis</i>	7,02 ± 0,30 ab	3,71 ± 0,17	75,0 ± 5,53 a	1,78 ± 0,24 ab	0,94 ± 0,13	21,8 ± 1,75 b
<i>Festuca rubra</i>	6,90 ± 0,20 ab	3,67 ± 0,14	72,4 ± 5,53 a	1,97 ± 0,21 ab	1,05 ± 0,11	19,5 ± 2,12 b
Significancia	p= 0,0001	n.s.	p= 0,0193	p= 0,0060	n.s.	p<0,0001

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p<0,05). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.



### Perfil de antocianinas

El cromatograma entregado por el HPLC-DAD reveló la presencia de nueve antocianinas en la piel de los arándanos. El orden de aparición, dado por el tiempo de retención, permitió identificar cada antocianidina con su azúcar agregado (Figura 20). Así, cada 'peak' del cromatograma, de izquierda a derecha, corresponde a las antocianinas: (1) Delfinidina 3-galactósido; (2) Delfinidina 3-glucósido; (3) Cianidina 3-galactósido; (4) Delfinidina 3-arabinósido; (5) Petunidina 3-galactósido; (6) Petunidina 3-arabinósido; (7) Malvidina 3-galactósido; (8) Malvidina 3-glucósido; (9) Malvidina 3-arabinósido (Figura 20).

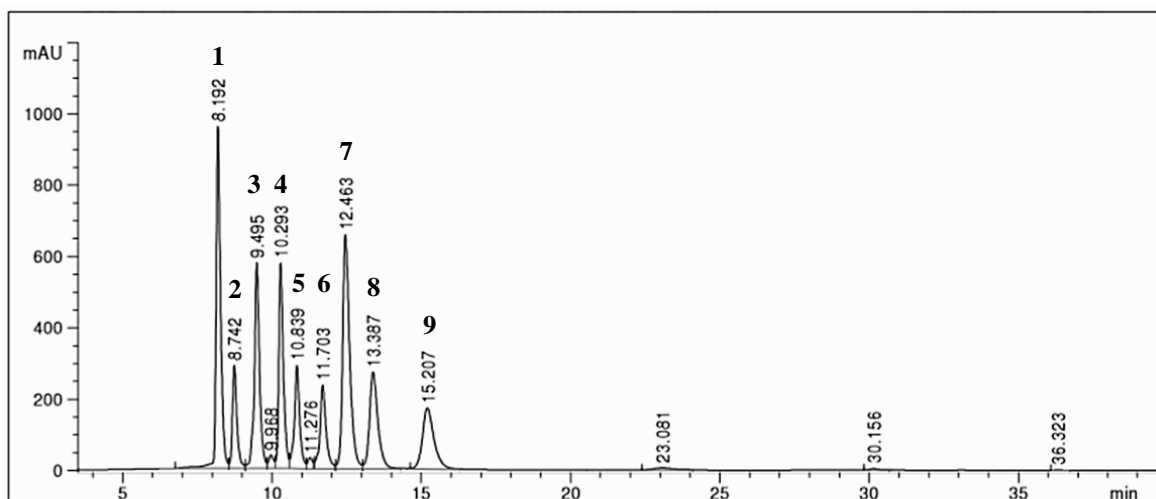


Figura 20. Cromatograma del perfil antocianínico de la piel de arándanos 'Emerald'.

La composición antocianínica de las pieles fue similar en los distintos tratamientos. De las antocianidinas presentes, las que se encontraron en mayor cantidad fueron la delfinidina y malvidina, con un 40 y 30%, respectivamente. Por su parte, la petunidina y la cianidina se encontraron en proporciones similares entre ellas, la cual fue cercana al 15% (Figura 21).

Asimismo, independientemente del tratamiento, la composición de las antocianinas fue similar, dado que en todos los casos, aquellas presentes en mayor proporción, respecto del total, fueron la delfinidina 3-galactósido, malvidina 3-galactósido, cianidina 3-galactósido y delfinidina 3-arabinósido (Cuadro 18).

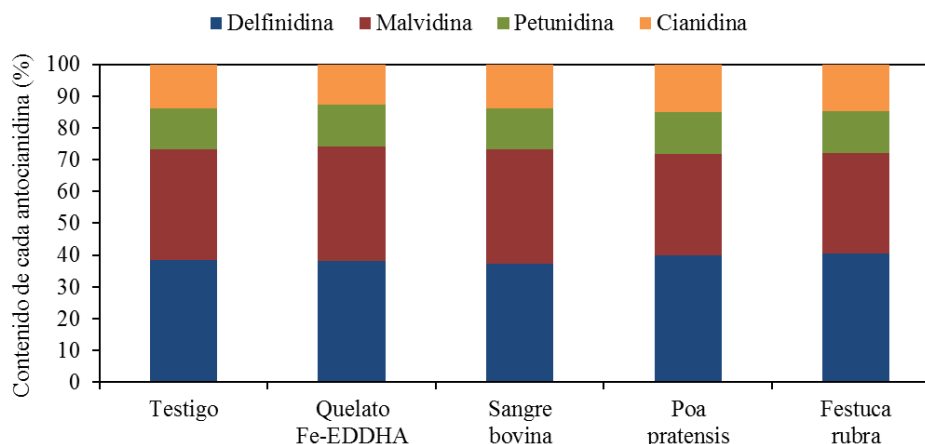


Figura 21. Contenido porcentual de cada antocianidina presente en el perfil antociánico de la piel de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Cuadro 18. Contenido porcentual de las nueve antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Antocianina	Tratamiento				
	Testigo	Quelato Fe-EDDHA	Sangre bovina	<i>Poa pratensis</i>	<i>Festuca rubra</i>
<b>Delfinidina 3-galactósido</b>	<b>19,09</b>	<b>19,58</b>	<b>21,53</b>	<b>20,48</b>	<b>19,96</b>
Delfinidina 3-glucósido	6,21	6,36	6,22	6,31	6,17
<b>Cianidina 3-galactósido</b>	<b>14,32</b>	<b>13,05</b>	<b>14,35</b>	<b>13,65</b>	<b>12,70</b>
<b>Delfinidina 3-arabinósido</b>	<b>11,93</b>	<b>11,42</b>	<b>11,96</b>	<b>11,95</b>	<b>12,70</b>
Petunidina 3-galactósido	6,68	7,50	7,18	6,48	6,17
Petunidina 3-arabinósido	6,21	5,87	5,98	5,80	5,63
<b>Malvidina 3-galactósido</b>	<b>19,09</b>	<b>17,94</b>	<b>16,75</b>	<b>17,06</b>	<b>18,15</b>
Malvidina 3-glucósido	9,31	10,11	8,85	9,73	9,44
Malvidina 3-arabinósido	7,16	8,16	7,18	8,53	9,07

Al hacer un análisis de componentes principales con las nueve antocianidinas y los tratamientos implementados a los arándanos, se observa que la componente principal 1 (CP1) explica el 95,7% de la variabilidad, y la componente principal 2 (CP2) el 4,1%, es decir que, entre ambas CP, se explica el 99,8% de la variabilidad total (Figura 19). La separación de los tratamientos indica una alta variabilidad entre los mismos, es decir que son muy distintos. A su vez, esta alta variabilidad de los tratamientos se debe a la alta correlación que existe entre todas las antocianinas (Cuadro 19).

En general, se observa que las distintas antocianinas están correlacionadas positivamente entre sí, a excepción de las antocianinas que presentan un ángulo recto (o cercano a 90°)

entre sí, como es el caso de la malvidina 3-galactósido con la cianidina 3-galactósido. Esto es así debido a que el ángulo que forman los vectores de dos variables es proporcional a las correlaciones que existe entre ellas. Adicionalmente, esto puede apreciarse en la matriz de correlación de Pearson entre las variables y su significancia (Cuadro 19).

Por otro lado, todas las antocianinas están proyectadas hacia la derecha del Biplot, y los tratamientos que se orientan en la misma dirección son el Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas (Figura 22), es decir los tratamientos que corrigieron la clorosis férrica inicial del arándano (Capítulo II), lo que permite inferir que estos tratamientos tuvieron un mayor contenido de las antocianinas presentes en el perfil antociánico. En cambio, el testigo y la sangre bovina, los tratamientos que tuvieron una menor concentración de clorofila, mostraron un menor contenido de las distintas antocianinas, al estar orientados hacia el lado izquierdo del Biplot (Figura 22).

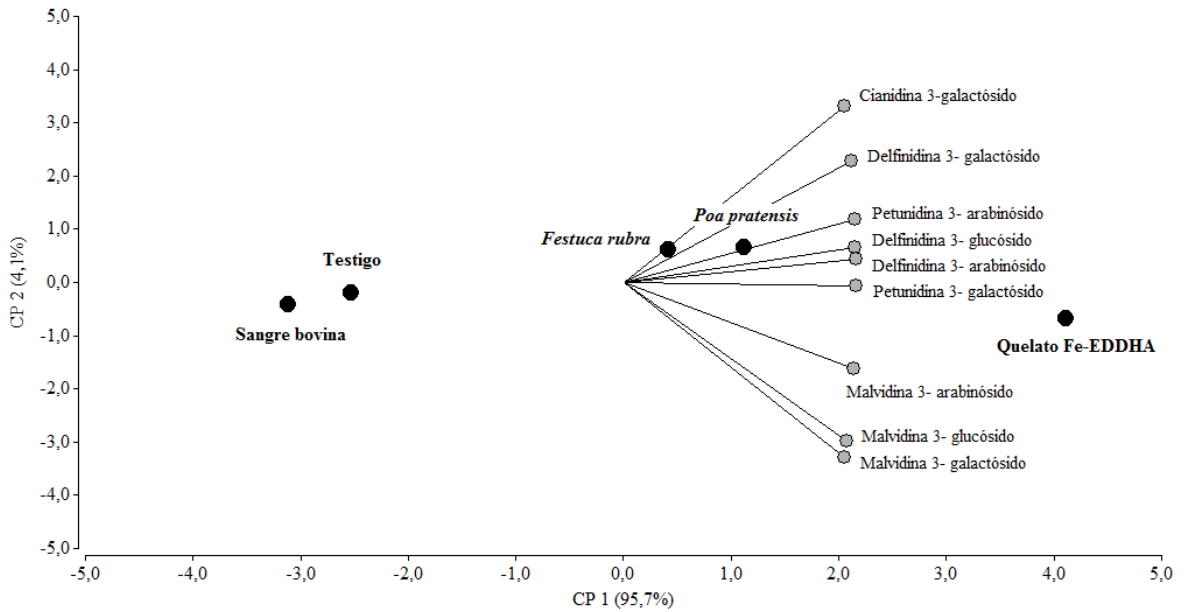


Figura 22. Biplot del ACP para los distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro en arándanos ‘Emerald’, considerando el perfil antociánico de cada repetición de los tratamientos (n=25).

Cuadro 19. Matriz de correlación de Pearson entre las diferentes antocianinas (Delf= delfinidina; Cian= cianidina; Pet= petunidina; Malv= malvidina; glucós= glucósido; galact= galactósido; arabinós= arabiósido) del perfil antociánico en las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a tratamientos de corrección del déficit de hierro.

	Delf-3-galact	Delf-3-glucós	Cian-3-galact	Delf-3-arabinós	Pet-3-galact	Pet-3-arabinós	Malv-3-galact	Malv-3-glucós
Delf-3-glucós	0,99**							
Cian-3-galact	0,99**	0,96*						
Delf-3-arabinós	0,98**	1,00**	0,956*					
Pet-3-galact	0,97**	1,00**	0,94*	1,00**				
Pet-3-arabinós	0,99**	1,00**	0,98**	1,00**	0,99**			
Malv-3-galact	0,86ns	0,92*	0,80ns	0,93*	0,95*	0,91*		
Malv-3-glucós	0,87ns	0,94*	0,82ns	0,94*	0,96*	0,92*	1,00**	
Malv-3-arabinós	0,93*	0,97**	0,89*	0,98**	0,98**	0,96**	0,99**	0,98**

\*, \*\*, ns: significativo a una probabilidad de 0,05, 0,01 y no significativo, respectivamente.

Así, la aplicación de Fe-EDDHA superó al testigo en el contenido individual de cada antocianina presente en el perfil antociánico, diferenciándose estadísticamente del mismo en todos los casos (Cuadro 20). Por su parte, la asociación con gramíneas alcanzó un contenido significativamente superior al del testigo en la mayoría de las antocianinas, con excepción de la delfinidina 3-arabinósido, malvidina 3-glucósido y malvidina 3-arabinósido, en cuyos casos no hubo diferencias significativas (Cuadro 20). Ambas gramíneas evidenciaron el mismo comportamiento, sin diferenciarse estadísticamente una de la otra. Finalmente, la aplicación de sangre bovina mostró un contenido similar a los del testigo en todas las antocianinas (Cuadro 20).

Por otro lado, la concentración, expresada como mg/g piel, evidenció una tendencia similar para cada una de las nueve antocianinas. La aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con *Poa pratensis* alcanzaron la mayor concentración en todos los casos, diferenciándose estadísticamente del testigo y de la sangre bovina (Cuadro 21). Por su parte, la asociación con *Festuca rubra* también superó significativamente al testigo, excepto en el caso de la cianidina 3-galactósido, petunidina 3-galactósido y petunidina 3-arabinósido (Cuadro 21).

