

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE PARA EL
CONTROL DE LA CLOROSIS FÉRRICA EN ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum*
L.) ‘EMERALD’**

BASTIÁN CRISTÓBAL VALDÉS MEDINA

SANTIAGO – CHILE
2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE PARA EL
CONTROL DE LA CLOROSIS FÉRRICA EN ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum* L.)
'EMERALD'**

**EVALUATION OF SUSTAINABLE MANAGEMENT TECHNIQUES TO
CONTROL IRON CHLOROSIS IN BLUEBERRIES (*Vaccinium corymbosum* L.)
'EMERALD'**

BASTIÁN CRISTÓBAL VALDÉS MEDINA

SANTIAGO – CHILE
2017

UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
ESCUELA DE PREGRADO

Memoria de Título

**EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DE MANEJO SOSTENIBLE PARA EL
CONTROL DE LA CLOROSIS FÉRRICA EN ARÁNDANOS (*Vaccinium corymbosum*
L.) ‘EMERALD’**

Memoria para optar al título profesional de
Ingeniero Agrónomo

BASTIÁN CRISTÓBAL VALDÉS MEDINA

PROFESOR GUÍA	CALIFICACIONES
Sr. José Ignacio Covarrubias P. Ingeniero Agrónomo, Mg. Sc. Dr.	6,8
PROFESORES EVALUADORES	
Sr. Rodrigo Callejas R. Ingeniero Agrónomo, Dr.	6,4
Sr. Víctor Escalona C. Ingeniero Agrónomo, Dr.	7,0

SANTIAGO – CHILE
2017

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer principalmente al esfuerzo.

Al esfuerzo que hicieron mi mamá y papá, para que pudiese estudiar y desarrollarme como persona a lo largo de todo este tiempo. Obviamente a mi hermana, a la nana, por sus valores y enseñanzas, además de todo su cariño.

También al esfuerzo que realizaron todos los profesores por transmitirme todos sus conocimientos a lo largo de mi vida académica hasta este momento. Especialmente agradezco a mi profesor guía José Ignacio Covarrubias, por la ayuda que me entregó, la motivación, consejos, paciencia y la permanente buena disposición, en todo este proceso de realización de la memoria de título.

Por último, al esfuerzo que dedique en intentar ser la persona que soy hasta este día.

Mención honrosa a toda la gente que conocí en la universidad desde el primer día que entre y que hicieron que este último paso fuese más amigable, amigos y polola, de verdad muchas gracias.

De todo corazón agradecer a funcionarios del Campus, a los laboratorios de química de suelos, calidad de la fruta y agroindustrias, por facilitar todo su equipo y buena disposición para realizar las mediciones. También a la gente del casino, las tías del aseo, auxiliares, mayordomos, secretarias, al personal del área deportiva y a la selección de fútbol de agronomía por hacerme vivir unas de las mejores experiencias deportivas que he tenido.

Finalmente agradezco al Proyecto "Effectiveness and physiological implications of sustainable management techniques for preventing iron deficiency in blueberry" (FONDECYT 11130328), que hizo posible la realización de esta memoria.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Hipótesis	7
Objetivo general	7
Objetivos específicos	7
MATERIALES Y MÉTODO	8
Lugar de estudio	8
Material vegetal	9
Tratamientos y diseño experimental	9
Evaluaciones	10
Variables vegetativas	10
Variables productivas	11
Variables relativas a la calidad de las bayas	11
Concentración de antocianinas y compuestos fenólicos.....	12
Variables fisiológicas	13
Análisis estadístico	14
RESULTADOS	15
Variables vegetativas	15
Longitud de brotes	15
Concentración foliar de clorofila.....	16
Variables productivas	17
Curva de distribución de cosecha	17
Peso de bayas.....	19
Calidad de bayas	20
Análisis y cuantificación de compuestos fenólicos	23
Perfil de antocianinas.....	23
Fenoles de bajo peso molecular.....	26

Variables fisiológicas	28
Intercambio gaseoso foliar.	28
Concentración foliar de macro y micronutrientes foliar.....	30
DISCUSIÓN	32
CONCLUSIONES	38
BIBLIOGRAFÍA	39
APÉNDICE	45
ANEXOS	46

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo en el que se desarrolló la investigación.	8
Cuadro 2. Carga frutal (g/planta) y producción total (frutos/planta) promedio por planta en la temporada expresada en g, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	19
Cuadro 3. Sólidos solubles (°Brix), evaluados en bayas provenientes de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	21
Cuadro 4. pH de la pulpa de bayas provenientes de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	21
Cuadro 5. Acidez (% de ácido cítrico), evaluada en la pulpa de bayas provenientes de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	22
Cuadro 6. Relación sólidos solubles/acidez, evaluada en la pulpa de bayas de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	22
Cuadro 7. Firmeza (N) en bayas de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	23
Cuadro 8. Concentración (mg g ⁻¹ 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 Fe.....	25
Cuadro 9. Concentración (mg g ⁻¹ 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 Fe.....	27
Cuadro 10. Concentración (mg g ⁻¹ 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 Fe.....	27
Cuadro 11. Fotosíntesis neta (A; $\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentración interna de CO ₂ en la hoja (C _i ; $\mu\text{mol mol}^{-1}$), conductancia estomática (G _s ; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), y transpiración de la hoja (E; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) determinados el 30 de diciembre y 27 de febrero en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.....	29
Cuadro 12. Concentración de macronutrientes, expresada en porcentaje, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe. El muestreo se realizó en febrero del 2015.....	30

Cuadro 13. Concentración de micronutrientes, expresada en mg kg^{-1} , en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe. El muestreo se realizó en febrero del 2015.....31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Largo (cm) de brotes durante la temporada en arándanos variedad 'Emerald' sometidos a tratamientos de corrección del déficit de Fe.	15
Figura 2. Concentración foliar de clorofila ($\mu\text{g cm}^{-2}$), en hojas completamente expandidas de arándano 'Emerald', en función del índice SPAD.	16
Figura 3. Evolución de la concentración foliar de clorofila ($\mu\text{g cm}^{-2}$), durante la temporada, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.	17
Figura 4. Peso promedio de fruta cosechada por planta (g), en cada fecha de cosecha de arándanos 'Emerald' bajo tratamientos de corrección del déficit de Fe.	18
Figura 5. Peso promedio de fruto (g) por tratamiento, en cada fecha de cosecha de arándanos 'Emerald' bajo tratamientos de corrección del déficit de Fe.	20
Figura 6. Cromatograma del perfil antociánico de la piel de arándanos 'Emerald'	24
Figura 7. Cromatograma del perfil fenólico de bajo peso molecular en las pieles de arándanos 'Emerald'	26

RESUMEN

El déficit de hierro es un problema nutricional muy común en los huertos de arándano establecidos en suelos calcáreos y alcalinos, generando problemas en el crecimiento, productividad y calidad de las bayas. Frente a esta situación, las herramientas de manejo tradicionales para contrarrestar el déficit de hierro, se basan en aplicaciones reiteradas de quelatos sintéticos de hierro y/o ácidos fuertes, las cuales son de alto costo y riesgosas tanto para la salud humana como para el ambiente. En la presente investigación, se evaluaron dos técnicas de manejo sostenible: (1) asociación del cultivo con las especies gramíneas *Festuca rubra* o *Poa pratensis* y; (2) aplicación de un producto formulado a base de sangre bovina. Durante el experimento se evaluaron variables vegetativas, fisiológicas, reproductivas y de calidad de las bayas.

La aplicación del formulado a base de sangre bovina ejerció un efecto positivo sobre el crecimiento vegetativo y la concentración foliar de Mn en los arándanos, sin influenciar la concentración foliar de clorofila, producción, la calidad de las bayas y el intercambio gaseoso foliar de manera positiva.

Los resultados obtenidos indican que la asociación con *Festuca rubra* y *Poa pratensis* incrementaron significativamente la concentración de antocianos y fenoles de bajo peso molecular en las pieles de los arándanos. Sin embargo, tales estrategias afectaron negativamente el crecimiento vegetativo, la concentración de clorofila, las variables productivas y la concentración de minerales en las plantas, debido a la competencia por agua y nutrientes por parte de las gramíneas hacia el cultivo. Por otro lado, la asociación con gramíneas no influyó en el intercambio gaseoso foliar de los arándanos.

Las estrategias sostenibles para el control del déficit de Fe sometidas a experimentación, no lograron superar la eficacia de las aplicaciones del quelato Fe-EDDHA para contrarrestar la carencia del metal en los arándanos.

Palabras clave: asociación con gramíneas, déficit de hierro, sangre bovina.

ABSTRACT

Iron deficiency is a common nutritional problem in blueberries orchards established in calcareous and alkaline soils. Iron chlorosis reduces the growth, productivity and berry quality. Traditional management techniques to counteract iron deficiency are frequently based on repeated applications of synthetic iron chelates and/or strong acids, which are expensive and risky for human health and the environment. In the present research, two sustainable management techniques were assessed: (1) intercropping with the graminaceous species *Festuca rubra* or *Poa pratensis* and; (2) application of a bovine blood meal product. During the experiment, vegetative, physiological, reproductive and berry quality parameters were evaluated.

The application of bovine blood induced a positive effect on the vegetative growth and Mn concentration, without influencing the leaf chlorophyll, yield, berry quality and leaf gas exchange, positively.

On the other hand, the intercropping with *Festuca rubra* and *Poa pratensis* significantly increased the anthocyanins and low molecular weight phenols concentration in skins. However, such strategies reduced the vegetative growth and leaf chlorophyll concentration, possibly due to the high competition for water and nutrients exerted by grasses with the main crop. The association with grasses did not influence the leaf gas exchange of blueberries.

The sustainable strategies to control iron deficiency assessed, did not reach the effectiveness of Fe-EDDHA to counteract iron deficiency in blueberries.

Keywords: intercropping with graminaceous, iron deficiency, bovine blood meal.

INTRODUCCIÓN

En Chile la producción de arándanos ha ido en aumento durante los últimos años, debido en parte a las condiciones edafoclimáticas que existen en las principales zonas productivas del país, las cuales se concentran entre las regiones del Biobío y del Maule (ODEPA, 2012). Tales condiciones, se ajustan adecuadamente a los requerimientos de la especie, y por ello el arándano se desarrolla sin inconvenientes en estas superficies. Sin embargo, algunos factores agronómicos y comerciales, como la búsqueda de una cosecha más temprana, el menor riesgo de incidencia de enfermedades fúngicas y la creciente demanda del arándano por los consumidores a nivel nacional y mundial, han propiciado el desplazamiento de la superficie de plantación hacia la zona centro-norte del país, en particular entre las regiones IV y VI (Soto et al., 2010).

Actualmente los huertos de arándano localizados en la zona centro norte, han experimentado dificultades en su desarrollo vinculadas principalmente a problemas nutricionales, en particular, de déficit de hierro (Fe) en las plantas (Retamales y Hancock, 2012b). El déficit de Fe se manifiesta mediante una sintomatología denominada clorosis férrica, la cual se caracteriza por la presencia de un color amarillo entre las nervaduras de las hojas apicales (jóvenes), debido a la baja movilidad del Fe en la planta (Álvarez-Fernández et al., 2003). En las especies frutales susceptibles, tales como el palto, limonero, duraznero y manzano, la carencia de Fe causa una importante disminución en los rendimientos y pérdidas sustantivas en la calidad de la fruta (Razeto, 2006).

La causa principal de la carencia de Fe en los arándanos se debe al pH neutro-alkalino de los suelos y al carácter calcífugo de la especie, la cual ha evolucionado en ambientes con suelos ácidos y sub-ácidos. En efecto, el arándano desarrolla un crecimiento y productividad óptimas en rangos de pH entre 4,0 y 5,5 en el suelo (Retamales y Hancock, 2012a). Por sobre tales valores, las plantas podrían presentar problemas nutricionales importantes, los que repercuten en características vegeto-reproductivas, ya que el pH influye en la disponibilidad de varios elementos minerales esenciales para las plantas además del Fe. Por ello, la carencia de Fe, se presenta en forma importante en huertos localizados en la zona central y norte de Chile, debido a la presencia de elevadas concentraciones de carbonatos de calcio y bicarbonatos en los suelos, los cuales tamponan el pH del suelo en rangos elevados (Retamales y Hancock, 2012b).

Dependiendo del mecanismo de absorción del Fe y de las respuestas fisiológicas que las plantas pueden exhibir ante un déficit de tal micronutriente, las plantas se clasifican en dos estrategias de absorción de Fe (Mengel, 2000). La estrategia I, es típica de especies monocotiledóneas no gramíneas y dicotiledóneas, como lo es el arándano. Estas plantas absorben el micronutriente desde el suelo como Fe^{+2} . En suelos de pH alcalino, el Fe^{+2} se oxida a Fe^{+3} y, en consecuencia, tal mineral está presente como una forma química no soluble y disponible para este tipo de plantas (Marschner, 2011).

Frente a un déficit de Fe las plantas de estrategia I tolerantes a tal carencia, tienen la habilidad de activar algunas respuestas fisiológicas para hacer frente a este problema nutricional. Entre estas se destacan la reducción del pH en la rizósfera a través de la expulsión de protones mediante la enzima intermembrana ATP-asa. Otro mecanismo es reducir directamente el Fe^{+3} a Fe^{+2} en la

membrana de las raíces mediante el incremento en la actividad de la enzima Fe-quelato reductasa (FCR). También, las plantas tolerantes al déficit de Fe responden mediante un incremento en la concentración y exudación de compuestos quelantes y reductores del Fe (polifenoles y ácidos orgánicos), y de tal modo se favorece la absorción del metal. El aumento en la concentración de ácidos orgánicos es llevada a cabo por las plantas a través del incremento en la actividad de la enzima fosfoenolpiruvato carboxilasa (PEPC) y de otras enzimas vinculadas al ciclo de Krebs (Rombolà et al., 2002).

Por otra parte, la estrategia II de absorción del Fe es propia de especies monocotiledóneas y se basa en la síntesis y exudación radical de fitosideróforos (PS) a la rizósfera. Los PS son compuestos quelantes naturales del Fe y otros metales, y una vez en la rizósfera, estos se disuelven y forman complejos con el Fe^{+3} , pudiendo ser absorbido por las raíces mediante el transportador intermembrana YS1 (Kim y Guerinot, 2007). Este tipo de estrategia es utilizada principalmente por las especies gramíneas (Robinson, 1999), las que han sido clasificadas como especies vegetales de mayor tolerancia al déficit de Fe en comparación con las plantas de estrategia I.

Los manejos más utilizados por los productores de la zona central de Chile, para prevenir o corregir la clorosis férrica, en suelos con altos contenidos de carbonatos de calcio, se basan en aplicaciones de quelatos de Fe sintéticos por vía foliar o al suelo. Diversos estudios conducidos en campo y en condiciones controladas han evidenciado que la aplicación de quelatos de Fe al suelo constituye una herramienta efectiva para la corrección del déficit de Fe (Covarrubias et al., 2014; Lucena, 2003). Su eficacia es directamente proporcional a su capacidad para mantener Fe en forma disponible para la planta, en cantidad y durante el tiempo necesario para que ésta lo absorba mediante las raíces (Lucena, 2003). En tal contexto, es importante conocer la estabilidad del complejo Fe-quelato, la cual está estrechamente vinculada al pH del suelo. A pH de suelo elevados, el Ca^{+2} presente en el suelo en altas concentraciones puede desplazar al Fe^{+3} de los quelatos menos estables, resultando tal reacción en un aumento de los quelatos de Ca y precipitando el Fe como óxido (Mengel, 2000). Entre los distintos quelatos de Fe disponibles en el mercado, se destaca el quelato Fe-EDDHA, el cual es estable entre pH 4 y 10, y es altamente eficiente para corregir carencias de Fe en cultivos establecidos en una amplia gama de suelos. (Lucena, 2003). Sin embargo es importante tener en consideración que los quelatos tienen un alto costo de adquisición en el mercado, requieren de repetidas aplicaciones y, debido a su elevada estabilidad y solubilidad, aumentan el riesgo de lixiviación de metales y agentes quelantes en napas freáticas profundas del suelo, lo que implicaría un riesgo ambiental y de salud humana (Rombolá y Tagliavini, 2006).

Además, otra estrategia ampliamente utilizada para controlar la clorosis férrica en los cultivos es la aplicación al suelo de ácidos inorgánicos a través del riego, principalmente de ácido sulfúrico o fosfórico (Nikolic et al., 1998). Las aplicaciones de ácidos inorgánicos al suelo, son una técnica basada en reducir de manera temporal el pH en la rizósfera, dejando disponible algunos nutrientes minerales como el Fe (Mendoza, 2000). El ácido sulfúrico, acidifica el suelo con mayor eficacia respecto del azufre elemental, especialmente en suelos débilmente tamponados (Horneck et al., 2004), ya que cuando se utiliza azufre elemental, la transformación del azufre a ácidos es un proceso mediado por microorganismos, los que requiere de tiempo, humedad y temperaturas cálidas (Horneck et al., 2004).

Una de las desventajas de las aplicaciones de ácidos inorgánicos al suelo es que constituyen una estrategia peligrosa y difícil de utilizar para los operarios agrícolas (Horneck et al., 2004). Además, aumentan significativamente conductividad eléctrica del suelo, afectando directamente al cultivo y reduciendo la disponibilidad de otros nutrientes (Ferreira et al., 2008). Otro inconveniente de su implementación, es que las aplicaciones repetidas de ácido sulfúrico en el suelo pueden inducir efectos perjudiciales sobre la biomasa microbiana, hongos o micorrizas (Hanson, 2006). También, el ácido sulfúrico reacciona con el carbonato de calcio y bicarbonato de sodio, abundantes en este tipo de suelos, mediante rutas químicas que traen como consecuencia un incremento en las emisiones de CO₂ del suelo a la atmósfera (Horneck et al., 2006).

Tales evidencias, revelan la importancia de estudiar nuevas estrategias para el control de la clorosis férrica en el arándano, que permitan al agricultor disminuir los costos de producción y, sobre todo, que su utilización sea altamente eficaz y de bajo impacto ambiental (Rombolà y Tagliavini, 2006). Actualmente, entre las técnicas que se encuentran en estudio y evaluación en otras especies, están el uso de fuentes naturales de Fe, como la aplicación de sangre animal, y la asociación del cultivo con especies gramíneas.

Los compuestos derivados de sangre animal contienen una importante concentración de Fe quelatado, (20-30 g Fe kg⁻¹ producto) debido al grupo 'hemo' presente en la hemoglobina, el cual puede ser absorbido por las plantas (Tessarini et al., 2013; Yunta et al., 2013). Recientemente, se han investigado nuevas formulaciones basadas en sangre bovina líquida con un contenido de 0,125 % de Fe y 5% de N, demostrando una alta estabilidad y capacidad de mantener el Fe disponible para las plantas en un suelo calcáreo (Yunta et al., 2013). En diferentes combinaciones injerto/patrón y portainjertos micropropagados de la vid, la adición de tales formulaciones al suelo incrementó el contenido de clorofila foliar con una efectividad similar a la inducida por un el quelato Fe-EDDHA (Tessarini et al., 2013). En un estudio realizado por Kalbasi y Shariatmadari, citado por Yunta et al. (2013), se demostró que la aplicación de Fe mediante harina de sangre animal, obtuvo una eficacia análoga para corregir la carencia de Fe en un cultivo de soya, respecto de la aplicación al suelo de un quelato de Fe o-o-EDDHA/Fe. En tal estudio, el rendimiento y el contenido de Fe en las plantas que recibieron harina de sangre fueron mayores respecto del control, y no mostraron diferencias respecto de las plantas que recibieron quelatos de Fe. Lo anterior, sugiere que este tipo de productos naturales puede ser una alternativa sustentable y eficaz para corregir la clorosis férrica en huertos de arándanos con clorosis férrica.

Por otra parte estudios recientes focalizados en la absorción de Fe en especies gramíneas, han evidenciado que el Fe acomplejado con los PS exudados por las raíces de tales plantas, puede ser absorbido por plantas dicotiledóneas, tan eficazmente como aquel transportado en el suelo mediante quelatos sintéticos. Por lo tanto, la asociación del cultivo con una especie gramínea podría representar una estrategia válida para corregir el déficit de Fe en los arándanos. La eficacia de prevención de la clorosis mediante asociación con gramíneas, depende de la capacidad de las gramíneas utilizadas para exudar PS (Ammari y Rombolà, 2010).