Cuadro 20. Contenido, expresado en mg/fruta, de las distintas antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Antocianina (mg/fruta fresca)	Testigo	Quelato Fe-EDDHA	Sangre bovina	<i>Poa pratensis</i>	<i>Festuca rubra</i>	Significancia
Delfinidina 3-galactósido	0,010 ± 0,002 b	0,012 ± 0,001 a	0,009 ± 0,002 b	0,012 ± 0,002 a	0,012 ± 0,001 a	p= 0,0041
Delfinidina 3-glucósido	0,002 ± 0,001 b	0,004 ± 0,001 a	0,002 ± 0,001 b	0,003 ± 0,001 a	0,004 ± 0,000 a	p= 0,0005
Cianidina 3-galactósido	0,007 ± 0,001 b	0,008 ± 0,000 a	0,006 ± 0,001 b	0,008 ± 0,001 a	0,008 ± 0,001 a	p= 0,0043
Delfinidina 3-arabinósido	0,006 ± 0,001 b	0,007 ± 0,001 a	0,005 ± 0,001 b	0,006 ± 0,001 ab	0,006 ± 0,001 ab	p < 0,0001
Petunidina 3-galactósido	0,003 ± 0,001 b	0,005 ± 0,001 a	0,003 ± 0,000 b	0,004 ± 0,001 a	0,004 ± 0,001 a	p= 0,0188
Petunidina 3-arabinósido	0,003 ± 0,001 b	0,004 ± 0,001 a	0,003 ± 0,001 b	0,004 ± 0,001 a	0,004 ± 0,001 a	p= 0,0012
Malvidina 3-galactósido	0,008 ± 0,002 b	0,011 ± 0,002 a	0,008 ± 0,002 b	0,009 ± 0,003 ab	0,009 ± 0,002 b	p= 0,0165
Malvidina 3-glucósido	0,004 ± 0,001 b	0,007 ± 0,001 a	0,004 ± 0,001 b	0,005 ± 0,001 ab	0,005 ± 0,001 ab	p= 0,0196
Malvidina 3-arabinósido	0,004 ± 0,001 b	0,006 ± 0,001 a	0,004 ± 0,001 b	0,005 ± 0,001 ab	0,005 ± 0,001 ab	p= 0,0143

En cada fila se presenta el promedio ajustado ± error estándar para cada antocianina. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p<0,05).

Cuadro 21. Concentración, expresada en mg/g piel, de las distintas antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Antocianina (mg/g piel)	Testigo	Quelato Fe-EDDHA	Sangre bovina	<i>Poa pratensis</i>	<i>Festuca rubra</i>	Significancia
Delfinidina 3-galactósido	0,08 ± 0,01 c	0,12 ± 0,01 a	0,09 ± 0,01 bc	0,12 ± 0,01 a	0,11 ± 0,01 ab	p= 0,0084
Delfinidina 3-glucósido	0,026 ± 0,007 b	0,039 ± 0,007 a	0,026 ± 0,007 b	0,037 ± 0,007 a	0,034 ± 0,007 a	p= 0,0063
Cianidina 3-galactósido	0,06 ± 0,01 b	0,08 ± 0,004 a	0,06 ± 0,004 b	0,08 ± 0,01 a	0,07 ± 0,01 ab	p= 0,0185
Delfinidina 3-arabinósido	0,05 ± 0,01 b	0,07 ± 0,004 a	0,05 ± 0,004 b	0,07 ± 0,01 a	0,07 ± 0,01 a	p= 0,0104
Petunidina 3-galactósido	0,03 ± 0,002 c	0,046 ± 0,002 a	0,03 ± 0,002 c	0,038 ± 0,002 b	0,034 ± 0,002 bc	p= 0,0011
Petunidina 3-arabinósido	0,026 ± 0,002 b	0,036 ± 0,002 a	0,025 ± 0,002 b	0,034 ± 0,002 a	0,031 ± 0,002 ab	p= 0,0195
Malvidina 3-galactósido	0,08 ± 0,01 bc	0,11 ± 0,01 a	0,07 ± 0,01 c	0,10 ± 0,01 ab	0,10 ± 0,01 ab	p= 0,0180
Malvidina 3-glucósido	0,039 ± 0,004 c	0,062 ± 0,004 a	0,037 ± 0,004 bc	0,057 ± 0,004 a	0,052 ± 0,004 ab	p= 0,0053
Malvidina 3-arabinósido	0,03 ± 0,003 b	0,05 ± 0,003 a	0,03 ± 0,003 b	0,05 ± 0,003 a	0,05 ± 0,003 a	p= 0,0134

En cada fila se presenta el promedio ajustado ± error estándar para cada antocianina. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p<0,05).

## Fenoles de bajo peso molecular

El cromatograma entregado por el HPLC-DAD reveló la presencia de numerosos fenoles de bajo peso molecular (BPM) en la piel de los arándanos (Figura 21). El orden de aparición, dado por el tiempo de retención, permitió identificar los más importantes, es decir aquellos que se encuentran presentes en mayor cantidad. Así, de izquierda a derecha, cada ‘peak’ del cromatograma, corresponde a los fenoles BPM: (1) ácido gálico; (2) ácido protocatéquico; (3) ácido vainillínico; (4) éster del ácido coumárico; (5) catequina; (6) esculetina; (7) ácido cafeico *cis*; (8) ácido cafeico *trans*; (9) galato de procianidina; (10) asiltibina; (11) epicatequina; (12) procianidina; (13) ácido férulico; (14) quercetina (Figura 23).

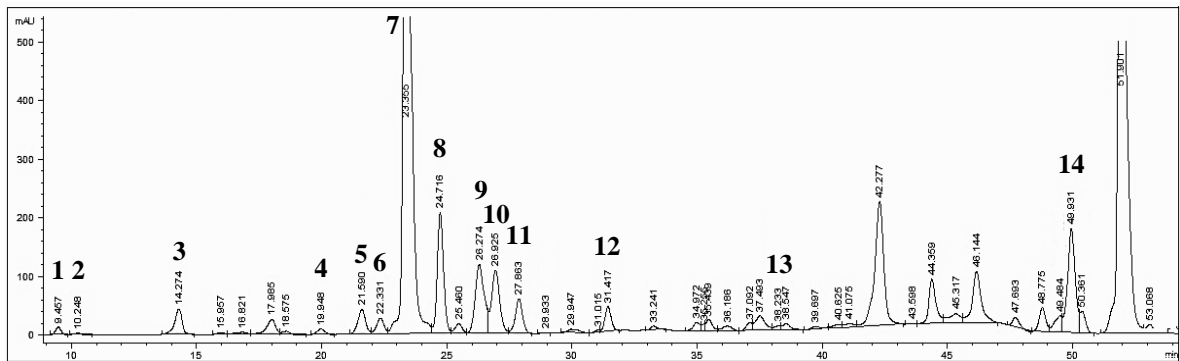


Figura 23. Cromatograma del perfil fenólico de bajo peso molecular en las pieles de arándanos ‘Emerald’.

Las aplicaciones de Fe-EDDHA y la asociación con *Poa pratensis* incrementaron el contenido total de fenoles BPM respecto del testigo, diferenciándose significativamente de éste. La *Festuca rubra* también mostró un contenido mayor que el testigo, pero sin diferenciarse estadísticamente. Por su parte, la aplicación de sangre bovina tuvo un contenido similar al testigo (Cuadro 22).

Respecto de la concentración total de fenoles BPM, no se observaron diferencias significativas entre tratamientos cuando se expresó en mg/g fruta (Cuadro 21). Sin embargo, cuando la concentración se expresó en mg/g piel, las plantas tratadas con Fe-EDDHA, y aquellas asociadas con especies gramíneas, evidenciaron los mayores valores, con diferencias estadísticas respecto a las plantas testigo y las tratadas con sangre bovina (Cuadro 22).

Cuadro 22. Contenido, expresado en mg/fruta, y concentración, expresada en mg/g fruta y mg/g piel del total de los fenoles de bajo peso molecular seleccionados del perfil de pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Contenido	Concentración	Concentración
	fenoles BPM	fenoles BPM	fenoles BPM
	mg/fruta	mg/g fruta	mg/g piel
Testigo	0,09 ± 0,30 bc	0,05 ± 0,01	0,71 ± 0,07 b
Quelato Fe-EDDHA	0,14 ± 0,30 a	0,06 ± 0,01	1,37 ± 0,13 a
Sangre bovina	0,08 ± 0,30 c	0,05 ± 0,01	0,86 ± 0,07 b
<i>Poa pratensis</i>	0,14 ± 0,30 a	0,07 ± 0,01	1,31 ± 0,11 a
<i>Festuca rubra</i>	0,13 ± 0,20 ab	0,07 ± 0,01	1,38 ± 0,14 a
Significancia	p= 0,0001	n.s.	p<0,0001

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

Dentro de los principales compuestos fenólicos, el grupo de los ácidos cinámicos alcanzó la mayor proporción, siendo de un 35-40% del total, independientemente del tratamiento considerado. Luego, y en orden decreciente, le siguió el grupo de las antocianinas, con un 30-35%; los flavanoles, con un 12-15%; los flavonoles, con un 7-11% y, finalmente, los ácidos benzoicos y las cumarinas, con menos de un 6% (Figura 24).

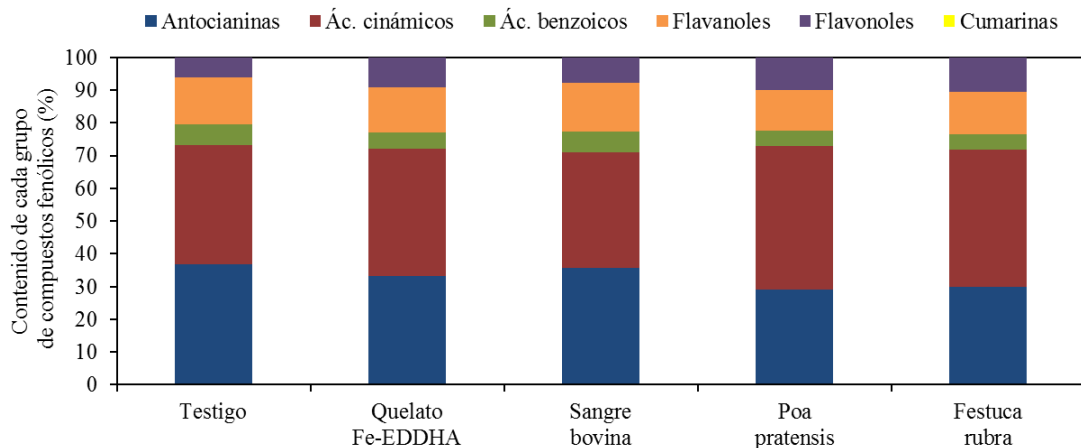


Figura 24. Contenido porcentual de cada uno de los principales grupos de compuestos fenólicos presentes en el perfil fenólico de la piel de arándanos ‘Emerald’, es decir antocianinas, ácidos cinámicos, ácidos benzoicos, flavanoles, flavonoles y cumarinas.

Asimismo, independiente del tratamiento, el compuesto predominante, dentro de cada grupo fenólico, es el mismo en todos los casos. En el grupo de los ácidos benzoicos, el ácido vainillínico estuvo presente en mayor cantidad. En el caso de los ácidos cinámicos, el

predominante fue el ácido cafeico *cis*. Dentro del grupo de los flavonoles destaca la epicatequina y, finalmente, entre los flavanoles toma importancia la astilbina (Cuadro 23).

Cuadro 23. Contenido porcentual de los ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, flavanoles y flavonoles más importantes, presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, de pieles de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Grupo fenólico	Compuesto	Tratamiento				
		Testigo	Quelato Fe-EDDHA	Sangre bovina	<i>Poa pratensis</i>	<i>Festuca rubra</i>
Ácidos benzoicos	Protocatéquico	0,86	0,45	0,50	0,42	0,46
	Gálico	2,90	2,23	3,25	2,27	2,59
	<b>Vainillínico</b>	<b>5,70</b>	<b>4,01</b>	<b>5,99</b>	<b>3,82</b>	<b>4,26</b>
Ácidos cinámicos	Ferúlico	0,86	0,82	0,75	1,70	0,68
	<b>Cafeico-<i>cis</i></b>	<b>50,96</b>	<b>53,48</b>	<b>45,44</b>	<b>51,41</b>	<b>48,63</b>
	Cafeico- <i>trans</i>	6,99	7,71	8,99	7,29	9,28
Flavanoles	Procianidina	1,61	0,82	1,00	1,56	2,66
	Catequina	5,81	6,75	5,62	6,94	4,95
	<b>Epicatequina</b>	<b>13,76</b>	<b>19,57</b>	<b>16,23</b>	<b>9,42</b>	<b>13,09</b>
Flavonoles	Quercetina	1,83	1,56	2,75	1,42	1,60
	<b>Astilbina</b>	<b>8,71</b>	<b>12,61</b>	<b>9,49</b>	<b>13,74</b>	<b>11,79</b>
	Esculetina	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01

Un análisis de componentes principales entre los distintos grupos de fenoles BPM muestra que la componente principal 1 (CP1) explica el 86,7% de la variabilidad, y la componente principal 2 (CP2), el 10,3%, es decir que, entre ambas CP, se explica el 97% de la variabilidad total (Figura 25). La separación de los tratamientos indica una alta variabilidad de los mismos, es decir que son muy distintos. A su vez, esta alta variabilidad de los tratamientos se debe a la alta correlación que existe entre los grupos de fenoles de bajo peso molecular (Cuadro 24).

La concentración foliar de clorofila se correlacionó positiva y significativamente con todas las variables consideradas (Cuadro 24). Dado que el ángulo que forman los vectores de dos variables es proporcional a la correlación que existe entre ellas, la concentración de clorofila está más correlacionada con el peso de fruto, flavonoles, cumarinas y ácidos benzoicos que con las demás variables (Figura 25), lo que puede apreciarse, a su vez, en la matriz de correlación de Pearson entre las distintas variables (Cuadro 24). A su vez, los distintos grupos de fenoles BPM están correlacionadas positivamente entre sí, puesto que presentan un ángulo agudo entre ellos (Figura 25). Por otro lado, todos los grupos de fenoles están proyectados hacia la derecha del Biplot y los tratamientos que se orientan en la misma dirección son el Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas (Figura 25), es

decir los tratamientos que corrigieron la clorosis férrica inicial del arándano (Capítulo II), lo que permite inferir que estos tratamientos tendrán un mayor contenido de los grupos de fenoles presentes en el perfil antociánico. En contraste, el testigo y la sangre bovina, los tratamientos que tuvieron una menor concentración foliar de clorofila, evidenciarán un menor contenido de los distintos fenoles, al estar orientados hacia el lado izquierdo del Biplot (Figura 25).

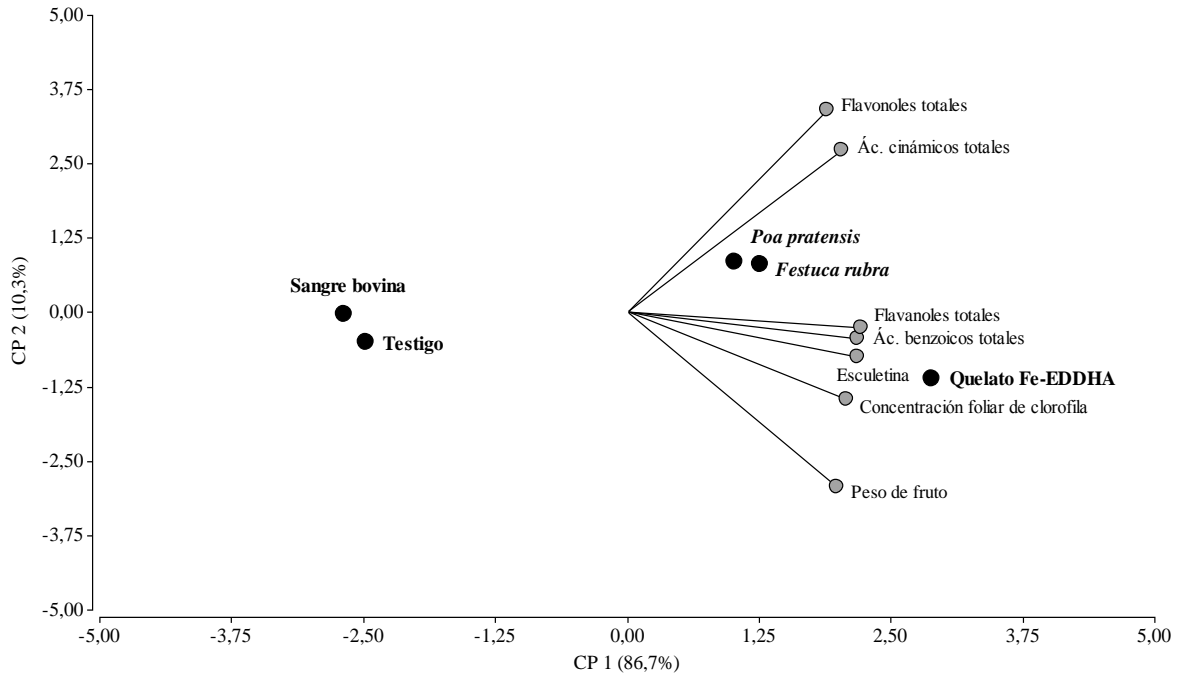


Figura 25. Biplot del ACP para los distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro en arándanos 'Emerald', considerando el perfil fenólico de bajo peso molecular de cada repetición de los tratamientos (n=25).

Cuadro 24. Matriz de correlación de Pearson entre la concentración foliar de clorofila, peso de fruto, contenido de ácidos benzoicos, ácidos cinámicos, flavanoles, flavonoles y cumarinas totales en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

	Conc. Clorofila	Peso de fruto	Ác. benzoicos	Ác. cinámicos	Flavanoles	Flavonoles
Peso de fruto	0,92*					
Ác. benzoicos	0,86*	0,90*				
Ác. cinámicos	0,74*	0,62ns	0,87			
Flavanoles	0,92*	0,91*	0,97*	0,88*		
Flavonoles	0,69*	0,52ns	0,77	0,98**	0,82ns	
Cumarinas	0,90*	0,90*	0,98**	0,84ns	0,94*	0,74ns

\*, \*\*, ns: significativo a una probabilidad de 0,05, 0,01 y no significativo, respectivamente.

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de todos los ácidos fenólicos considerados, a excepción del ácido ferúlico (Cuadro 25). El contenido de cada uno de los ácidos fenólicos siguió la misma tendencia para los distintos tratamientos,



de tal forma que aquellos tratamientos con una mayor concentración foliar de clorofila, al momento de muestro, mostraron un mayor contenido de los ácidos considerados, y las menores concentraciones de clorofila tuvieron un menor contenido de los mismos.

Las plantas tratadas con Fe-EDDHA y aquellas asociadas con ambas gramíneas evidenciaron un mayor contenido de los ácidos considerados respecto del testigo. En el caso del ácido protocatéquico, las plantas bajo asociación con gramíneas no se diferenciaron significativamente del testigo. Ambas gramíneas se comportaron de una manera muy similar, diferenciándose entre ellas sólo en el contenido del ácido gálico, en cuyo caso la *Poa pratensis* destacó sobre la *Festuca rubra*. Finalmente, la sangre bovina evidenció valores similares a los del testigo, diferenciándose de éste en el contenido de ácido gálico y ácido cafeico *trans* (Cuadro 25).

Cuadro 25. Contenido, expresado en mg/fruta fresca, de los ácidos cinámicos y benzoicos presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Ácidos benzoicos			Ácidos cinámicos		
	Protocatéquico	Gálico	Vainillínico	Ferúlico	Cafeico <i>cis</i>	Cafeico <i>trans</i>
	mg/fruta					
Testigo	0,0004 ± 0,0012	0,0026 ± 0,0002 e	0,0052 ± 0,0006 c	0,0019 ± 0,0006	0,047 ± 0,030 b	0,007 ± 0,002 d
Quelato Fe-EDDHA	0,0008 ± 0,0002	0,0034 ± 0,0005 a	0,0056 ± 0,0007 a	0,0020 ± 0,0004	0,064 ± 0,025 a	0,012 ± 0,003 a
Sangre bovina	0,0004 ± 0,0001	0,0027 ± 0,0002 d	0,0048 ± 0,0004 c	0,0019 ± 0,0004	0,036 ± 0,011 b	0,007 ± 0,001 c
<i>Poa pratensis</i>	0,0006 ± 0,0003	0,0032 ± 0,0002 b	0,0054 ± 0,0004 ab	0,0022 ± 0,0008	0,072 ± 0,017 a	0,010 ± 0,003 ab
<i>Festuca rubra</i>	0,0006 ± 0,0001	0,0030 ± 0,0003 c	0,0055 ± 0,0002 ab	0,0024 ± 0,0021	0,073 ± 0,035 a	0,010 ± 0,003 bc
Significancia	p= 0,0061	p<0,0001	p<0,0001	n.s.	p<0,0001	p=0,0010

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher (p<0,05). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

Por otro lado, la concentración, expresada como mg/g piel, siguió la misma tendencia que el contenido, es decir que los tratamientos con una mayor concentración foliar de clorofila, al momento de muestro, fueron los que evidenciaron una mayor concentración. Así, las plantas tratadas con Fe-EDDHA y aquellas asociadas con *Poa pratensis* tuvieron un valor significativamente mayor que el testigo, y que las plantas tratadas con sangre bovina, en todos los ácidos evaluados (Cuadro 26). Por su parte, la asociación con *Festuca rubra* también superó la concentración del testigo y de la sangre bovina en todos los casos, pero esto sólo resultó significativo en el caso del ácido protocatéquico y cafeico *cis* (Cuadro 26). No se observaron diferencias significativas para el ácido ferúlico (Cuadro 26).

Cuadro 26. Concentración, expresada en mg/g piel, de los ácidos cinámicos y benzoicos presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Ácidos benzoicos			Ácidos cinámicos		
	Protocatéquico	Gálico	Vainillínico	Ferúlico	Cafeico <i>cis</i>	Cafeico <i>trans</i>
	mg/g piel					
Testigo	0,0043 ± 0,0007	0,025 ± 0,002 c	0,046 ± 0,002 b	0,006 ± 0,002	0,37 ± 0,08 b	0,06 ± 0,01 b
Quelato Fe-EDDHA	0,0056 ± 0,0005	0,032 ± 0,002 a	0,059 ± 0,002 a	0,008 ± 0,002	0,70 ± 0,07 a	0,10 ± 0,01 a
Sangre bovina	0,0040 ± 0,0006	0,026 ± 0,002 bc	0,043 ± 0,003 b	0,006 ± 0,002	0,35 ± 0,07 b	0,07 ± 0,01 b
<i>Poa pratensis</i>	0,0052 ± 0,0006	0,031 ± 0,002 a	0,050 ± 0,002 ab	0,009 ± 0,003	0,67 ± 0,07 a	0,10 ± 0,01 a
<i>Festuca rubra</i>	0,0052 ± 0,0005	0,030 ± 0,002 ab	0,049 ± 0,002 ab	0,009 ± 0,004	0,73 ± 0,08 a	0,09 ± 0,01 ab
Significancia	p= 0,0285	p= 0,0194	p= 0,029	n.s.	p<0,0001	p= 0,0446

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p < 0,05$ ). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

Se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de todos los flavanoles, flavonoles y cumarinas considerados, a excepción de la procianidina y la quercetina (Cuadro 27). El contenido de cada uno de ellos siguió una tendencia similar para los distintos tratamientos, de tal forma que aquellos tratamientos con una mayor concentración foliar de clorofila, al momento de muestro, mostraron un mayor contenido de estos compuestos, y los de menor concentración tuvieron un menor contenido de los mismos.

En el caso de la epicatequina, las plantas tratadas con Fe-EDDHA tuvieron el mayor contenido, con diferencias estadísticas respecto del testigo. La sangre bovina evidenció un contenido similar al del testigo, por lo que no se diferenció del mismo. Por su parte, la asociación con ambas gramíneas manifestó un valor intermedio al de los tratamientos descritos, sin diferenciarse del testigo y tampoco entre ellas (Cuadro 27).

En el caso de la catequina y la astilbina, la asociación con ambas gramíneas alcanzó el mayor contenido, diferenciándose estadísticamente del resto de los tratamientos. La aplicación de Fe-EDDHA también alcanzó un contenido mayor al del testigo, con diferencias significativas respecto del mismo. La aplicación de sangre bovina tuvo un contenido similar al testigo (Cuadro 27).

Finalmente, el mayor contenido de esculetina lo evidenciaron la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas, pero sólo el Fe-EDDHA y la *Poa pratensis* se diferenciaron estadísticamente del testigo. La sangre bovina mostró un contenido menor al del testigo, pero sin diferencias significativas respecto de éste (Cuadro 27).

Cuadro 27. Contenido, expresado en mg/fruta fresca, de los principales flavanoles, flavonoles y cumarinas presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Flavanoles			Flavonoles		Cumarinas
	Procianidina	Catequina	Epicatequina	Quercetina	Astilbina	Esculetina
	mg/fruta					
Testigo	0,002 ± 0,002	0,005 ± 0,0021 c	0,0125 ± 0,003 b	0,0017 ± 0,0005	0,008 ± 0,01 c	8,8E-06 ± 0,000 bc
Quelato Fe-EDDHA	0,004 ± 0,004	0,007 ± 0,0025 b	0,0172 ± 0,003 a	0,0021 ± 0,0005	0,016 ± 0,01 b	1,2E-05 ± 0,000 a
Sangre bovina	0,004 ± 0,001	0,005 ± 0,0014 c	0,0130 ± 0,003 b	0,0022 ± 0,0006	0,008 ± 0,01 c	6,4E-06 ± 0,000 c
<i>Poa pratensis</i>	0,001 ± 0,001	0,009 ± 0,0017 a	0,0129 ± 0,003 ab	0,0021 ± 0,0008	0,017 ± 0 a	1,1E-05 ± 0,000 a
<i>Festuca rubra</i>	0,002 ± 0,002	0,010 ± 0,0045 a	0,0133 ± 0,002 ab	0,0020 ± 0,0005	0,019 ± 0,01 a	1,0E-05 ± 0,000 ab
Significancia	n.s.	p<0,0001	p=0,0014	n.s.	p<0,0001	p=0,0074

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p<0,05$ ). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

Por otro lado, la concentración de los flavanoles, flavonoles y cumarinas, expresada como mg/g piel, se comportó de una manera similar al contenido, es decir que tratamientos con una mayor concentración foliar de clorofila, al momento de muestro, tuvieron una mayor concentración de estos compuestos. Así, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con gramíneas manifestaron un valor superior al del testigo y la aplicación de sangre bovina, con diferencias estadísticas en todos los casos, con excepción de la esculetina. En este caso, las plantas bajo asociación no se diferenciaron significativamente del testigo (Cuadro 28). No se observaron diferencias significativas entre tratamientos para la procianidina y la quercetina (Cuadro 28).