Los PS 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). La secreción de los ácidos mugineicos se produce en la rizósfera. Luego, estos quelantes naturales se unen con el Fe insoluble (Fe^{+3}) en el medio del suelo, volviéndolo un poco más soluble en agua. Finalmente, el Fe es transportado hacia las células de la raíz a través de un sistema de transporte de Fe altamente específico (Singh, 2011), debido a que este sistema reconoce el complejo AM-Fe, pero no el de cobre, zinc y cobalto, principalmente por diferencias en su estereo estructura (Nomoto et al., 1981, citado por Ma y Nomoto, 1996; Mino et al., 1983, citado por Ma y Nomoto, 1996). Dicho complejo, al ser soluble en agua, se moviliza hasta la zona radicular e ingresa a las células de la raíz, donde es absorbido.

Cabe destacar que, en casos de carencia de Fe, los ácidos mugineicos son sintetizados por las gramíneas antes de que la clorosis aparezca como síntoma. Esta biosíntesis será mayor mientras mayor sea la carencia (Takaji, 1984). Ma y Nomoto (citado por Ma y Nomoto, 1996) encontraron que los ácidos mugineicos se sintetizan durante todo el día y se acumulan en vesículas especiales de las células radicales para ser secretados en la mañana del día siguiente.

Numerosos estudios han reportado resultados positivos de la asociación con gramíneas 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). Por otra parte 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 una investigación llevada a cabo por Ma et al. (2003), se demostró que la especie *Festuca rubra* L., es altamente eficiente en la secreción de PS y se caracteriza por un ritmo circadiano de secreción el cual está influenciado por la temperatura de la raíz. En otro estudio sobre vides establecidas en macetas con un suelo calcáreo (20% de cal activa), se observó que la asociación de las vides con la especie gramínea *Festuca rubra* L., incrementó significativamente el nivel de clorofila de las hojas y contribuyó a mitigar significativamente el déficit de Fe en las plantas (Covarrubias et al., 2014).

Actualmente, los productores de arándano de la zona central de Chile están en permanente búsqueda de técnicas eficientes para controlar el déficit de Fe, que les permitan producir con bajos costos y con un bajo impacto ambiental, para de esta forma responder a la creciente demanda de los mercados, los cuales son cada vez más exigentes. Sumado a ello, evidencias relativas a la evaluación de alternativas sostenibles y amigables con el medioambiente, para corregir el déficit de Fe en el arándano alto, tales como la aplicación de compuestos formulados a base de sangre bovina y la asociación del cultivo con especies gramíneas, no han sido reportadas en la literatura científica y de divulgación, lo que vuelve novedosa e interesante la siguiente investigación.

Hipótesis

Técnicas de manejo sostenibles, basadas en el uso de compuestos derivados de sangre animal o en la asociación del cultivo con especies gramíneas, corrigen eficazmente la clorosis férrica en el arándano.

Objetivo general

Evaluar la eficacia de técnicas de manejo sostenible, basadas en el uso de compuestos derivados de sangre animal o en la asociación del cultivo con diferentes especies gramíneas, en la corrección de clorosis férrica en el arándano a nivel de campo.

Objetivos específicos

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible en el crecimiento vegetativo del arándano.

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible en variables productivas del arándano.

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible en variables fisiológicas del arándano.

Evaluar el efecto de técnicas de manejo sostenible en variables relativas a la calidad de la fruta en el arándano.

MATERIALES Y MÉTODO

Lugar de estudio

El experimento 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.).

La investigación se llevó a cabo en este huerto debido, principalmente, a las propiedades del suelo, las cuales eran propicias para ocasionar síntomas de clorosis férrica en las plantas (Cuadro 1).

Cuadro 1. Propiedades químicas del suelo en el que se desarrolló la investigación.

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

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

En el laboratorio de Nutrición Vegetal, perteneciente al Departamento de Producción Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Chile, se realizaron las evaluaciones en cuanto al contenido de clorofila foliar, la concentración de macro y micro nutrientes en las hojas, el peso de bayas y rendimiento de plantas. Las evaluaciones correspondientes a calidad de bayas, se realizaron en el Laboratorio de Calidad de la Fruta, perteneciente al Departamento de Producción Agrícola. La extracción y el análisis de compuestos fenólicos y antocianinas se efectuaron en el Laboratorio de Análisis Cromatográfico y Antioxidantes, el cual pertenece al Departamento de Agroindustria y Enología.

Material vegetal

El sector del huerto en el cual se llevó a cabo esta investigación se encuentra en una ladera y fue plantado, en el año 2012, sobre camellones de 0,9 m de ancho y 0,4 m de alto. Las plantas son de la variedad 'Emerald' y tienen 3 años de edad. El cuartel del huerto está establecido en un marco de plantación de 3 x 0,8 m, con orientación noreste-suroeste y se encuentra bajo un sistema de riego por goteo. Las labores agronómicas de riego, fertilización y control fitosanitario se realizaron de acuerdo al criterio y manejo implementado por la administración del campo.

Tratamientos y diseño experimental

El ensayo fue establecido en otoño de 2013. Para ello, se seleccionaron 5 hileras contiguas y homogéneas en tamaño, vigor y grado de clorosis férrica. Las evaluaciones que se llevaron a cabo en la presente memoria, corresponden al tercer año de experimentación.

Se utilizó un diseño en bloques completamente aleatorizado. El factor de bloqueo fue la altura de la ladera. La unidad experimental (UE) fue de 10 plantas y la unidad de observación (UO) de 4 plantas. Cada UE estuvo separada de la siguiente por 2 o 3 plantas. Lo mismo rigió para separar la primera UE del callejón principal.

Los tratamientos implementados fueron los siguientes: 1) control; 2) aplicación de quelato de Fe al suelo (Fe-EDDHA) 3) aplicación de un compuesto formulado a base de sangre bovina L.; 4) asociación con *Poa pratensis* L. y 5) asociación con *Festuca rubra* L. Cada tratamiento tuvo 5 repeticiones, cada una de ellas compuesta por 10 plantas.

En el tratamiento control, se utilizaron plantas sin tratamiento para el control de la clorosis férrica. Para el tratamiento 2, se utilizó el producto comercial BASAFER® Plus, el cual corresponde a un quelato Fe-EDDHA (Fe-etilendiamino - N, N'- di (2-hidroxifenil) ácido acético). Este se preparó con una concentración de 4 g l⁻¹ y se aplicó en dosis de 0,5 L por planta, cada dos semanas, desde inicio de brotación hasta el final de la temporada. Para el tratamiento 3, se utilizó un compuesto a base de sangre bovina de nombre comercial H.D.S® (14-0-0). La solución fertilizante se preparó con una concentración de 20 g l⁻¹ y se aplicó en dosis de 0,5 L por planta, cada dos semanas, desde inicio de brotación hasta el final de la temporada.

En el caso de los tratamientos 4 y 5, la asociación se logró mediante una siembra con las especies gramíneas en la sobre-hilera del cultivo, en cada unidad experimental. La siembra se realizó durante el otoño de 2014, a una densidad de 20.000 semillas por m². Las semillas eran certificadas y se encontraban en perfecto estado sanitario. El procedimiento de la siembra consistió en mullir el suelo, colocar la semilla a 0,5 cm de profundidad, aproximadamente, taparla con una capa delgada de suelo del lugar y luego esparcir con arena de forma superficial, con el objeto de mejorar la infiltración del agua y proteger la siembra del ataque de pájaros. Finalmente se aplicó agua con un pulverizador manual de 5 L. Durante las 2 primeras semanas desde la fecha de siembra, se efectuó un riego diario, mediante microaspersión en las plantas asociadas con gramíneas, para de esta manera favorecer la germinación.

Para evitar la ocurrencia de la competencia con el cultivo de arándano, las gramíneas fueron segadas, cuando sobrepasaron una altura aproximada de 10 cm.

Evaluaciones

Con el objetivo de realizar mediciones que fuesen reproducibles, se utilizó la tabla que desarrolló el Servicio de Extensión de la Universidad de Michigan (Michigan State University Extension Service, 2012), la cual describe cada uno de los estados, tanto vegetativos como reproductivos, que componen la fenología del arándano (*Vaccinium* sp.). Identificando las siguientes fenofases: de reposo invernal, fin de floración, inicio de brotación, inicio de crecimiento activo, cuaje, maduración y caída de hojas. Corresponden, en dicha tabla, a los estados '*Dormant or tight bud*', '*Petal fall*', '*Late Green tip*', '*Shoot expansion*', '*Early green fruit stage*', '*75% Blue*' y '*Fall color*', respectivamente.

Variables vegetativas

Longitud de brotes. Durante el receso invernal (*Dormant or tight bud stage*) se marcaron 2 yemas vegetativas, cada una en un brote distinto, en cada planta de la unidad de observación, haciendo un total de 8 yemas/UE. La marca se realizó con una cinta de color, la cual se colocó en el nudo inmediatamente posterior al de la yema vegetativa seleccionada. Una vez iniciada la brotación (*Late Green tip stage*), se realizó un seguimiento del crecimiento, para lo cual se midió la longitud del brote, cada 2 semanas, hasta el final de la temporada (*Fall color stage*).

Al final de la temporada (*Fall color stage*), y en cada planta de la UO, se marcaron dos cañas emergidas en verano, en cada planta de la unidad de observación, haciendo un total de 8 cañas/UE. 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.

Concentración foliar de clorofila. Se utilizaron los mismos brotes usados para medir longitud. La evaluación se hizo en la primera hoja completamente expandida de cada brote marcado. Esta medición se hizo cada 2 semanas, desde inicio de brotación (*Late Green tip stage*) hasta final de temporada (*Fall color stage*). Se usó un clorofilómetro portátil (SPAD Minolta 502, Konica Minolta, Osaka, Japón). Cada valor SPAD se obtuvo del promedio de 2 mediciones por hoja, cada una a un lado de la nervadura central, en el tercio medio de estas.

Curva de calibración. Debido a que el índice que arroja el SPAD se relaciona significativamente con la concentración de clorofila de las hojas (Syvertsen, 1987), se realizó una curva de calibración. Por ello, se colectaron, al azar, 15 hojas de la misma edad y con distinto grado de clorosis. A cada una de ellas, se le midió el índice SPAD. Luego, se les determinó la concentración de clorofila en el laboratorio, según el método de Wellburn (1994). Con los resultados, se elaboró la curva de calibración, la que se utilizó para conocer la concentración de clorofila de las hojas evaluadas mediante el SPAD.