Cuadro 28. Concentración, expresada en mg/g piel, de los principales flavanoles, flavonoles y cumarinas presentes en el perfil fenólico de bajo peso molecular, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

Tratamiento	Flavanoles			Flavonoles		Cumarinas
	Procianidina	Catequina	Epicatequina	Quercetina	Astilbina	Esculetina
	mg/g piel					
Testigo	0,010 ± 0,003	0,04 ± 0,01 d	0,10 ± 0,01 c	0,016 ± 0,003	0,05 ± 0,02 b	8,2E-05 ± 0,000 bc
Quelato Fe-EDDHA	0,014 ± 0,005	0,07 ± 0,01 c	0,16 ± 0,01 a	0,023 ± 0,003	0,14 ± 0,03 a	1,2E-04 ± 0,000 a
Sangre bovina	0,011 ± 0,003	0,05 ± 0,01 d	0,11 ± 0,01 bc	0,020 ± 0,003	0,07 ± 0,02 b	6,3E-05 ± 0,000 c
<i>Poa pratensis</i>	0,011 ± 0,003	0,09 ± 0,01 b	0,16 ± 0,01 a	0,023 ± 0,003	0,17 ± 0,04 a	9,7E-05 ± 0,000 ab
<i>Festuca rubra</i>	0,020 ± 0,006	0,13 ± 0,01 a	0,14 ± 0,01 b	0,019 ± 0,003	0,19 ± 0,04 a	1,0E-04 ± 0,000 ab
Significancia	n.s.	p<0,0001	p<0,0001	n.s.	p=0,0007	p=0,0016

En cada columna se presenta el promedio ajustado ± error estándar. Medias ajustadas con letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas entre tratamientos, según la prueba de comparación múltiple LSD Fisher ( $p<0,05$ ). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

## DISCUSIÓN

Numerosos reportes acerca de los beneficios que tiene para la salud humana una dieta rica en antioxidantes ha impulsado a los investigadores a estudiar los factores que influyen en el contenido de los mismos dentro de las frutas y vegetales (Farnham et al., 1999; Goldman et al., 1999; Grusak et al., 1999; Kochian y Garvin, 1999). Se observó que, en el caso de los fenoles totales, la concentración estuvo en un rango de 3,47 y 3,71 mg EAG/g fruta, mientras que los valores encontrados en la literatura son de 1,81-3,90 (Prior et al., 1998); 0,47-1,99 (Ehlenfeldt y Prior, 2001); 2,50-5,20 (Mainland y Tucker, 2000); 1,71-7,57 (Moyer et al., 2002); 1,06-1,18 (Taruscio et al., 2004) y 2,51-3,10 (Giovanelli y Buratti, 2009). Lo mismo ocurrió con la concentración de antocianos totales, la cual varió entre 0,91 y 1,19 mg malvidina/g fruta, un rango más estrecho y de un máximo inferior al encontrado por otros autores: 0,25-4,95 (Mazza y Miniati, 1993); 0,93-2,35 (Prior et al., 1998); 0,39-3,31 (Ehlenfeldt y Prior, 2001); 0,70-1,90 (Mainland y Tucker, 2000); 0,73-4,30 (Moyer et al., 2002) y 2,51-3,10 (Giovanelli y Buratti, 2009). Estas diferencias se deben a que la concentración fenólica en el arándano está influenciada por numerosos factores, entre los que destacan genotipo (Prior et al., 1998; Ehlenfeldt y Prior, 2001; Connor et al., 2002a; Kalt et al., 2001), temporada y ubicación geográfica (Prior et al., 1998; Connor et al., 2002a; Moyer et al., 2002), madurez de la fruta (Prior et al., 1998; Moyer et al., 2002) y condiciones de almacenamiento poscosecha (Kalt et al., 1999; Connor et al., 2002b). De hecho, ya se han reportado distintas concentraciones fenólicas entre dos especies del mismo género (García-Viguera et al., 1993; Moyer et al., 2002; Taruscio et al., 2004) e, incluso, entre dos variedades de la misma especie (Tomas-Barberán et al., 1997; Dupont et al., 2000; Kalt et al., 2001; Mainland y Tucker, 2000; Taruscio et al., 2004).

Por su parte, el cromatograma del perfil antociánico reveló la presencia de 9 antocianinas, mientras que han sido reportadas 13 en Italia (Giovanelli y Buratti, 2009), 15 en Francia (Kader et al., 1996), 25 en Canadá (Gao y Mazza, 1994), 15 en algunos lugares de EE.UU. (Ballington et al., 1982; Ballington et al., 1987; Mazza y Miniati, 1993) y 10 en otros (Sapers et al., 1984). Los compuestos presentes en el perfil antociánico fueron identificados como galactósidos, glucósidos y arabinósidos de delfinidina, cianidina, petunidina y malvidina, tal como se ha encontrado en estudios previos (Kader et al., 1996; Taruscio et al., 2004; Giovanelli y Buratti 2009); sin embargo, no se detectó la presencia de peonidina, en contraste con otros trabajos (Kader et al., 1996; Tomás-Barberán y Espín, 2001; Lohachoompol et al., 2008; Giovanelli y Buratti, 2009). Las antocianinas predominantes fueron la delfinidina y la malvidina, representando un 40% y 30% del total, respectivamente, seguidas de la cianidina y petunidina en igual cantidad, lo que coincide con Kader et al. (1996), Taruscio et al. (2004) y Giovanelli y Buratti (2009). Por su parte, las antocianinas presentes en mayor cantidad fueron la delfinidina 3-galactósido, malvidina 3-galactósido, cianidina 3-galactósido y delfinidina 3-arabinósido, al igual que observaron Ballinger et al. (1970), Kader et al. (1996), y Giovanelli y Buratti (2009). Las antocianinas representaron el 30-35% de los fenoles totales, en consonancia con lo reportado para otras variedades de *V. corymbosum* (Lee et al., 2004; Moyer et al., 2002; Prior et al., 1998; Sellapan et al., 2002; Giovanelli y Buratti, 2009).

Al respecto, se han encontrado con anterioridad numerosas variaciones en el contenido y la composición antociánica entre distintas especies del género *Vaccinium* y entre distintos genotipos de la misma especie (Kalt et al., 1999). Según Sapers et al. (1984), estas diferencias pueden ser atribuidas al grado de madurez del fruto puesto que, en el arándano, la maduración se asocia con el desarrollo de las antocianinas en las células epidérmicas y subepidérmicas de la baya (Ballinger et al., 1972). Sumado a ello, la cuantificación de las antocianinas individuales ha sido y continúa siendo limitado debido a la escasez en la disponibilidad de estándares apropiados (Prior et al., 2001).

En el caso de los fenoles de bajo peso molecular (BPM), el grupo que estuvo presente en mayor cantidad fue el de los ácidos cinámicos, tal como reportaron anteriormente Häkkinen et al. (1999). Dentro de los ácidos cinámicos, predominó el ácido cafeico, mientras que el ácido ferúlico estuvo presente en muy bajas cantidades, al igual que encontraron Stöhr y Herrmann (1975), Häkkinen y Törrönen (2000) y Taruscio et al. (2004), pero no Häkkinen et al. (1999), quienes observaron que el ácido ferúlico fue el principal. Por otro lado, no se detectó la presencia del ácido *p*-coumárico en el perfil fenólico, coincidiendo con Häkkinen y Törrönen (2000), y en contraste con Sellapan et al. (2002). Sin embargo, se ha reportado que la capacidad antioxidante del ácido cafeico es mayor que la del ácido *p*-coumárico (Zheng y Wang, 2003). En el grupo de los ácidos benzoicos, el contenido, en orden decreciente, fue de ácido vainillínico, gálico y protocatéuico, tal como ha sido indicado para una baya madura de arándano alto (Fernández de Simón et al., 1992). Por su parte, dentro de los flavanoles, la epicatequina alcanzó un contenido notablemente mayor que la catequina, al igual que encontraron Taruscio et al. (2004) en nueve especies distintas de *Vaccinium*. Finalmente, de los flavonoles, la astilbina evidenció un mayor contenido que la quercetina, y no se detectaron miricetina ni kaempferol, tal como reportaron Taruscio et al. (2004). Al respecto, Bilik y Sapers (1986) han señalado que las bayas maduras de arándano contienen principalmente quercetina, y no kaempferol o miricetina. Sin embargo, Kader et al. (1996) y Sellapan et al. (2002) sí encontraron kaempferol en sus cromatogramas, aunque en menor cantidad que la quercetina; de hecho, se ha reportado que la quercetina es el principal flavonol en el arándano (Kader et al., 1996; Häkkinen, et al., 1998).

En este sentido, las diferencias de resultados entre los distintos trabajos han sido atribuidas no sólo al origen de las variedades de arándanos (Bilyk y Sapers, 1986; Amiot et al., 1995) sino también al grado de madurez (Prior et al., 1998), condiciones climáticas (Dixon y Paiva, 1995) y manejos agronómicos (Kader et al., 1996). De hecho, dado que la composición y el contenido de compuestos fenólicos en el arándano varían ampliamente según el cultivar, la temporada y el lugar de cultivo, es difícil proporcionar datos únicos y absolutos (Giovanelli y Buratti, 2009). Sumado a ello, se ha mencionado que realizar una comparación de la composición fenólica de bayas con la literatura es sumamente difícil debido a los numerosos y muy variados métodos analíticos utilizados (Hertog et al., 1992; Heinonen et al., 1998; Häkkinen et al., 1999; Skupieñ, 2006).

Cabe mencionar que este es el primer reporte del contenido, concentración y composición fenólica y antociánica en el arándano ‘Emerald’ cultivado en Chile. En este sentido, si bien la composición fenólica y la capacidad antioxidante del arándano está más afectada por el genotipo que por la temporada de crecimiento, dado que un mismo genotipo varía significativamente de una temporada a la siguiente, es recomendable evaluar la misma

especie durante varios años, a fin de determinar si el genotipo en cuestión mantiene sus propiedades fenólicas en el tiempo, y descubrir si es realmente rico en antioxidantes fenólicos (Howard et al., 2003).

Por otro lado, un análisis de la matriz de correlación de Pearson, en la que se incluyeron algunas características de la piel y la composición fenólica del extracto, permitió identificar la relación que existe entre las variables consideradas, y comprender la naturaleza de la misma. En primer lugar, la concentración foliar de clorofila afectó tanto la carga frutal ( $r=0,59$ ) como el peso de fruto ( $r=0,97$ ), puesto que se correlacionó positiva y significativamente con ambos, mientras que la carga frutal y el peso de fruto no se correlacionaron de manera significativa; por lo tanto, las diferencias observadas en el peso de fruto son un efecto de los tratamientos, que afectaron la concentración foliar de clorofila, y no de la carga frutal presente. En este sentido, existen reportes previos de que el control de la clorosis férrica conduce a un incremento de la carga frutal (Loupassaki et al., 1995), del peso de fruto (Pérez-Sanz et al., 1997, citados por Álvarez-Fernández et al., 2006), o bien, de ambas (Sanz et al. 1997; Álvarez-Fernández et al., 2003). De esta manera, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas manifestaron una carga frutal y peso promedio de fruto superior al testigo, dado que tenían una mayor concentración de clorofila al momento del muestreo. Es importante mencionar que, para todos los tratamientos, el peso promedio de fruto de la muestra fue superior al peso promedio de fruto de la cosecha total (Capítulo IV), por lo cual debe recordarse que la muestra estaba formada sólo por 200 frutos, y que fue tomada en la tercera fecha de cosecha, lo que significa que ya se había recolectado cierto porcentaje de la producción total y, por lo tanto, los frutos remanentes pudieron aumentar su tamaño, dada la menor competencia (Apéndice IV, Figura 10).

Por su parte, el peso de fruto se correlacionó de manera negativa y significativa con la relación piel/pulpa ( $r=-0,80$ ). Al respecto, es sabido que un fruto de mayor peso tiene una menor relación piel/pulpa (Ojeda et al., 2002), puesto que para un determinado volumen de fruto, la cantidad de piel o superficie disminuye a medida que aumenta el tamaño de la baya (Connor et al., 2002a; Moyer et al., 2002; Howard et al., 2003). A su vez, el peso de fruto se correlacionó positivamente con el contenido de fenoles totales ( $r=0,74$ ) y de antocianos totales ( $r=0,94$ ). Esto tiene sentido si se considera que, en el arándano alto, cerca del 40% de los fenoles totales está representado por los antocianos (Kalt et al., 2003), que éstos se encuentran mayoritariamente en la piel (Mainland y Tucker, 2000; Moyer et al., 2002), y que un fruto más grande tiene una mayor cantidad de piel en comparación con uno más pequeño (Apéndice IV, Figura 12). A su vez, la correlación entre la intensidad colorante y el peso de fruto ( $r=0,93$ ) se debe a que los antocianos son los flavonoides responsables del color y, por ello, el contenido de antocianos totales también está altamente correlacionado con la intensidad colorante del extracto ( $r=0,98$ ).

Así, y con base en lo anteriormente expuesto, como la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas tuvieron un mayor peso de fruto en comparación con el testigo, mostraron una menor relación piel/pulpa que éste y, como consecuencia, una mayor intensidad colorante, contenido de fenoles totales y de antocianos totales. Cabe destacar que, si bien las diferencias entre tratamientos, para las variables fenólicas consideradas, se debieron al tamaño de fruto, dado que éste se vio modificado por la concentración foliar de

clorofila, entonces esta concentración afectó indirectamente dichas variables. En el caso de la aplicación de sangre bovina, puesto que su concentración de clorofila al momento del muestreo no superó al testigo, no se diferenció del mismo en ningún parámetro evaluado.

Ha sido ampliamente señalado que un cambio en el peso de fruto suele conducir a una modificación en la concentración de los compuestos fenólicos de la baya, debido a que esta concentración se ve indirectamente afectada por el tamaño de la misma, al depender de la relación piel/pulpa, o superficie/volumen (Matthews y Anderson, 1988; Ojeda et al., 2002; Roby y Matthews, 2004; Roby et al., 2004). Así, un aumento en el peso de fruto conduce a una menor concentración de los fenoles totales, al acentuar el proceso de dilución (Ginestar et al., 1998; Ojeda et al., 2002). Sin embargo, los resultados del presente estudio no se condicen con esto, puesto que no se observaron diferencias significativas entre tratamientos en la concentración, expresada como mg/g fruta, de fenoles, antocianos y taninos totales, a pesar de las diferencias encontradas en el tamaño de la baya. De esta manera, el aumento en el peso de fruto incrementó el contenido fenólico, dada la mayor cantidad de piel, pero no afectó la concentración fenólica, en mg/g piel, debido a que la síntesis de estos compuestos fue mayor en los tratamientos que corrigieron la clorosis férrica, es decir, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con gramíneas. Este comportamiento probablemente se deba a que el hierro está involucrado en la ruta de síntesis de las antocianidinas (Anexo I, Figura 7), al actuar como cofactor de la enzima antocianidina sintasa (ANS) (Saito et al., 1999; Turnbull et al., 2000; Nakajima et al., 2001), la cual requiere de un centro de hierro ferroso para catalizar la reacción que convierte los dihidroflavonoles (flavan-3,4-diol) en antocianidinas (Turnbull et al., 2004).

Así, a pesar de que las aplicaciones de Fe-EDDHA y la asociación con gramíneas aumentaron el tamaño de fruto, la concentración, en mg/ g piel, de antocianos totales, antocianidinas y fenoles totales aumentó, porque había suficiente hierro disponible para la enzima ANS, por lo cual la síntesis de estos compuestos no se vio afectada. En el caso del testigo y la aplicación de sangre bovina, los cuales no aumentaron el peso de fruto, la concentración, en mg/g fruta, debería haber sido mayor, al no haber un efecto de dilución, pero dado que no contaban con el hierro necesario para un adecuado funcionamiento de la enzima ANS, la síntesis de compuestos fue menor y, así, estos tratamientos alcanzaron una concentración similar al resto. De esta manera, las variables contenido (mg/fruta) y concentración (mg/g piel) covariaron positivamente con el peso de fruto, resultando en una concentración conservada de los mg/g fruta (Apéndice IV, figura 13), y explicando, así, que no se encontraran diferencias entre tratamientos para esta variable. Este mismo análisis puede hacerse para el caso de algunos grupos de los fenoles BPM, puesto que el hierro también participa en su ruta de síntesis (Anexo I, Figura 7), actuando como cofactor de las enzimas flavanona-3 $\beta$ -hidroxilasa (F3H), que cataliza el paso de las flavanonas a los flavanonoles, y la flavonol sintasa (FLS), encargada de transformar los flavanonoles a flavonoles. En este sentido, se ha señalado que las reacciones de oxidación que involucran enzimas dependientes del hierro juegan un rol central en la biosíntesis de los flavonoides (Heller y Forkmann, 1993; Saito y Zamazki, 2002; Springob et al., 2003).

En este punto, es apropiado mencionar que el mayor contenido (mg/fruta) y concentración (mg/g piel) de antocianos y fenoles BPM totales, alcanzados por la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con gramíneas, respecto del testigo, quedó explicado, luego, por el

mayor contenido y concentración individual de cada una de las antocianidinas y fenoles BPM evaluados.

Por otro lado, no se encontraron reportes que ayudaran a explicar por qué un mejor estado nutricional férrico condujo a mantener la concentración, en mg/g piel, de los ácidos fenólicos, tanto cinámicos como benzoicos, a pesar del mayor contenido, por lo que se presume que el hierro también estaría participando, de alguna manera, quizá como constituyente de otras enzimas, en la ruta de síntesis de los compuestos no flavonoides. En vista de ello, más estudios son necesarios para dilucidar esta inquietud. Sin embargo, una posible aproximación está basada en la alta tasa de fotosíntesis que demostraron las plantas tratadas con Fe-EDDHA y aquellas asociadas con gramíneas, en comparación con el testigo (Capítulo II), hipótesis apoyada por el hecho de que la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos en la baya, a lo largo de la maduración, están muy influenciadas por la capacidad fotosintética de la planta (Pirie y Mullins, 1980; Smart y Robinson, 1991). De hecho, la síntesis de los compuestos fenólicos es una consecuencia colateral de la formación y acumulación de azúcares en la baya, puesto que a partir de las hexosas se obtienen compuestos intermediarios que ingresan a la vía del ácido siquímico y forman los ácidos benzoicos y aminados, terminando en la formación de otros polifenoles como flavonoles, flavanoles, antocianos o taninos (Hidalgo e Hidalgo, 2011).

De esta manera, el déficit de hierro afecta, por un lado, el contenido fenólico del arándano, al disminuir el tamaño de la baya y, por el otro, la concentración fenólica, al reducir la actividad enzimática clave en la síntesis de estos compuestos. En este sentido, en un futuro ensayo, sería interesante analizar la evolución de los compuestos fenólicos a lo largo de las pasadas que componen la cosecha, para evaluar si existen variaciones en función de la carga frutal remanente y, por ende, del tamaño de la fruta presente. En este punto, es importante mencionar que el déficit de hierro no afectó la composición fenólica y antocianica de la fruta, puesto que los compuestos predominantes fueron los mismos en todos los tratamientos.

Es importante considerar que, los estudios relacionados con el contenido y la composición fenólica del arándano deben prolongarse durante varios años, dado que la síntesis y acumulación de compuestos fenólicos están influenciadas por las condiciones de cultivo de la planta, es decir condiciones ambientales y de manejo (Howard et al., 2003). Por lo tanto, la interacción e influencia de estos factores en el contenido y composición fenólica de una fruta específica deben ser establecidas para optimizar la producción y la información agronómica para el productor (Scalzo et al., 2005). Sumado a ello, dado que existe una relación fuerte y positiva entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales y antocianos totales (Prior et al., 1998; Ehlenfeldt y Prior, 2001; Connor et al., 2002b; Moyer et al., 2002; Sellappan et al., 2002), el mejoramiento genético debe estar dirigido a seleccionar aquellos genotipos de arándano con el mayor contenido fenólico y la mayor intensidad de color, con el fin de aumentar la capacidad antioxidante de la fruta (Howard et al., 2003). Así, el estudio de los diferentes factores agronómicos que afectan al cultivo, y que pueden influir en la acumulación fenólica de los frutos, resultará útil para proporcionar un mejor producto al consumidor (Zheng y Wang, 2003).



## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se llevó a cabo este estudio, se concluye que:

La piel de arándanos 'Emerald' posee 4 antocianidinas y 9 antocianinas; las antocianidinas presentes en mayor cantidad son la delphinidina y malvidina, mientras que las principales antocianinas son la delphinidina 3-galactósido, malvidina 3-galactósido, cianidina 3-galactósido y delphinidina 3-arabinósido.

Dentro de los fenoles de bajo peso molecular, el ácido benzoico predominante es el ácido vainillínico, el principal ácido cinámico es el ácido cafeico *cis*, el flavonol predominante es la astilbina y el principal flavanol es la epicatequina.

La clorosis férrica reduce el contenido (mg/fruto) fenólico y antociánico, tanto total como individual, en la piel de arándanos 'Emerald'. Asimismo, disminuye la concentración (mg/g piel) fenólica y antociánica, tanto total como individual, lo que resulta en una concentración (mg/g fruta) conservada de los compuestos.

La clorosis férrica no afecta la composición fenólica y antociánica en la piel de arándanos 'Emerald'.

La aplicación de quelato Fe-EDDHA, y la asociación con las gramíneas *Festuca rubra* y *Poa pratensis*, aumentan el contenido (mg/fruto) y la concentración (mg/g piel) fenólica y antociánica, tanto total como individual, en la piel de arándanos 'Emerald'.

La aplicación de sangre bovina no modifica el contenido ni la concentración fenólica y antociánica, tanto total como individual, en la piel de arándanos 'Emerald'.

**LITERATURA CITADA**

- Abadía, J. 1992. Leaf responses to Fe deficiency: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 15(10): 1699-1713.
- Akaike, H. 1974, dec. A new look at the statistical identification model. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 19(6): 716-723.
- Álvarez-Fernández, A.; J. Abadía and A. Abadía. 2006. Iron deficiency, fruit yield and fruit quality. (cap. 4, pp. 85-101). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.
- Álvarez-Fernández, A.; P. Paniagua; J. Abadía A. and Abadía. 2003, sep. Effects of Fe deficiency-chlorosis on yield and fruit quality in peach (*Prunus persica* L. Batsch). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(19): 5738-5744.
- Amiot, M.J.; M. Tacchini; S.Y. Aubert and W. Oleszek. 1995, may. Influence of cultivar, maturity stage and storage conditions on phenolic composition and enzymatic browning of pear fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5): 1132-1137.
- Ammari, T. and A.D. Rombolà. 2008, may. Overcoming iron deficiency chlorosis in citrus through intercropping with perennial grass species. *Acta Horticulturae*, 868: 327-330.
- Balasundrama, N.; K. Sundramb and S. Samman. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1): 191-203.
- Ballinger, W.E.; E.P. Maness and L.J. Kushman. 1970. Anthocyanins in ripe fruit of the highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*). *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 95: 283-285.
- Ballinger, W.E.; E.P. Maness; G.J. Galletta and L.J. Kushman. 1972. Anthocyanins of ripe fruit of a 'pink-fruited' hybrid of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*). *Journal of American Society of Horticultural Science*, 97(): 381-384.
- Ballington, J.R.; C.M. Mainland; A.D. Draper and G.J. Galletta. 1982. Bluechip blueberry. *Horticultural Science*, 17(2): 272-273.
- Ballington, J.R.; W.E. Ballinger and E.P. Maness. 1987. Interspecific differences in the percentage of anthocyanins, aglycones and aglycone-sugars in the fruit of seven species of blueberry. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 112(5): 859-864.
- Bañados, M.P. 2006, aug. Blueberry Production in South America. *Acta Horticulturae*, 715(1): 165-172.

Bilyk, A. and G.M. Sapers. 1986, jul. Varietal differences in the quercetin, kaempferol, and myricetin contents of highbush blueberry, cranberry and thornless blackberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 34(4): 585-588.

Bravo, L. 1998, nov. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. *Nutrition Reviews*, 56(11): 317-333.

Brazelton, D. and B.C. Strik. 2007, jul. Perspective on the U.S. and Global Blueberry Industry. *Journal of the American Pomological Society*, 61(3):144-147.

Briat, J.F. 2007. Iron dynamics in plants. (pp. 137-180). In: Kader, J.C. and M. Delseny. (eds.). *Advances in Botanical Research*, Vol. 46. London, UK: Academic Press. 312p.

Cesco, S.; A.D. Rombolà; M. Tagliavini; Z. Varanini and R. Pinton. 2006, sep. Phytosiderophores released by graminaceous species promote <sup>59</sup>Fe-uptake in citrus. *Plant and Soil*, 287(1): 223-233.

Cheynier, V.; M. Dueñas-Paton; E. Salas; C. Maury; J.M. Souquet; P. Sarni-Manchado and H. Fulcrand. 2006, sep. Structure and properties of wine pigments and tannins. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(3): 298-305.

Connor, A.M.; J.J. Luby; C.B. Tong; C.E Finn and J.F. Hancock. 2002a, jan. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity, total phenolic content and anthocyanin content among blueberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 127(1): 89-97.

Connor, A.M.; J.J. Luby; J.F. Hancock; S. Berkheimer and E.J. Hanson. 2002b, feb. Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during cold-temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(4): 893-898.

Covarrubias, J.I.; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2014, feb. Evaluation of sustainable management techniques for preventing iron chlorosis in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1): 149-159.

Di Rienzo, J.A.; F. Casanoves; M.G. Balzarini; L. Gonzalez; M. Tablada y C.W. Robledo. 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina.

Dixon, R.A. and N.L. Paiva. 1995, jul. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 7(7): 1085-1097.

Dupont, M.S.; Z. Mondin; G. Williamson and K.R. Price. 2000, sep. Effect of variety, processing, and storage on the flavonoid glycoside content and composition of lettuce and endive. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(9): 3957-3964.

- Ehlenfeldt, M.K. and R.L. Prior. 2001, may. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolic and anthocyanin concentrations in fruit and leaf tissues of highbush blueberry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(5): 2222-2227.
- Essington, M. 2004. The soil chemical environment: an overview. (cap.1, pp. 1-34). In: Soil and water chemistry: an integrative approach. Florida, USA: CRC Press. 534p.
- Farnham, M.W.; P.A. Simon and J.R. Strommel. 1999, sep. Improved phytonutrient content through plant genetic improvement. *Nutrition Reviews*, 57(9): 19-26.
- Fernández de Simón, B.; T. Hernández; I. Estrella and C. Gómez-Cordovés. 1992. Variation in phenol content in grapes during ripening: low-molecular-weight phenols. *Z Lebensm-Unters Forsch*, 194: 351-354.
- Gao, L. and G. Mazza. 1994, sep. Quantitation and distribution of simple and acylated anthocyanins and other phenolics in blueberries. *Journal of Food Science*, 59(5): 1057-1059.
- García-Viguera, C.; P. Bridle; F. Ferreres and F.A. Tomas-Barberán. 1994. Influence of variety, maturity and processing on phenolic compounds in apricot juices and jams. *Zeitschrift fu Èr Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung*, 199: 433-436.
- Ginestar, C.; J. Eastham; S. Gray and P. Iland. 1998. Use of Sap-Flow Sensors to Schedule vineyard irrigation II: effects of post-veraison water deficits on composition of Shiraz grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 49(4): 421-428.
- Giovanelli, G. and S. Buratti. 2009, feb. Comparison of polyphenolic composition and antioxidant activity of wild Italian blueberries and some cultivated varieties. *Food Chemistry*, 112(4): 903-908.
- Goldman, I.L.; A.A. Kader and C.S. Heintz. 1999, sep. Influence of processing, handling and storage on phytonutrient content of foods. *Nutrition Reviews*, 57(9): 46-52.
- González, A. 2012. Effect of plant growth regulator applications on phenolic quality of red grape berry skin and wine *Vitis vinifera* L., cvs. Cabernet Sauvignon and Carmenere. Tesis Doctoral. Santiago, Chile: Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal, Pontificia Universidad Católica de Chile. 235h.
- Grusak, M.A.; D. DellaPenna and R.M. Welsh. 1999, sep. Physiologic processes affecting the content and distribution of phytonutrients in plants. *Nutrition Reviews*, 57(9): 27-33.
- Häkkinen, S.H. and A.R. Törrönen. 2000, jul. Content of flavonols and selected phenolic acids in strawberries and *Vaccinium* species: influence of cultivar, cultivation site and technique. *Food Research International*, 33(6): 517-524.
- Häkkinen, S.H.; S.O. Kärenlampi; I.M. Heinonen; H.M. Mykkänen and A.R. Törrönen. 1999, jun. Content of the flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(6): 2274- 2279.