VARIABLES PRODUCTIVAS

Rendimiento de plantas. Se evaluó el rendimiento individual de cada planta de la UO. Durante la cosecha (75% *Blue stage*), la producción total de cada planta fue recolectada, se colocó en una bolsa, previamente identificada, y se pesó en una balanza digital granataria (modelo AQT 2600, Adam, Connecticut, EE.UU.).

Peso de bayas. Durante la cosecha (desde 75% *Blue stage*), en cada una de las pasadas se tomaron muestras al azar compuestas por 100 frutos de 4 repeticiones por tratamiento. Se pesó cada muestra en una balanza digital granataria (modelo AQT 2600, Adam, Connecticut, EE.UU.) y se obtuvo el peso promedio de cada muestra.

VARIABLES RELATIVAS A LA CALIDAD DE LAS BAYAS

Calidad de bayas. Se utilizaron muestras compuestas de 50 frutos por UE obtenidas en cada una de las cosechas evaluadas. Cada muestra se analizó por separado. En cada muestra se evaluó la firmeza el mismo día de la cosecha. Luego estas mismas bayas se congelaron, se pelaron y se separó la piel y pulpa. Las muestras de piel, las cuales fueron congeladas para posteriormente utilizarla para el análisis y cuantificación de compuestos fenólicos.

La pulpa se usó para medir sólidos solubles, pH y acidez titulable, ésta se expuso a temperatura ambiente durante 15 horas, con el objetivo de descongelarla, luego 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.

Firmeza. La firmeza de los frutos se determinó el mismo día de la cosecha. Las bayas fueron cosechadas y colocadas en cajas plásticas de 125 g con tapa, para luego ser transportadas desde huerto hasta el laboratorio, en donde se realizó la evaluación (Apéndice I, Foto 1). El equipo utilizado fue un texturómetro motorizado (modelo FTA 65-14, GÜSS, Strand, Sudáfrica), con un émbolo de 3 cm de diámetro, programado para ejercer una deformación de 1 mm en los frutos. 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).

Concentración de sólidos solubles. Se midió con un refractómetro termo-compensado (modelo PAL-1, Atago, Japón) y se evaluó el jugo de la pulpa de la muestra a 20°C.

Acidez titulable y pH. Utilizando 10 mL de jugo de cada muestra, cada muestra una por UE, con NaOH 0,1 N, la acidez titulable se midió mediante un titulador automático (modelo PHS-3BW, Bausch & Lomb, Shandong, China) 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:

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

Donde: V= volumen de NaOH utilizado (mL)

C= concentración de NaOH (N)

M= cantidad de muestra (mL)

F= factor ácido cítrico = 0,06404

El valor del pH se obtuvo a través de 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.

Concentración de antocianinas y compuestos fenólicos

Para la evaluación en cuanto a la concentración de antocianinas y compuestos fenólicos se utilizó la piel, la cual se expuso a temperatura ambiente, con el objetivo de descongelarla.

Extracción de compuestos fenólicos

Para la obtención del extracto que se utilizó para determinar la concentración de antocianinas y compuestos fenólicos, las pieles fueron homogeneizadas con una minipimer en una solución metanol:agua (80:20 v/v). 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 centrífuga (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.

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 presión. Se utilizó 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 250 mm. Los cromatogramas correspondieron a temperatura ambiente, longitud de onda de detección 520 nm y volumen de inyección de 10 µL. 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 presión (HPLC-DAD), previa filtración del extracto en membranas de 0,45 µm. El equipo utilizado fue el mismo que en el caso de las antocianinas.

Los cromatogramas midieron a temperatura ambiente, longitud de detección a 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.

Variables fisiológicas

Fotosíntesis. Se determinó la tasa de asimilación de CO_2 foliar en dos momentos: inicio de crecimiento activo (*Shoot expansion stage*), y final de temporada (*Fall color stage*). Los registros se realizaron en la primera hoja completamente expandida de un brote por UE, seleccionado previamente. Se utilizó un analizador infrarrojo de gases portátil IRGA (IRGA, LCi-ADC, Londres, Reino Unido). Luego de las mediciones, se colectaron los valores de fotosíntesis neta ($\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentración interna de CO_2 en la hoja ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), conductancia estomática ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), transpiración de la hoja ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y temperatura de la hoja ($^{\circ}\text{C}$).

Concentración de macro y micronutrientes foliar. Se colectó una muestra foliar por UE, y en ellas se determinó la concentración de algunos macro y micronutrientes. La muestra estaba compuesta por 100 hojas completamente expandidas, colectadas del 4° al 6° nudo vegetativo. El muestreo se realizó una vez iniciada la cosecha (75% *Blue stage*). Estas hojas fueron secadas mediante estufa a 70°C por 20 minutos y se les determinó el porcentaje de materia seca. Posteriormente las muestras fueron trituradas en un molino y 200 mg de peso seco de la muestra, fueron sometidos a digestión ácida en 3 mL de ácido nítrico y 1 mL de peróxido de hidrógeno a 180°C por 20 minutos en un microondas (Anton Para 3200, Austria). El líquido resultante de la mineralización fue diluido hasta completar 20 mL con agua des ionizada. La lectura de las muestras se realizó mediante un Espectrómetro por Emisión Atómica inducido por Plasma de Microondas MP-AES 4200 (Agilent Technologies). Mediante la técnica descrita se determinó la concentración de P, K, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn, Cu y B.

Luego, de la muestra triturada en el molino, se pesaron 500 mg de materia para medir el N total, en donde se utilizó el método Kjeldahl (Bremmer y Mulvaney, 1982). La digestión se realizó con 3 mL por muestra ácido sulfúrico valorado al 0,05 N a 400°C , con la utilización de peróxido de hidrógeno al 30% como catalizador, el cual se agregó 3-4 veces, dependiendo si la muestra alcanzaba un color transparente. El H_2O_2 se agregó cada 15 minutos. El líquido resultante fue diluido hasta completar 100 mL. Luego se realizó la destilación de las muestras, en donde en un matraz Kjeldahl de 100 mL se agregó 10 mL de la muestra obtenida de la digestión (alícuota), también se agregaron 3 gotas de fenolftaleína al 0,1% y lentamente se agregó 5 mL de NaOH (60%). Se conectó el matraz al equipo de destilación y la muestra era recibida en un matraz de 50 mL, el cual contenía 5 mL de H_3BO_3 al 2%. La destilación se detenía hasta completar 30 mL en el matraz de 50 mL. Para evitar pérdidas, este último matraz durante la destilación se cubrió con parafilm. Finalmente se tituló la muestra destilada con una solución de H_2SO_4 al 0,007 N. Se titularon también dos muestras blanco, las cuales solo se diferencian en que no poseen ningún material vegetal. El valor obtenido en la titulación, se ingresa en la siguiente formula, para así obtener y expresar el valor de nitrógeno total:

$$N(\text{ppm o mg kg}^{-1}) = \frac{(V_m - V_b) \cdot P.E \cdot N \cdot V_t \cdot 10^6}{V_a \cdot \text{peso de la muestra (g)} \cdot 10^3}$$

Donde: V_m = Gasto de H_2SO_4 en la titulación de la muestra (mL)
 V_b = Gasto de H_2SO_4 en la titulación de los blancos (mL)
 N = Normalidad del H_2SO_4
 $P.E$ = Peso equivalente del nitrógeno (14)
 V_a = Volumen de alícuota (10 mL)
 V_t = Volumen total del extracto (100 mL)

Análisis estadístico

Se analizó si existen diferencias estadísticamente significativas, entre los distintos tratamientos, bajo el marco teórico de Modelos Lineales Mixtos.

Se ajustó un modelo mixto de análisis de varianza para medidas repetidas en el tiempo del crecimiento de brotes y concentración de clorofila. El modelo incluyó el tratamiento, la fecha de medición y la interacción tratamiento*fecha.

Para la determinación de la bondad de ajuste de los modelos seleccionados, se valoró los criterios de selección “Akaike Information Criterion” (AIC) (Akaike, 1974) y “Bayesian Information Criterion (BIC) (Schwarz, 1978) (Yang, 2005), que indican el ajuste del modelo.

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 estos modelos se realizó utilizando la función glm 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

Variables vegetativas

Longitud de brotes

A partir del 17 de octubre, se distinguieron dos flujos de crecimiento de los brotes. El primero correspondió al crecimiento de los brotes de primavera y el segundo al crecimiento de verano, el cual ocurrió principalmente en las ramificaciones de los brotes de la corona (Figura 1).

Durante el período de crecimiento de brotes de primavera, sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos en la fecha de medición del 17 de octubre, en donde las plantas sometidas a la aplicación de Fe-EDDHA presentaron una mayor longitud de brotes en comparación con el resto de los tratamientos. Durante el crecimiento de brotes de verano, a partir del 7 de diciembre, la aplicación de Fe-EDDHA y ocasionalmente la aplicación de Fe-hemo incrementaron el largo de los brotes en comparación con el resto de los tratamientos (Figura 1).

Por otra parte, las plantas asociadas con gramíneas no se diferenciaron significativamente de las plantas control en ninguna de las fechas evaluadas (Figura 1).

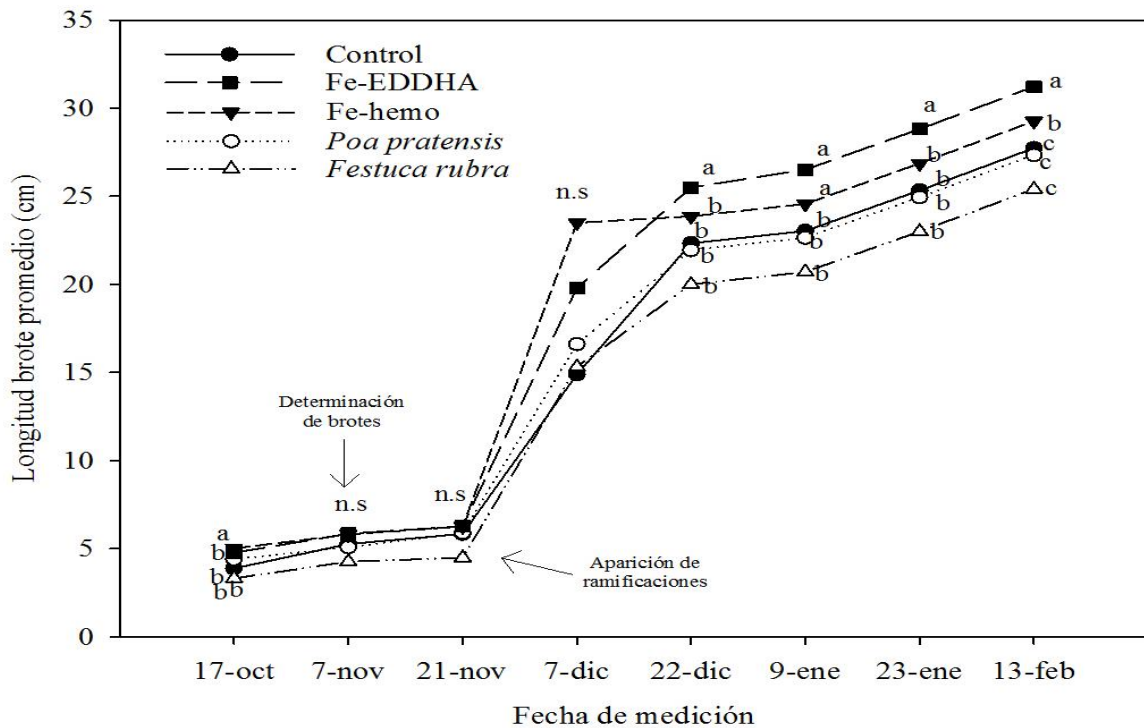


Figura 1. Largo (cm) de brotes durante la temporada en arándanos variedad 'Emerald' sometidos a tratamientos de corrección del déficit de Fe. Medias ajustadas con letras diferentes en cada fecha indican diferencias significativas según prueba de comparación múltiple LSD Fisher ($p < 0,05$).

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 obtenido mediante el SPAD (Figura 2). Durante el período comprendido entre el 17 de octubre y el 7 de diciembre, los tratamientos no influenciaron la concentración de clorofila foliar en los arándanos. En la fecha de medición del 30 de diciembre, se observó que la aplicación de Fe-EDDHA incrementó significativamente la concentración de clorofila foliar en comparación con el resto de los tratamientos, mientras que la sangre bovina la redujo. El resto de los tratamientos mostraron una concentración de clorofila intermedia (Figura 3). Sucesivamente, en las últimas dos fechas de medición, las plantas tratadas con Fe-EDDHA mostraron una mayor concentración de clorofila en las hojas en comparación con el resto de los tratamientos (Figura 3).

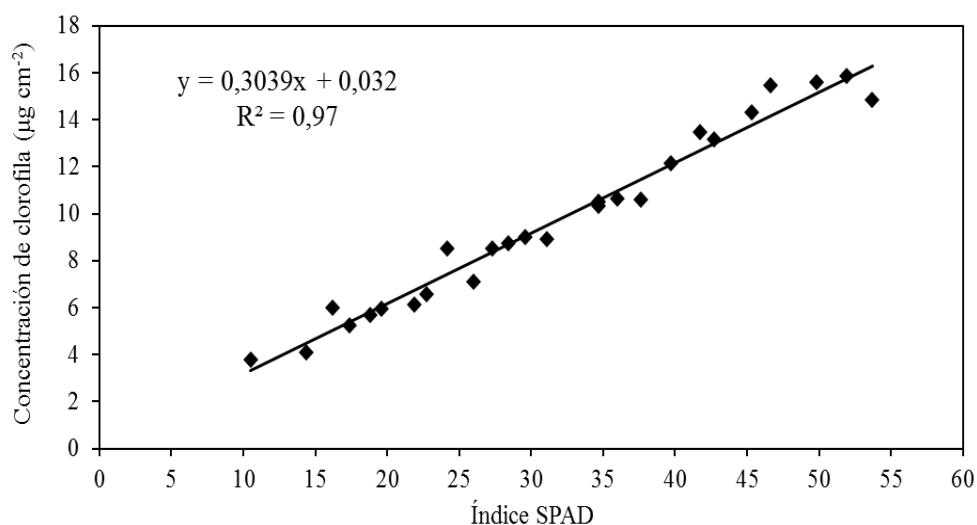


Figura 2. Concentración foliar de clorofila ($\mu\text{g cm}^{-2}$), en hojas completamente expandidas de arándano 'Emerald', en función del índice SPAD ($p < 0,0001$).

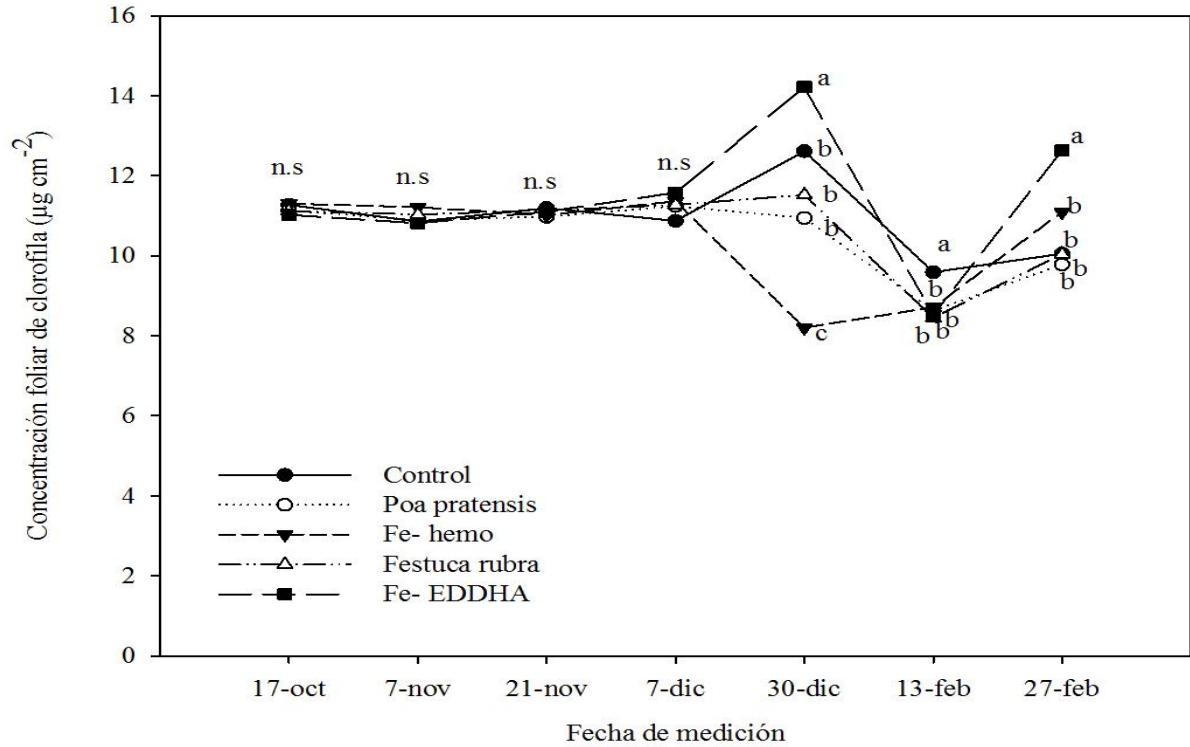


Figura 3. Evolución de la concentración foliar de clorofila ($\mu\text{g cm}^{-2}$), durante la temporada, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe. Medias ajustadas con letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos según la prueba LSD Fisher ($p < 0,05$).

Variables productivas

Curva de distribución de cosecha

La cosecha de los arándanos se realizó en forma parcializada desde el 10 de octubre al 12 de diciembre del 2015, en un total de 6 pasadas de cosecha. Los resultados relativos al peso promedio por planta en cada fecha de cosecha indican que, independientemente del tratamiento el mayor volumen de frutos cosechados se obtuvo en la última fecha de cosecha (Figura 2). Analizando los datos de cosecha por fecha, los resultados muestran que en la primera fecha de cosecha, las plantas asociadas con las dos especies gramíneas, presentaron una menor producción por planta en comparación con las plantas tratadas con Fe-hemo, Fe-EDDHA y con las de control (Figura 4).

En la fecha de cosecha correspondiente al 22 de octubre, se registró un mayor rendimiento por planta en aquellas tratadas con Fe- EDDHA, en comparación con los demás tratamientos (Figura 4), mientras que en las fechas de cosecha del 31 de octubre y del 14 de noviembre, la cosecha de frutos en las plantas asociadas con *Festuca rubra*, fue significativamente menor en comparación

con el resto de los tratamientos (Figura 4). En la fecha de cosecha siguiente, el testigo y las plantas tratadas con Fe- EDDHA, presentaron una producción por planta mayor respecto del resto de los tratamientos. En la última cosecha no se evidenciaron diferencias estadísticas entre los tratamientos (Figura 4).

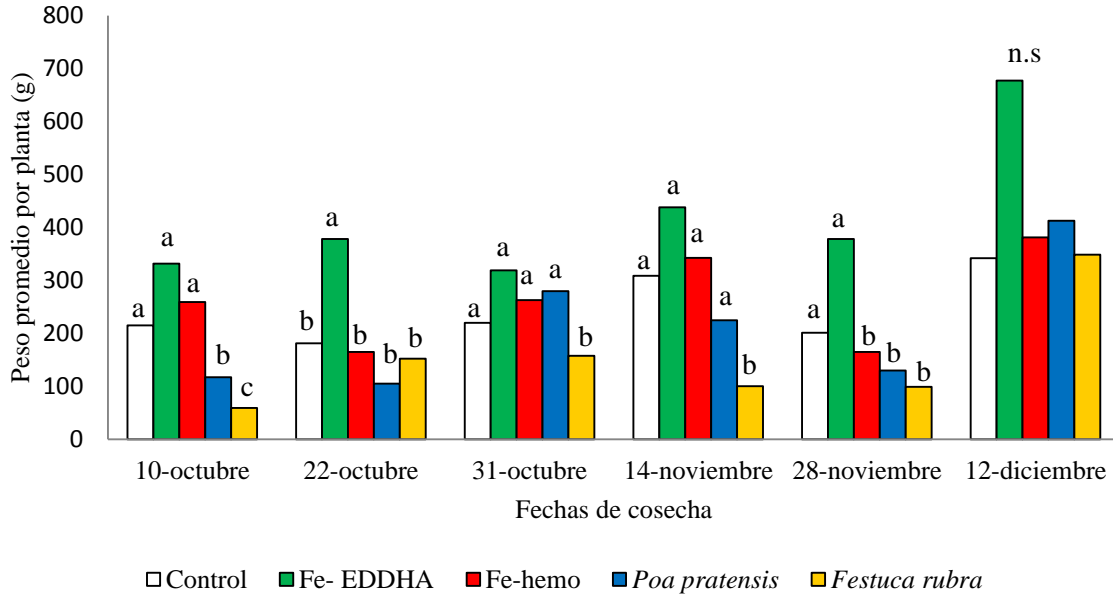


Figura 4. Peso promedio de fruta cosechada por planta (g), en cada fecha de cosecha de arándanos ‘Emerald’ bajo tratamientos de corrección del déficit de Fe. Medias ajustadas con letras diferentes por fecha indican diferencias significativas según prueba de comparación múltiple LSD Fisher ($p < 0,05$). Interacción tratamiento*fecha significativa ($p < 0,0001$). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

Por otra parte, los resultados obtenidos indican que la aplicación de Fe-EDDHA incrementó la carga frutal y la producción total por planta diferenciándose de manera significativa con los demás tratamientos (Cuadro 2). En contraste, la asociación de los arándanos con *Festuca rubra* redujo tales variables productivas respecto del control y el tratamiento con Fe-hemo, pero sin diferenciarse significativamente con la *Poa pratensis* (Cuadro 2).