Häkkinen, S.H.; S.O. Kärenlampi; I.M. Heinonen; H.M. Mykkänen and A.R. Törrönen. 1998, aug. HPLC method for screening of flavonoids and phenolic acids in berries. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77(4): 543-551.

Heinonen, I.M.; A.S. Meyer and E.N. Frankel. 1998, oct. Antioxidant activity of berry phenolics on human low-density lipoprotein and liposome oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10): 4107-4112.

Heller, W. and G. Forkmann. 1993. Biosynthesis of flavonoids. (cap. 11; pp. 499-535). In: Harborne, J.B. (ed.). *The flavonoids: advances in research since 1986*. London, UK: Chapman and Hall. 676p.

Hernández, A. 2003. Estabilización de antocianinas extraídas de rosas rojas por medio de la copigmentación para su uso como colorantes naturales en la industria alimenticia y farmacéutica. Tesis Licenciada en Quimicofarmacobiología. Puebla, México: Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas Puebla. 45h.

Herrmann, K.M. and L.M. Weaver. 1999, jun. The shikimate pathway. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 50: 473-503.

Hertog, M.G.; P.C. Hollman and D.P. Venema. 1992, sep. Optimization of a quantitative HPLC determination of potentially anticarcinogenic flavonoids in vegetables and fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(9): 1591-1598.

Hidalgo Fernández, L. y J. Hidalgo Togores. 2011. Fisiología de la vid. (cap. 6; pp. 193-290). En su: *Tratado de Viticultura*. 4a. ed., rev. y ampl. Tomo I. Madrid, España: Mundi-Prensa. 2043p.

Hirzel, J. (Ed.). 2014. El suelo como fuente nutricional. (cap. 2, pp. 69-109). En su: *Diagnóstico nutricional y principios de fertilización en frutales y vides*. 2a. ed., aum. y corr. Chillán, Chile: INIA Quilamapu. 322p. (Colección Libros INIA N°31).

Hosseinian, F.S. and T. Beta. 2007, dec. Saskatoon and wild blueberries have higher anthocyanins contents than other Manitoba berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(26): 10832-10838.

Howard, L.R.; J.R. Clark and C. Brownmiller. 2003, sep. Antioxidant capacity and phenolic content in blueberries as affected by genotype and growing season. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 83(12): 1238-1247.

Inal, A.; A. Gunes; F. Zhang and I. Cakmak. 2007, may. Peanut/maize intercropping induced changes in rhizosphere and nutrient concentrations in shoots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(5): 350-356.

Jeong, J. and M.L. Guerinot. 2009, may. Homing in on iron homeostasis in plants. *Trends Plant Science*, 14(5): 280-285.

Kader, F.; B. Rove; M. Girardin and M. Metche. 1996. Fractionation and identification of the phenolic compounds of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum*, L.). *Food Chemistry*, 55(1): 35-40.

Kalt, W.; C. Lawand; D.A. Ryan; J.E. McDonald; H. Donner and C.F. Forney. 2003, nov. Oxygen radical absorbing capacity, anthocyanin and phenolic content of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) during ripening and storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(6): 917-923.

Kalt, W.; D.A. Ryan; J.C. Duy; R.L. Prior; M.K. Ehlenfeldt and S.P. Vander Kloet. 2001, oct. Interspecific variation in anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity among genotypes of highbush and lowbush blueberries (*Vaccinium* section *cyanococcus* spp.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10): 4761-4767.

Kalt, W.; J.E. McDonald; R.D. Ricker and X. Lu. 1999, oct. Anthocyanin content and profile within and among blueberry species. *Canadian Journal of Plant Science*, 79(4): 617-623.

Kochian, L.V. and D.F. Garvin. 1999, sep. Agricultural approaches to improving phytonutrient content in plants: An overview. *Nutrition Reviews*, 57(9): 13-18.

Kühnau, J. 1976. The flavonoids, a class of semi-essential food components: their role in human nutrition. *World Review in Nutrition and Dietetics*, 24: 117-191.

Lafay, S. and A. Gil-Izquierdo. 2008, jul. Bioavailability of phenolic acids. *Phytochemistry Reviews*, 7(2): 301-311.

Lee, J.; C.E. Finn and R.E. Wrolstad. 2004, aug. Anthocyanin pigment and total phenolic content of three *Vaccinium* species native to the Pacific Northwest of North America. *Horticultural Science*, 39(5): 959-964.

Lohachoopol, V.; M. Mulholland; G. Szrednicki and J. Craske. 2008, nov. Determination of anthocyanins in various cultivars of highbush and rabbiteye blueberries. *Food Chemistry*, 111(1): 249-254.

López-Rayó, S.; M. Di Foggia; G. Bombai; F. Yunta; E. Rodrigues Moreira; G. Filippini; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2015, feb. Blood-derived compounds can efficiently prevent iron deficiency in the grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 21(1): 135-142.

Loue, A. 1988. El hierro. (cap. 2, pp. 53-82). En su: Los microelementos en la agricultura. Madrid, España: Mundi-Prensa. 354p.

Loupassaki, M.H.; S.M. Lionakis and I.I. Androulakis. 1995, sep. Iron deficiency in kiwi and its correction by different methods. *Acta Horticulturae*, 444: 267-271.

- Luzio, W.; O. Seguel y M. Casanova. 2010. Suelos de la zona Mediterránea Árida. (cap. 4, pp. 125-194). En: Luzio, W. (ed.). Suelos de Chile. Santiago, Chile: Universidad de Chile. 364p.
- Macheix, J.J.; A. Fleuriet and J. Billot (Eds.). 1990. Importance and roles of phenolic compounds in fruits. (cap. 4; pp. 239-293). In: Fruit phenolics. Florida, USA: CRC Press. 392p.
- Mainland, C.M. and J.W. Tucker. 2000, dec. Blueberry health information: Some new mostly review. *Acta Horticulturae*, 574: 39-43.
- Matthews, M.A. and M.M. Anderson. 1988. Fruit ripening in *Vitis vinifera* L.: responses to seasonal water deficits. *American Journal of Enology and Viticulture*, 39(4): 313-320.
- Mazza, G. and E. Miniati. Small fruits. (cap. 4; pp. 85-129). In: Anthocyanins in fruits, vegetables and grains. Florida, USA: CRC Press. 362p.
- Mengel, K.; E. Kirkby; H. Kosegarten and T. Appel (Eds.). 2001. The soil as a plant nutrient medium. (cap. 2, pp. 15-110) In: Principles of plant nutrition. 5a. ed. Dordrecht, the Netherlands: Kluwer Academic Publishers. 849p.
- Moutounet, M.; V. Cheynier y P. Sarni-Manchado. 2000. Los compuestos fenólicos. (cap. 4; pp. 114-136). En: Flanzy, C. (ed.). Enología: Fundamentos científicos y enológicos. Madrid, España: Mundi-Prensa. 795p.
- Moyer, R.A.; K.E. Hummer; C.E. Finn; B. Frei and R.E. Wrolstad. 2002, jan. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus*, and *Ribes*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(3): 519-525.
- Nakajima, J.; Y. Tanaka; M. Yamazaki and K. Saito. 2001, jul. Reaction mechanism from leucoanthocyanidin to anthocyanidin 3-glucoside, a key reaction for coloring in anthocyanin biosynthesis. *The Journal of Biological and Chemistry*, 276(28): 25797-25803.
- Ojeda, H.; C. Andary; E. Kraeva; A. Carbonneau and A. Deloire. 2002. Influence of pre and postveraison water deficit on synthesis and concentration of skin phenolic compounds during berry growth of *Vitis vinifera* cv. Shiraz. *American Journal of Enology and Viticulture*, 53(4): 261-267.
- Orellana, J. 2013. Análisis de la exportación y concentración de mercados de empresas exportadoras de arándanos en Chile entre el periodo 2009-2012. Memoria Ingeniero Agrónomo. Talca, Chile: Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Talca. 43h.
- Parker, S.; J. Weil and B. Richman (Eds.). 1991. "Calcífuga". (68 pp.). En su: Diccionario McGraw-Hill de biología: bilingüe (español-inglés, english-spanish). México: McGraw-Hill. 630p. (Diccionarios McGraw-Hill de ciencia y tecnología).

Pestana M.; A. De Varennes and E. Araújo. 2003, jan. Diagnosis and correction of iron chlorosis in fruit trees: a review. *Food, Agriculture and Environment*, 1(1): 46-51.

Pinheiro, J.; D. Bates; S. DebRoy; D. Sarkar and R Core Team. 2014. Nlme: linear and nonlinear mixed effects models. R package version 3.1-117, CRAN-Package. Auckland, New Zealand.

Piñol, M.T.; J. Palazón y R.M. Cusidó. 2008. Introducción al metabolismo secundario. (cap. 17; pp. 323-348). En: Azcón-Bieto, J. y M. Talón (eds.). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. 2a. ed. Madrid, España: McGRAW-HILL. 651p.

Pirie, A.J. and M.G. Mullins. 1980. Concentration of phenolics in the skin of grape berries during fruit development and ripening. *American Journal of Enology and Viticulture*, 31(1): 34-36.

Pridham, J.B. 1965. Phenol-carbohydrate derivatives in higher plants. *Advances in Carbohydrate Chemistry*, 20: 371-408.

Prior, R.L. and G. Cao. 2000, oct. Flavonoids: diet and health relationships. *Nutrition in Clinical Care*, 3(5): 279-288.

Prior, R.L.; G. Cao; A. Martin; E. Sofic; J. McEwen; C. O'Brien; N. Lischner; M. Ehlenfeldt; W. Kalt; G. Krewer and M. Mainlan. 1998, jul. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(7): 2686-2693.

Prior, R.L.; S.A. Lazarus; G. Cao; H. Muccitelli and J.F. Hammerstone. 2001, mar. Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* spp.) using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(3): 1270-1276.

Quiñones, M.; M. Miguel y A. Aleixandre. 2012, ene. Los polifenoles: Compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1): 76-89.

Retamales, J. and F. Hancock. 2012a. Pre and postharvest management of fruit quality. (cap. 9, pp. 267-307). In: *Blueberries*. Oxfordshire, UK: CABI. 323p. (Crop Production Science in Horticulture Series N°21).

Retamales, J.; M.J. Palma; Y. Morales; G. Lobos; C. Moggia and C. Mena. 2014, mar. Blueberry Production in Chile: Current Status and Future Developments. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1): 58-67.

Roby, G. and M.A. Matthews. 2004, apr. Relative proportions of seed, skin and flesh, in ripe berries from Cabernet Sauvignon grapevines grown in a vineyard either well irrigated or under water deficit. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(1): 74-82.



Roby, G.; J.F. Harbertson; D.A. Adams and M.A. Matthews. 2004, jul. Berry size and vine water deficits as factors in winegrape composition: anthocyanins and tannins. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 10(2): 100-107.

Rombolà, A.D. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. (cap. 3, pp. 61-83). In: Barton, L. and J. Abadía (eds.). Iron nutrition in plants and rhizospheric microorganisms. Dordrecht, the Netherlands: Springer. 477p.

Saito, K. and M. Yamazaki. 2002, jul. Biochemistry and molecular biology of the late-stage of biosynthesis of anthocyanin: lessons from *Perilla frutescens* as a model plant. *New Phytologist*, 155(1): 9-23.

Saito, K.; M. Kobayshi; Z.Z. Gong; Y. Tanaka and M. Yamazaki. 1999, jan. Direct evidence for anthocyanidin synthase as a 2-oxoglutarate-dependent oxygenase: molecular cloning and functional expression of cDNA from a red forma of *Perilla frutescens*. *The Plant Journal*, 17(2): 181-189.

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.

Sapers, G.M.; A.M. Burguer; J.G. Phillips; S.B. Jones and E.G. Stone. 1984. Color and composition of highbush blueberry cultivars. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 109(1): 105-111.

Scalzo, J.; A. Politib; N. Pellegrini; B. Mezzetti and M. Battino. 2005, feb. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*, 21(2): 207-213.

Schuster, B. and K. Herrmann. 1985, oct. Hydroxybenzoic and hydroxycinnamic acid derivatives in soft fruits. *Phytochemistry*, 24(11): 2761-2764.

Schwarz, G. 1978, mar. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6(2): 461-464.

Sellapan, S.; C.C. Akoh and G. Krewer. 2002, apr. Phenolic composition and antioxidant capacity of Georgia grown blueberries and blackberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(8): 2432-2438.

Shirley, B.W. 1996, nov. Flavonoid biosynthesis: 'new' functions for an 'old' pathway. *Trends in Plant Science*, 1(11): 377-382.

Skupień, K. 2006. Chemical composition of selected cultivars of highbush blueberry fruit (*Vaccinium corymbosum* L.). *Folia Horticulturae*, 18(2): 47-56.

Smart, R.E. and M.D. Robinson. 1991. Sunlight into Wine: a handbook for winegrape canopy management. Adelaide, Australia: Winetitles. 88p.

Sorrenti, G.; M. Toselli and B. Marangoni. 2012, mar. Use of compost to manage Fe nutrition of pear trees grown in calcareous soil. *Scientia Horticulturae*, 136(1): 87-94.

Springob, K.; J. Nakajima; M. Yamazaki and K. Saito. 2003. Recent advances in the biosynthesis and accumulation of anthocyanins. *Natural Product Reports*, 20(3): 288-303.

Stöhr, H. and K. Herrmann. 1975. The phenolics of fruits V: the phenolics of strawberries and their changes during development and ripeness of the fruits. *Z Lebensm-Unters Forsch*, 159: 341-348.

Tadeo, F.R. y A. Gómez-Cadenas. 2008. Fisiología de las plantas y el estrés. (cap. 29; pp. 577-597). En: Azcón-Bieto, J. y M. Talón (eds.). Fundamentos de Fisiología Vegetal. 2a. ed. Madrid, España: McGraw-Hill. 651p.