Por su parte, las aplicaciones de Fe-hemo no modificaron el rendimiento y productividad de las plantas respecto del control (Cuadro 2).

Cuadro 2. Carga frutal (g/planta) y producción total (frutos/planta) promedio por planta en la temporada expresada en g, en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamiento	Carga frutal				Producción total			
	Frutos/planta				g/planta			
Control	763	±	107	b	1511	±	211	b
Fe- EDDHA	1256	±	167	a	2487	±	331	a
Fe- hemo	787	±	76	b	1559	±	151	b
<i>Poa pratensis</i>	673	±	127	bc	1333	±	252	bc
<i>Festuca rubra</i>	470	±	64	c	931	±	128	c
Significancia	p=0,0006				p=0,002			

En cada columna se presentan las medias ajustadas \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 ($p < 0,05$).

Peso de bayas

En la Figura 5, se presenta el peso promedio por fruto para cada tratamiento en las distintas cosechas. En la cosecha del 31 de octubre, la asociación de los arándanos con la gramínea *Festuca rubra* redujo significativamente el peso de los frutos respecto del resto de los tratamientos (Figura 5). Para el resto de las fechas de cosecha evaluadas, no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos para esta variable (Figura 5).

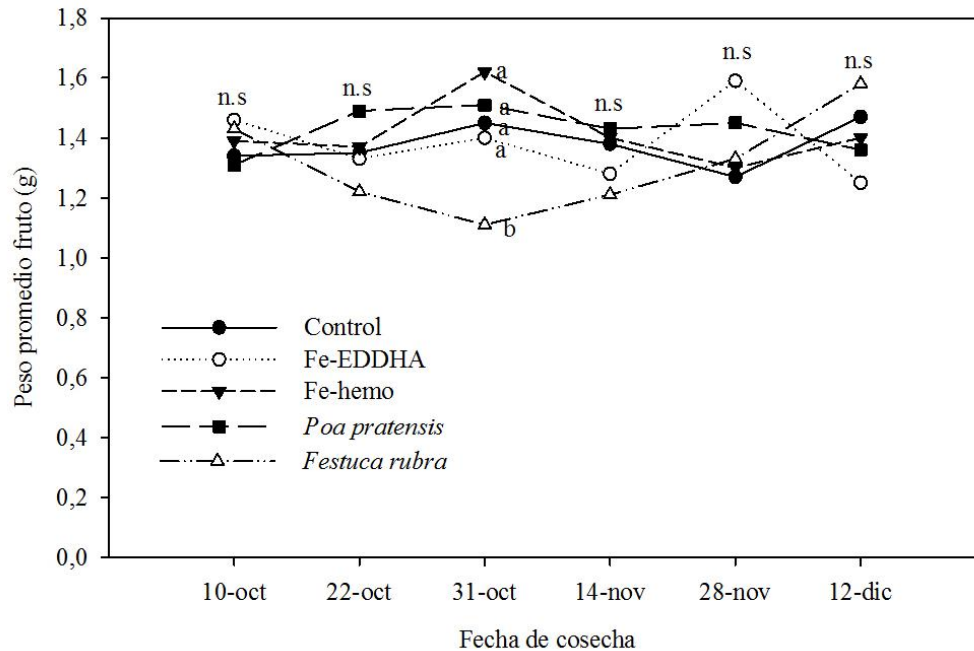


Figura 5. Peso promedio de fruto (g) por tratamiento, en cada fecha de cosecha de arándanos ‘Emerald’ bajo tratamientos de corrección del déficit de Fe. Medias ajustadas con letras diferentes por fecha indican diferencias significativas según prueba de comparación múltiple LSD Fisher ($p < 0,05$). n.s.= Sin diferencias significativas entre tratamientos.

Calidad de bayas

Los resultados indican que los tratamientos influenciaron la concentración de azúcares en las bayas de forma significativa en algunas fechas de cosecha (Cuadro 3).

Con respecto a la primera fecha de cosecha (22 de octubre), en la fruta proveniente de las plantas asociadas a la gramínea *Festuca rubra* se registró una mayor concentración de sólidos solubles en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 3). En contraste, en la fecha sucesiva (31 de octubre), se registró una mayor concentración de sólidos solubles en la fruta proveniente de las plantas control respecto de los demás tratamientos (Cuadro 3).

En la última cosecha evaluada, se observó que la asociación de los arándanos con la gramínea *Festuca rubra* redujo significativamente el contenido de sólidos solubles en las bayas con respecto al resto de los tratamientos (Cuadro 3). No se presentaron diferencias significativas en las fechas de cosecha del 14 de noviembre y 28 de noviembre.

Cuadro 3. Sólidos solubles (°Brix), evaluados en bayas provenientes de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamiento	Sólidos solubles °Brix				
	22-oct	31-oct	14-nov	28-nov	12-dic
Control	13,4 ± 0,36 b	14,5 ± 0,8 a	15,3 ± 0,3	14,3 ± 0,9	16,3 ± 0,7 a
Fe- EDDHA	13,0 ± 0,57 b	13,6 ± 1,0 b	15,2 ± 0,4	15,0 ± 1,9	16,0 ± 0,7 a
Fe- hemo	12,6 ± 0,57 b	13,6 ± 0,7 b	14,2 ± 0,3	14,5 ± 0,9	16,0 ± 0,8 a
<i>Poa pratensis</i>	13,0 ± 0,36 b	13,2 ± 0,7 b	14,7 ± 0,4	15,7 ± 1,9	16,3 ± 0,7 a
<i>Festuca rubra</i>	14,1 ± 0,57 a	13,7 ± 0,7 b	15,5 ± 0,4	15,0 ± 0,9	14,0 ± 0,8 b
Significancia	p < 0,001	p = 0,0002	n.s.	n.s.	p < 0,001

En cada columna se presentan la media ajustada ± 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.

Con respecto al pH de la pulpa, los resultados obtenidos no arrojaron diferencias significativas entre los tratamientos para las distintas fechas de cosecha (Cuadro 4).

Cuadro 4. pH de la pulpa de bayas provenientes de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamiento	pH				
	22-oct	31-oct	14-nov	28-nov	12-dic
Control	3,6 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,8 ± 0,2	4,3 ± 0,1
Fe- EDDHA	3,7 ± 0,2	4,0 ± 0,1	3,6 ± 0,2	3,7 ± 0,1	4,2 ± 0,1
Fe- hemo	3,6 ± 0,2	3,8 ± 0,2	4,0 ± 0,2	3,8 ± 0,1	4,3 ± 0,1
<i>Poa pratensis</i>	3,6 ± 0,1	3,8 ± 0,2	3,7 ± 0,1	4,0 ± 0,1	4,3 ± 0,2
<i>Festuca rubra</i>	3,5 ± 0,2	3,7 ± 0,1	3,8 ± 0,1	3,7 ± 0,2	4,2 ± 0,2
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s

En cada columna se presentan las medias ajustada ± 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 relación a la acidez de la fruta cosechada, el análisis de los resultados indica que sólo se presentaron diferencias estadísticamente significativas en la fecha de cosecha del 31 de octubre, en donde la aplicación con Fe-EDDHA redujo significativamente el porcentaje de ácido cítrico en las bayas con respecto al resto de los tratamientos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Acidez (% de ácido cítrico), evaluada en la pulpa de bayas provenientes de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamiento	Acidez % ácido cítrico				
	22-oct	31-oct	14-nov	28-nov	12-dic
Control	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,2 a	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,2
Fe- EDDHA	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,1 b	0,6 ± 0,2	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1
Fe- hemo	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,1 a	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,2
<i>Poa pratensis</i>	0,6 ± 0,1	0,4 ± 0,2 a	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,4 ± 0,1
<i>Festuca rubra</i>	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1 a	0,5 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Significancia	n.s	p = 0,002	n.s	n.s	n.s

En cada columna se presentan las medias ajustada ± 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.

Los resultados de la relación sólidos solubles/acidez de los frutos cosechados en el ensayo, indican que los tratamientos alteraron tal relación en la fruta cosechada en dos momentos (Cuadro 6).

En la cosecha del 31 de octubre, la fruta proveniente de las plantas tratadas con Fe- EDDHA y del control, presentaron una mayor relación sólidos solubles/acidez con respecto de los demás tratamientos (Cuadro 6). Por otra parte, en la fecha de cosecha del 28 de noviembre, la asociación de los arándanos con la gramínea *Poa pratensis*, incrementó significativamente la relación sólidos solubles/acidez en la fruta en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 6). En la fruta cosechada los días 22 de octubre, 14 de noviembre y 12 de diciembre, no registraron diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 6).

Cuadro 6. Relación sólidos solubles/acidez, evaluada en la pulpa de bayas de arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamiento	Sólidos solubles/acidez				
	22-oct	31-oct	14-nov	28-nov	12-dic
Control	29,0 ± 3,6	42,6 ± 5,9 a	33,3 ± 4,1	29,3 ± 3,6 b	48,7 ± 6,4
Fe- EDDHA	27,0 ± 5,5	49,0 ± 8,4 a	30,0 ± 3,7	25,6 ± 3,3 b	44,7 ± 5,7
Fe- hemo	21,2 ± 4,7	35,5 ± 4,4 b	35,3 ± 4,3	32,3 ± 4,0 b	48,5 ± 6,4
<i>Poa pratensis</i>	23,6 ± 3,1	33,0 ± 4,0 b	32,8 ± 4,0	39,5 ± 4,9 a	46,2 ± 5,4
<i>Festuca rubra</i>	27,1 ± 5,3	34,5 ± 4,2 b	33,0 ± 4,1	30,7 ± 3,8 b	47,7 ± 6,2
Significancia	n.s	p = 0,002	n.s	p < 0,001	n.s

En cada columna se presentan las medias ajustadas ± 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 términos generales, los tratamientos implementados no modificaron la firmeza de los frutos del ensayo (Cuadro 7). Solo en la segunda fecha de cosecha se registraron diferencias significativas entre los tratamientos, en donde la fruta proveniente de las plantas asociadas con ambas gramíneas presentó una menor firmeza en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Firmeza (N) en bayas de arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamiento	Firmeza				
	N				
	22-oct	31-oct	14-nov	28-nov	12-dic
Control	1,69 ± 0,1	1,83 ± 0,1 a	1,53 ± 0,1	1,53 ± 0,1	0,65 ± 0,1
Fe- EDDHA	1,62 ± 0,2	1,67 ± 0,1 a	1,60 ± 0,3	1,59 ± 0,1	0,71 ± 0,1
Fe- hemo	1,66 ± 0,2	1,81 ± 0,1 a	1,59 ± 0,1	1,66 ± 0,1	0,67 ± 0,3
<i>Poa pratensis</i>	1,63 ± 0,1	1,69 ± 0,2 b	1,51 ± 0,2	1,53 ± 0,2	0,68 ± 0,1
<i>Festuca rubra</i>	1,58 ± 0,1	1,68 ± 0,2 b	1,55 ± 0,2	1,49 ± 0,2	0,68 ± 0,2
Significancia	n.s	p = 0,005	n.s	n.s	n.s

En cada columna se presenta las medias ajustadas ± 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.

Análisis y cuantificación de compuestos fenólicos

Perfil de antocianinas

El cromatograma que arrojó 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 6). 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 6).

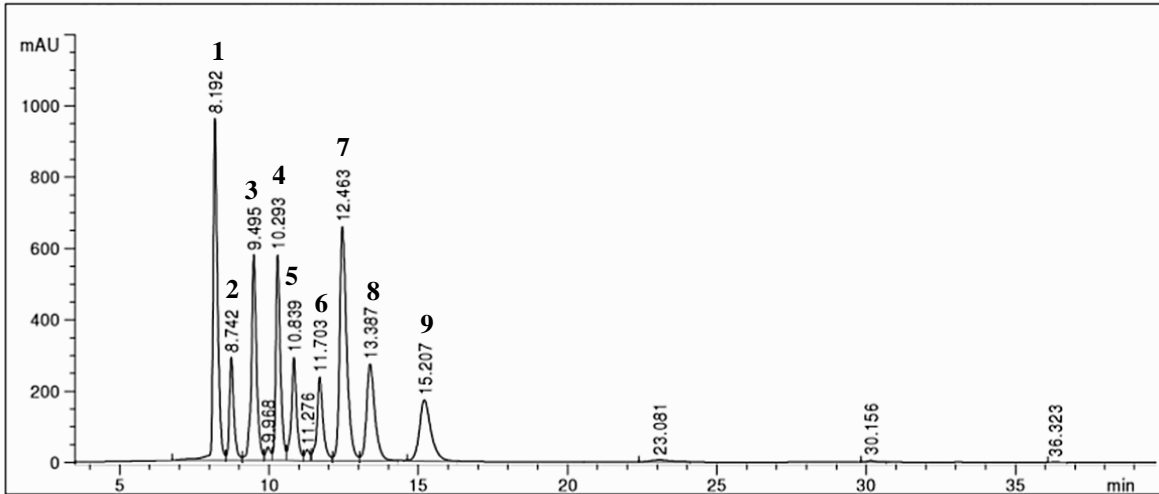


Figura 6. Cromatograma del perfil antocianico de la piel de arándanos 'Emerald'.

El análisis de varianza de los resultados obtenidos, reveló que no existían diferencias estadísticas significativas entre la interacción de los factores fecha y tratamiento, y en el factor fecha no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos.

La concentración de las diferentes antocianinas presentes en el perfil identificado, evidenció una tendencia similar para cada una de las nueve antocianinas. En cuanto al efecto de los tratamientos, los resultados obtenidos indican que la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas incrementaron la concentración de todos los antocianos, diferenciándose estadísticamente del testigo y de la sangre bovina (Cuadro 8).

Cuadro 8. Concentración (mg g⁻¹ 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 Fe.

Antocianina (mg g ⁻¹ piel)	Control	Fe-EDDHA	Fe-hemo	<i>Poa pratensis</i>	<i>Festuca rubra</i>	Significancia
Delfinidina 3-galactósido	0,078 ± 0,010 b	0,189 ± 0,020 a	0,083 ± 0,013 b	0,125 ± 0,011 a	0,110 ± 0,010 a	p= 0,0006
Delfinidina 3-glucósido	0,022 ± 0,005 b	0,041 ± 0,007 a	0,022 ± 0,005 b	0,041 ± 0,007 a	0,034 ± 0,007 a	p= 0,0006
Cianidina 3-galactósido	0,062 ± 0,010 b	0,076 ± 0,004 a	0,045 ± 0,004 b	0,076 ± 0,010 a	0,071 ± 0,010 ab	p= 0,023
Delfinidina 3-arabinósido	0,055 ± 0,010 b	0,066 ± 0,004 a	0,038 ± 0,004 b	0,070 ± 0,010 a	0,066 ± 0,010 a	p= 0,0002
Petunidina 3-galactósido	0,026 ± 0,002 c	0,051 ± 0,002 a	0,029 ± 0,004 b	0,038 ± 0,010 ab	0,032 ± 0,002 b	p= 0,005
Petunidina 3-arabinósido	0,024 ± 0,002 b	0,037 ± 0,004 a	0,027 ± 0,002 b	0,034 ± 0,010 a	0,035 ± 0,002 ab	p= 0,03
Malvidina 3-galactósido	0,076 ± 0,010 b	0,230 ± 0,010 a	0,075 ± 0,010 b	0,140 ± 0,004 ab	0,120 ± 0,010 ab	p= 0,024
Malvidina 3-glucósido	0,041 ± 0,004 b	0,065 ± 0,003 a	0,040 ± 0,003 b	0,057 ± 0,004 a	0,045 ± 0,004 ab	p< 0,0001
Malvidina 3-arabinósido	0,031 ± 0,003 b	0,055 ± 0,007 a	0,026 ± 0,004 b	0,050 ± 0,003 a	0,047 ± 0,003 a	p= 0,0083

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 5). El orden de aparición, dado por el tiempo de retención, permitió identificar los más importantes, es decir aquellos que se encuentran presentes en mayor concentración. 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) asltilbina; (11) epicatequina; (12) procianidina; (13) ácido férulico; (14) quercetina (Figura 5).

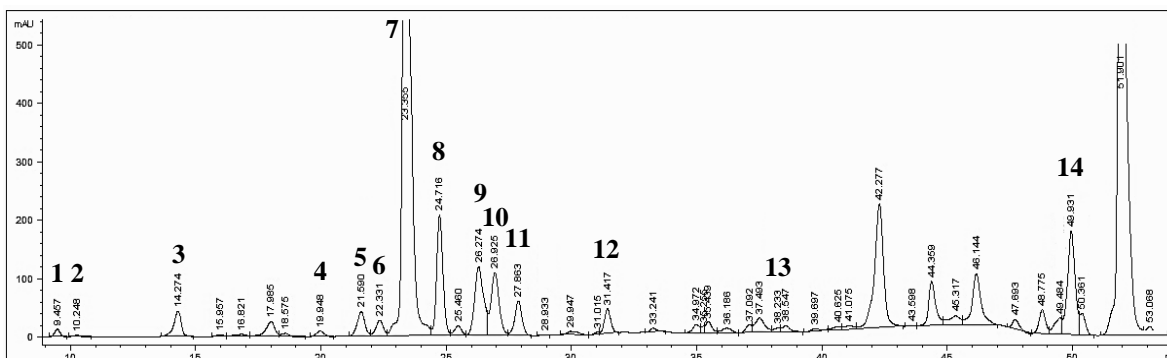


Figura 7. Cromatograma del perfil fenólico de bajo peso molecular en las pieles de arándanos ‘Emerald’.

El análisis de varianza de los resultados obtenidos, indicó que no existieron diferencias estadísticas significativas entre la interacción de los factores fecha y tratamiento, y en el factor fecha no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la concentración de ácidos benzoicos y cinámicos, al igual que con la concentración de flavanoles, flavonoles y cumarinas. Sin embargo, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los distintos tratamientos.

Los resultados obtenidos indican que, en términos generales, la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación de los arándanos con *Poa pratensis* y *Festuca rubra*, incrementaron la concentración de los ácidos benzoicos y cinámicos determinados en las pieles de los arándanos, en comparación con las plantas testigo y aquellas tratadas con Fe-hemo (Cuadro 9).

Por su parte, no se observaron diferencias significativas para el ácido férulico (Cuadro 9).

Cuadro 9. Concentración (mg g⁻¹ 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 Fe.

Tratamiento	Ácidos benzoicos			Ácidos cinámicos		
	Protocatéquico	Gálico	Vainillíco	Ferúlico	Cafeico <i>cis</i>	Cafeico <i>trans</i>
	mg g ⁻¹ piel					
Control	0,0043 ± 0,0007 b	0,024 ± 0,0005 b	0,046 ± 0,003 b	0,006 ± 0,002	0,37 ± 0,060 b	0,06 ± 0,012 b
Fe-EDDHA	0,0057 ± 0,0005 a	0,029 ± 0,0005 a	0,059 ± 0,002 a	0,008 ± 0,002	0,70 ± 0,004 a	0,10 ± 0,022 a
Fe-hemo	0,0039 ± 0,0005 b	0,026 ± 0,0015 b	0,043 ± 0,003 b	0,006 ± 0,002	0,35 ± 0,070 b	0,07 ± 0,001 b
<i>Poa pratensis</i>	0,0054 ± 0,0006 a	0,032 ± 0,0017 a	0,050 ± 0,002 ab	0,009 ± 0,003	0,67 ± 0,070 a	0,10 ± 0,01 a
<i>Festuca rubra</i>	0,0052 ± 0,002 a	0,030 ± 0,0015 ab	0,049 ± 0,002 ab	0,009 ± 0,004	0,73 ± 0,080 a	0,09 ± 0,01 ab
Significancia	p= 0,005	p= 0,0021	p= 0,0032	n.s.	p=0,0002	p= 0,0002

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.