Tagliavini, M.; J. Abadía; A.D. Rombolà; A. Abadía; C. Tsipouridis and B. Marangoni. 2000. Agronomic means for the control of iron chlorosis in deciduous fruit trees. *Journal of Plant Nutrition*, 23(11-12): 2007-2022.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2010a. Secondary metabolites and plant defense. (cap. 13, pp. 283-308). In: Plant Physiology. 5a. ed. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc. 782p.

Taiz, L. and E. Zeiger. 2010b. Mineral nutrition (cap. 5, pp. 107-130). In: Plant physiology. 5a. ed. Massachusetts, USA: Sinauer Associates, Inc. 782p.

Taruscio, T.G.; D.L. Barney and J. Exon. 2004, may. Content and profile of flavanoid and phenolic acid compounds in conjunction with the antioxidant capacity for a variety of northwest *Vaccinium* berries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10): 3169-3176.

Tessarín, P.; F. Yunta; E. Ingrosso; A. Boliani; J.I. Covarrubias and A.D. Rombolà. 2013, apr. Improvement of grapevine iron nutrition by a bovine blood-derived compound. *Acta Horticulturae*, 1(984): 335-338.

Tomas-Barberán, F.A. and J.C. Espín. 2001, jul. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(9): 853-876.

Tomas-Barberán, F.A.; M.I. Gil; M. Castener; F. Artes and M.E. Saltveit. 1997, mar. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(3): 583-589.

Turnbull, J.J.; J. Nakajima; W.D. Welford; M. Yamazaki; K. Saito and C.J. Schofield. 2004, jan. Mechanistic studies on three 2-oxoglutarate-dependent oxygenases of flavonoid biosynthesis: anthocyanidin synthase, flavonol synthase and flavanone 3-hydroxylase. *The Journal of Biological Chemistry*, 279(2): 1206-1216.

Turnbull, J.J.; W.J. Sobey; R.T. Aplin; A. Hassan; J.L. Firmin; C.J. Schofield and A.G. Prescott. 2000. Are anthocyanidins the immediate products of anthocyanidin synthase? *Chemical Communications*, 32(24): 2473-2474.

Von-Elbe, J.H. and S.J. Schwartz. 1996. Colorants. (cap. 10; pp. 651-717). In: Fennema, O.R. (ed.). *Food Chemistry*. 3a. ed. New York, USA: Marcel Dekker, Inc. 1067p.

Wang, H.; G. Cao and R.L. Prior. 1997, feb. Oxygen radical absorbing capacity of anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(2): 304-309.

Yang Y. 2005, dec. Can the strengths of AIC and BIC be shared? A conflict between model identification and regression estimation. *Biometrika*, 92(4): 937-950.

You, Q.; B. Wang; F. Chen; Z. Huang; X. Wang and P.G. Luo. 2011, mar. Comparison of anthocyanins and phenolics in organically and conventionally grown blueberries in selected cultivars. *Food Chemistry*, 125(1): 201-208.

Zheng, W. and S.Y. Wang. 2003, jan. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(2): 502-509.

Zuo, Y. and F. Zhang. 2008, may. Effect of peanut mixed cropping with gramineous species on micronutrient concentrations and iron chlorosis of peanut plants grown in a calcareous soil. *Plant and Soil*, 306(1): 23-36.

Zuo, Y.; F. Zhang; X. Li and Y. Cao. 2000, may. Studies on the improvement in iron nutrition of peanut by intercropping with maize on a calcareous soil. *Plant and Soil*, 220(1): 13-25.

## APÉNDICE IV

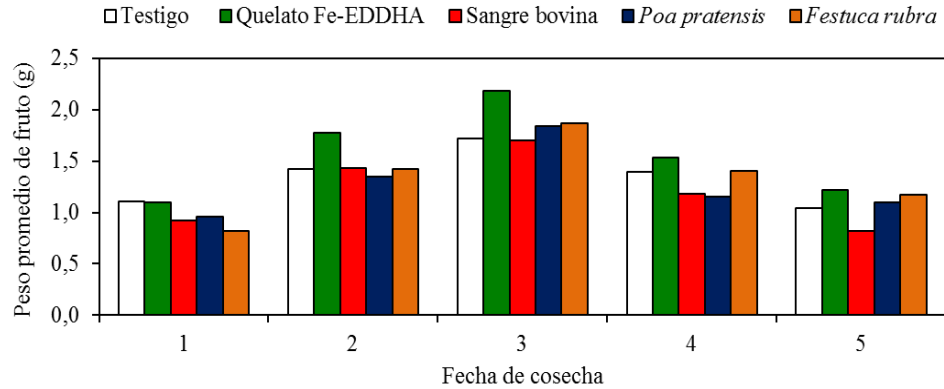


Figura 10. Peso de fruto, expresado en gramos, en cada fecha de cosecha de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

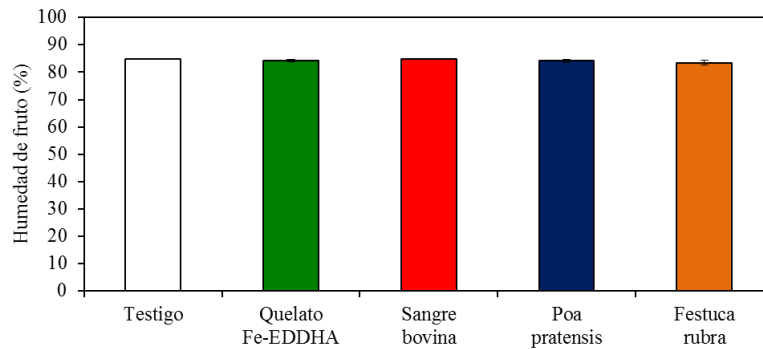


Figura 11. Porcentaje de humedad de fruto en bayas de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de hierro.

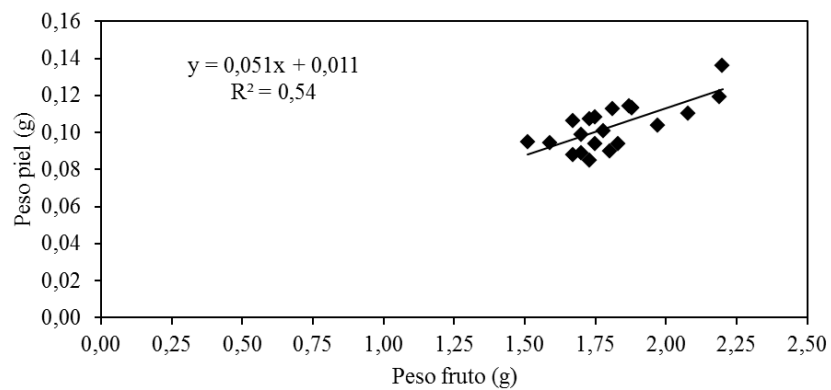


Figura 12. Peso de la piel, expresado en gramos, en función del peso de fruto, expresado en gramos, en bayas maduras de arándanos ‘Emerald’ ( $p=0,002$ ;  $n=21$ ).

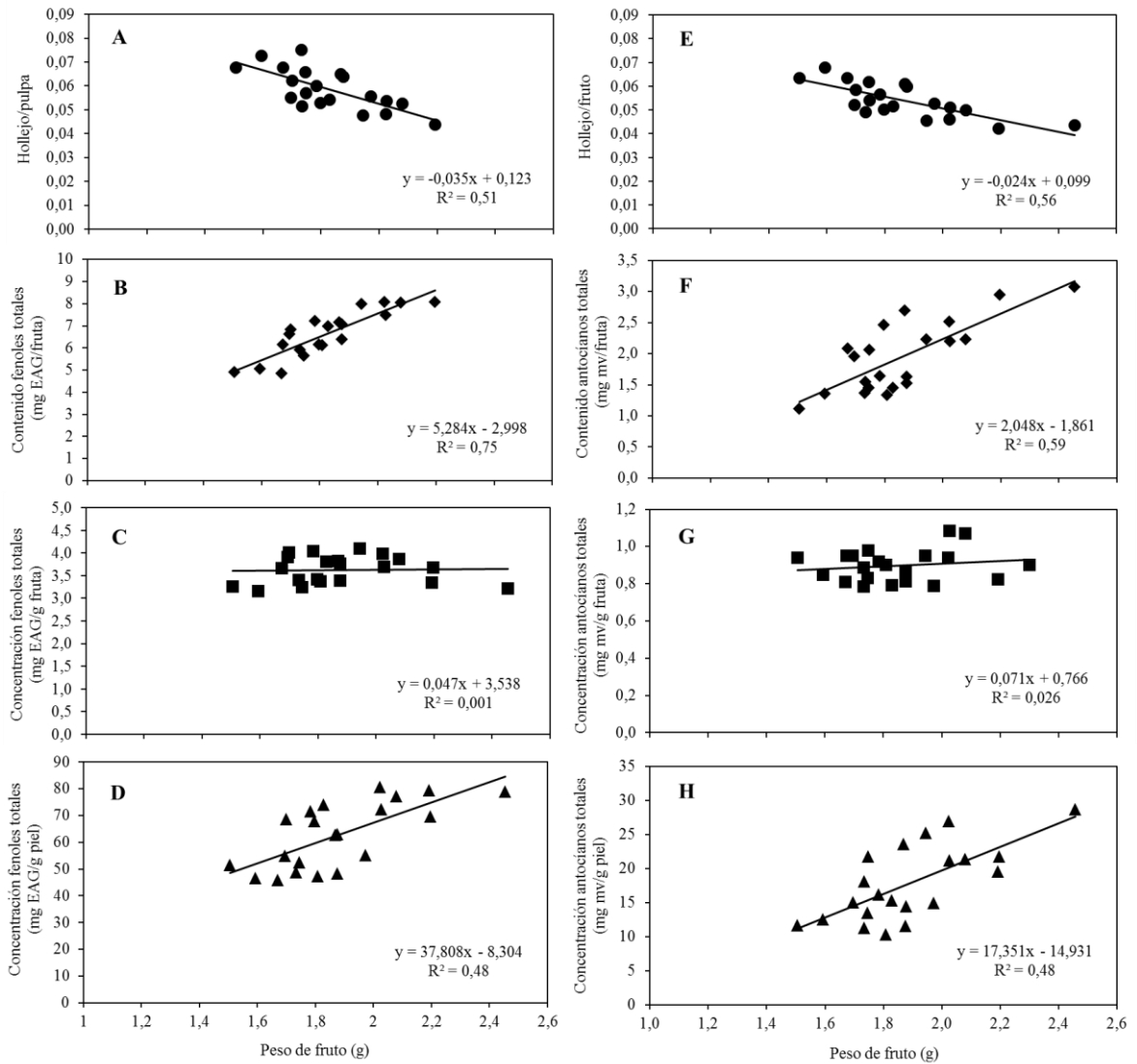


Figura 13. Relación hollejo/pulpa (A), contenido y concentración de fenoles totales, expresados en mg EAG/fruta (B), mg EAG/g fruta (C) y mg EAG/g piel (D); relación hollejo/fruto (E), contenido y concentración de antocianos totales, expresados en mg mv/fruta (F), mg mv/g fruta (G) y mg mv/g piel (H), como función del peso de fruto, expresado en gramos, en bayas maduras de arándanos ‘Emerald’ ( $p < 0,05$ ;  $n = 21$ ).

ANEXO I

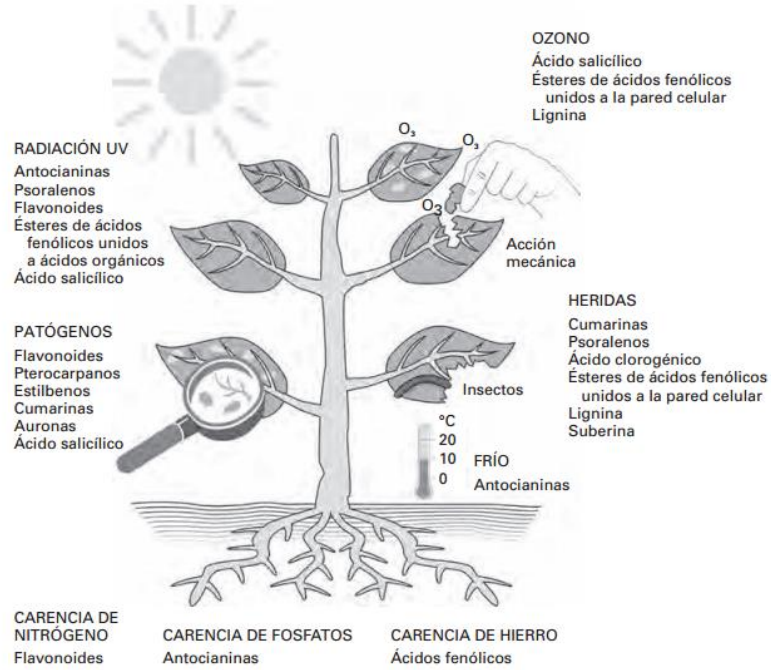


Figura 1. Función particular de cada metabolito secundario en la protección de las plantas frente a condiciones de estrés (Tadeo y Gómez-Cadenas, 2008).

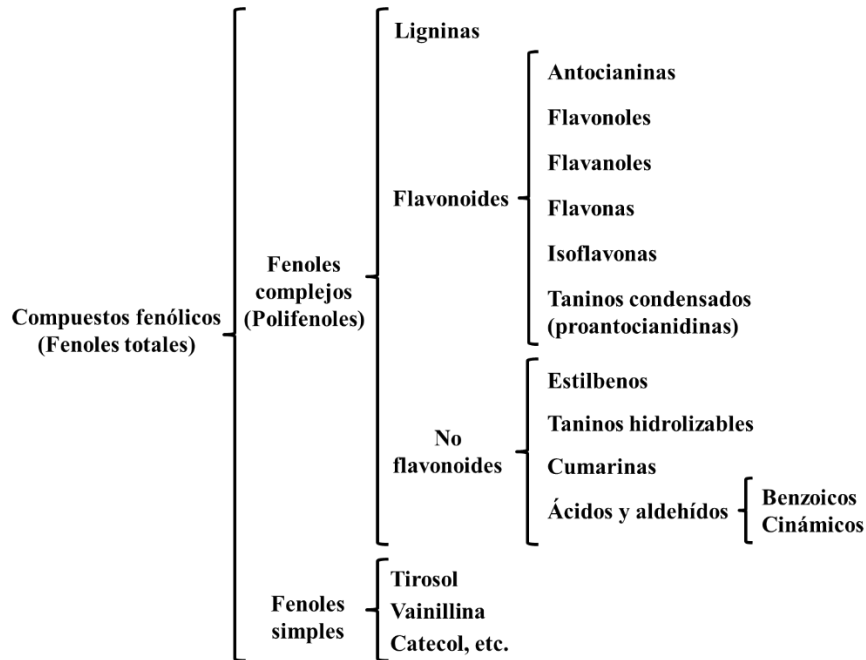


Figura 2. Clasificación de los compuestos fenólicos.

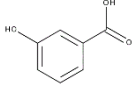
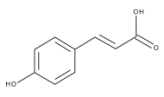
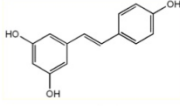
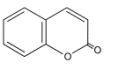
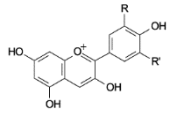
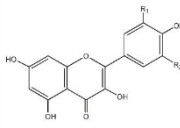
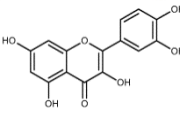
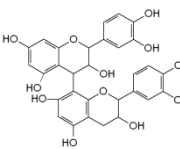
	Grupo	Estructura	Predominancia en el fruto			Función
			Piel	Pulpa	Semilla	
<b>NO FLAVONOIDES</b>	Ácidos benzoicos (C6-C1)		+	+	-	Efecto alelopático en plantas cercanas
	Ácidos cinámicos (C6-C3)		+	+	-	Oxidación, copigmentación
	Estilbenos (C6-C2-C6)		+	+	-	Protección fúngica y alta radiación
	Cumarinas (C6-C3)		+	+	-	Protección UV
<b>FLAVONOIDES</b>	Antocianinas		+	-	+	Atracción de insectos polinizantes
	Flavonoles		+	-	+	Protección UV y antioxidante
	Flavanoles		+	-	+	Bloques de formación de proantocianidinas
	Proantocianidinas		+	-	+	Protección contra herbívoros

Figura 3. Grupos de compuestos fenólicos, estructura molecular, predominancia en las distintas partes de la fruta y función en la planta (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2010a; González, 2012).

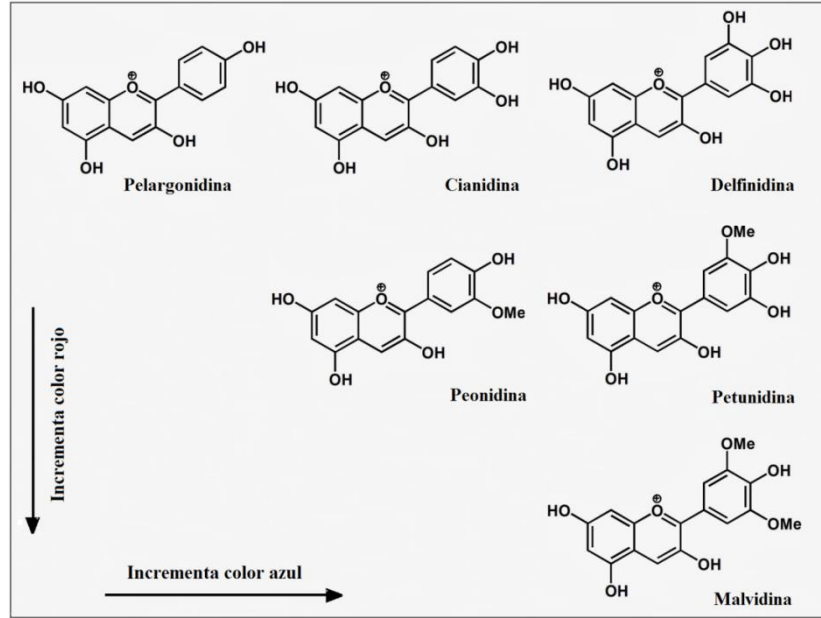


Figura 4. Estructura química de las seis antocianidinas más abundantes y coloración característica (Adaptado de Von-Elbe y Schwartz, 1996).

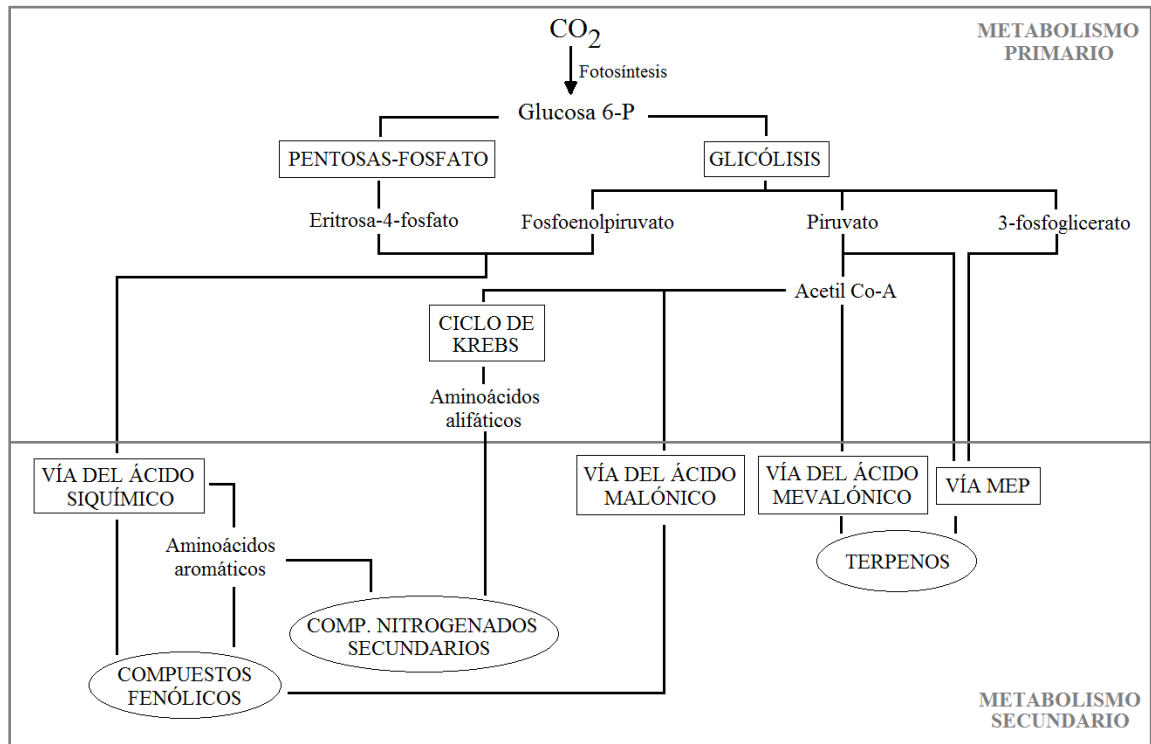


Figura 5. Metabolismo primario y secundario de las plantas. Síntesis de compuestos fenólicos a través de la vía del ácido siquímico y vía del ácido malónico (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2010a).



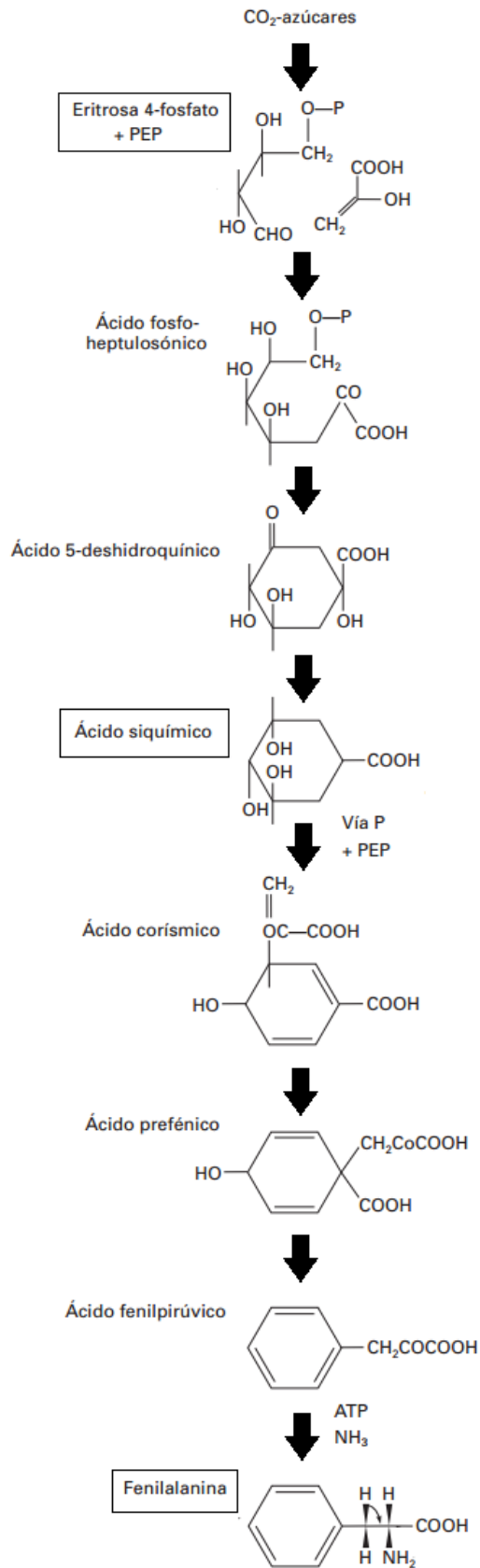


Figura 6. Ruta del ácido siquímico (Adaptado de Piñol et al., 2008).

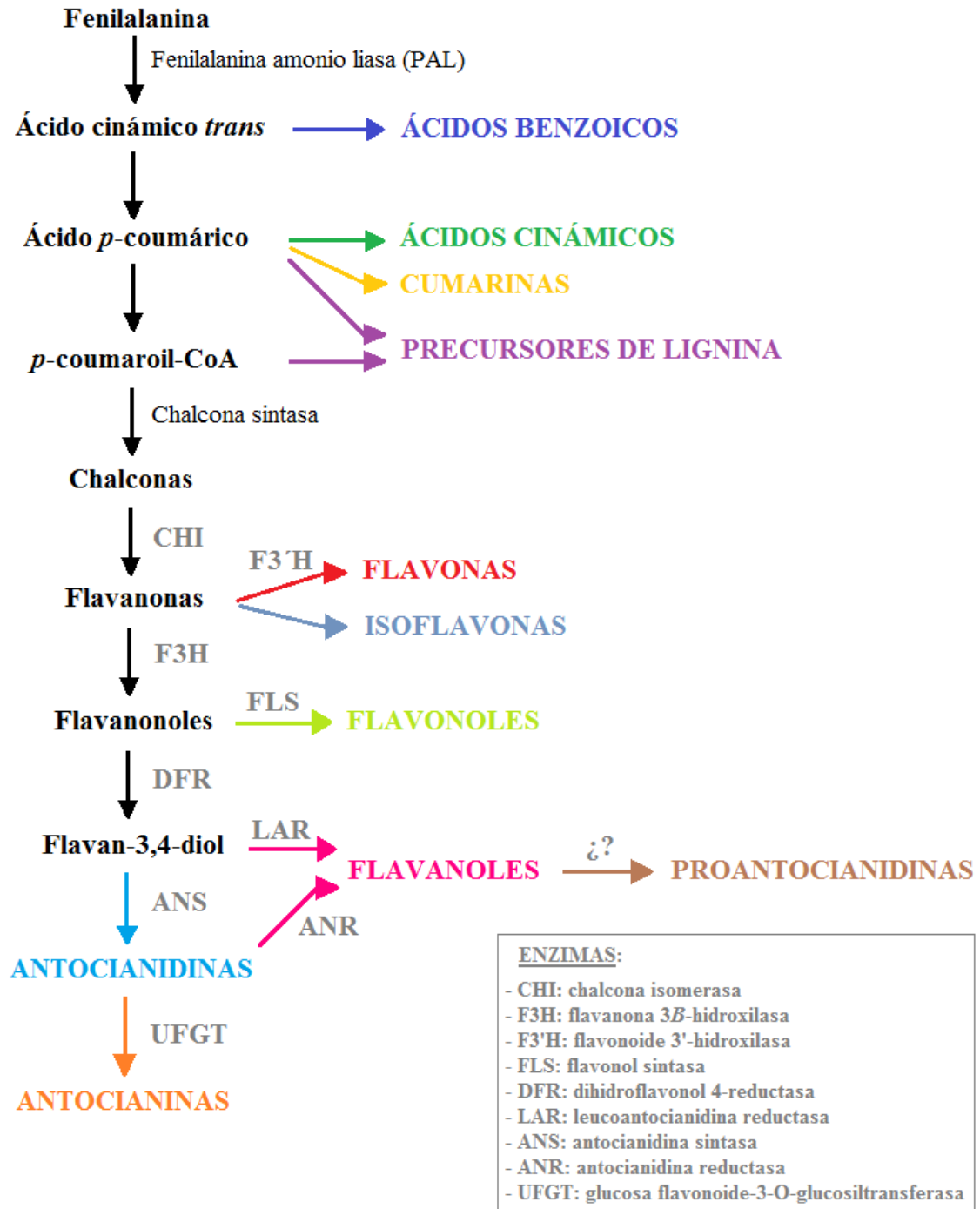


Figura 7. Ruta de síntesis de compuestos fenólicos flavonoides y no flavonoides, desde el aminoácido precursor, la fenilalanina, y las enzimas involucradas (Adaptado de Taiz y Zeiger, 2010a; González, 2012).