Cuadro 10. Concentración (mg g⁻¹ 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 Fe.

Tratamiento	Flavanoles			Flavonoles		Cumarinas
	Procianidina	Catequina	Epicatequina	Quercetina	Astilbina	Esculetina
	mg g ⁻¹ piel					
Control	0,012 ± 0,003	0,033 ± 0,01 d	0,090 ± 0,01 b	0,02 ± 0,02	0,066 ± 0,02 b	7,8E-05 ± 0,000 b
Fe-EDDHA	0,012 ± 0,005	0,066 ± 0,003 c	0,170 ± 0,01 a	0,023 ± 0,02	0,146 ± 0,03 a	1,4E-04 ± 0,000 a
Fe-hemo	0,098 ± 0,003	0,059 ± 0,01 c	0,101 ± 0,003 b	0,020 ± 0,003	0,07 ± 0,02 b	8,4E-05 ± 0,000 b
<i>Poa pratensis</i>	0,013 ± 0,003	0,089 ± 0,003 b	0,162 ± 0,01 a	0,022 ± 0,01	0,17 ± 0,04 a	8,6E-05 ± 0,000 b
<i>Festuca rubra</i>	0,014 ± 0,006	0,142 ± 0,01 a	0,141 ± 0,01 b	0,018 ± 0,003	0,194 ± 0,04 a	7,0E-05 ± 0,000 b
Significancia	n.s.	p=0,002	p=0,0023	n.s.	p= 0,0002	p= 0,002

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.

Respecto de los principales flavanoles, flavonoles y cumarinas presentes en las pieles de los arándanos, los tratamientos implementados influenciaron la concentración de la mayor parte de ellos, a excepción de la procianidina y la quercetina (Cuadro 10).

Para el caso de la catequina, la asociación con *Festuca rubra* incrementó significativamente su concentración en comparación con el testigo, mientras que el resto de los tratamientos obtuvieron resultados intermedios (Cuadro 10). Por otra parte, la fruta proveniente de las plantas asociadas con la gramínea *Poa pratensis* y las tratadas con Fe-EDDHA, presentaron una mayor concentración de epicatequina en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 10). Además, las aplicaciones de Fe-EDDHA y la asociación con ambas gramíneas incrementaron la concentración de astilbina en comparación con el testigo y las plantas tratadas con Fe-hemo, mientras que el Fe-EDDHA incrementó la concentración de esculetina en comparación con el resto de los tratamientos (Cuadro 10).

Variables fisiológicas

Intercambio gaseoso foliar

Los resultados relativos al intercambio gaseoso foliar, obtenidos el 30 de diciembre, indican que los tratamientos no influenciaron significativamente la concentración interna de CO₂ (C_i), transpiración (E), conductancia estomática (G_s), y fotosíntesis neta (A) en las hojas. Tal período de medición coincidió con el de plena cosecha. En contraste, en la medición realizada el día 27 de febrero, los arándanos tratados con Fe-EDDHA presentaron una G_s similar a aquellos asociados con *Festuca rubra*, y menor en comparación con el tratamiento control, con las tratadas con Fe-hemo y con aquellas asociadas con *Poa pratensis* (Cuadro 11).

Por otra parte, en la misma fecha de medición, los arándanos tratados con Fe-EDDHA presentaron una transpiración de la hoja similar a aquellos asociados con *Festuca rubra* y tratados con Fe-hemo, y menor en comparación con el tratamiento control y con aquellas asociadas con *Poa pratensis* (Cuadro 11).

Cuadro 11. Fotosíntesis neta (A; $\mu\text{moles de CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), concentración interna de CO_2 en la hoja (Ci; $\mu\text{mol mol}^{-1}$), conductancia estomática (G_s ; $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), y transpiración de la hoja (E; $\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) determinados el 30 de diciembre y 27 de febrero en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe.

Tratamientos	A		Ci		G_s		E	
	$\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$		$\mu\text{mol mol}^{-1}$		$\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$		$\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$	
	30 dic.	27 feb.	30 dic.	27 feb.	30 dic.	27 feb.	30 dic.	27 feb.
Control	12,1 \pm 1,0	5,2 \pm 0,8	180,2 \pm 10,1	242,5 \pm 6,1	0,13 \pm 0,1	0,079 \pm 13,1 a	3,8 \pm 0,3	2,6 \pm 0,7 a
Fe- EDDHA	11,6 \pm 1,0	3,6 \pm 0,9	161,8 \pm 13,2	245,0 \pm 20,1	0,11 \pm 0,1	0,043 \pm 8,0 b	3,5 \pm 0,3	1,7 \pm 0,4 b
Fe- hemo	9,5 \pm 1,0	4,5 \pm 0,8	208,6 \pm 26,4	252,9 \pm 10,3	0,12 \pm 0,1	0,077 \pm 13,0 a	3,8 \pm 0,3	2,5 \pm 0,4 ab
<i>Poa pratensis</i>	11,8 \pm 1,1	4,6 \pm 1,0	195,5 \pm 12,1	261,0 \pm 15,0	0,14 \pm 0,2	0,082 \pm 14,0 a	4,0 \pm 0,4	2,7 \pm 0,4 a
<i>Festuca rubra</i>	10,5 \pm 1,0	3,3 \pm 0,8	201,8 \pm 6,7	274,8 \pm 10,5	0,13 \pm 0,1	0,063 \pm 10,0 ab	3,8 \pm 0,3	2,1 \pm 0,4 ab
Significancia	n.s	n.s	n.s	n.s	n.s	p = 0,05	n.s	p = 0,05

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.

Concentración foliar de macro y micronutrientes foliar

Los tratamientos modificaron la concentración de minerales en las hojas de los arándanos. En cuanto a la concentración foliar de K, las plantas control obtuvieron una mayor concentración con respecto a las plantas asociadas a ambas gramíneas, mientras el resto de los tratamientos obtuvo una concentración intermedia (Cuadro 12). Por otra parte, la aplicación de Fe-hemo incrementó la concentración de Ca en comparación con las plantas asociadas con *Poa pratensis* y tratadas con Fe-EDDHA, mientras el resto de los tratamientos alcanzaron concentraciones intermedias (Cuadro 12). Además, las plantas control mostraron una mayor concentración de Mg en comparación con las plantas asociadas a *Poa pratensis* y con las tratadas con Fe-EDDHA, mientras el resto de los tratamientos mostró un comportamiento intermedio (Cuadro 12).

Cuadro 12. Concentración de macronutrientes, expresada en porcentaje, en arándanos ‘Emerald’ sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe. El muestreo se realizó en febrero del 2015.

Tratamiento	Macronutrientes				
	N	P	K	Ca	Mg
	%				
Control	1,5 ± 0,1	0,09 ± 0,1	0,66 ± 0,1 a	0,83 ± 1,0 ab	0,21 ± 0,1 a
Fe-EDDHA	1,4 ± 0,06	0,07 ± 1,0	0,57 ± 1,0 ab	0,69 ± 0,1 b	0,17 ± 0,1 b
Fe-hemo	1,5 ± 0,1	0,08 ± 0,1	0,57 ± 0,1 ab	0,90 ± 0,1 a	0,18 ± 0,2 ab
<i>Poa pratensis</i>	1,3 ± 0,16	0,08 ± 0,1	0,51 ± 0,1 b	0,71 ± 1,0 b	0,17 ± 0,2 b
<i>Festuca rubra</i>	1,3 ± 0,08	0,07 ± 1,0	0,50 ± 0,1 b	0,74 ± 0,1 ab	0,19 ± 0,1 ab
Significancia	n.s	n.s	p= 0,0077	p= 0,0327	p= 0,0023
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, los tratamientos implementados no influenciaron la concentración de Fe y Zn (Cuadro 13). Por otro lado, la aplicación de sangre bovina incrementó significativamente la concentración de Mn en las hojas, en comparación con los otros tratamientos (Cuadro 13).

Respecto del Cu, se observó que las plantas asociadas a la gramínea *Poa pratensis*, presentaron una menor concentración foliar del elemento con respecto del tratamiento control, mientras que los demás tratamientos mostraron valores intermedios en la concentración de Cu presente en las hojas (Cuadro 13).

Cuadro 13. Concentración de micronutrientes, expresada en mg kg^{-1} , en arándanos 'Emerald' sometidos a distintos tratamientos de corrección del déficit de Fe. El muestreo se realizó en febrero del 2015.

Tratamiento	Micronutrientes			
	Hierro	Manganeso	Zinc	Cobre
	mg kg^{-1}			
Control	115,36 ± 30,98	77,69 ± 7,32	b 7,56 ± 2,34	10,75 ± 1,13
Fe-EDDHA	67,00 ± 8,46	73,46 ± 7,32	b 4,44 ± 1,34	7,38 ± 0,43
Fe-heme	79,73 ± 4,68	103,41 ± 7,32	a 3,93 ± 1,37	8,70 ± 0,55
<i>Poa pratensis</i>	66,67 ± 3,47	72,51 ± 7,32	b 6,96 ± 2,35	8,29 ± 0,50
<i>Festuca rubra</i>	76,41 ± 6,19	56,45 ± 7,32	b 8,38 ± 3,50	8,32 ± 0,50
Significance	n.s.	p= 0,0061	n.s.	p= 0,0077
Rango adecuado (Hanson y Hancock, 1996)	60 - 120	50 - 350	8 - 30	5 - 20

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

Los resultados relativos al crecimiento de los brotes de los arándanos evidenciaron un bajo desarrollo de ellos durante la primavera, por lo cual el efecto de los tratamientos en tal período del crecimiento vegetativo no se manifestó en el largo de los brotes. No obstante, en el crecimiento de verano, la tasa de crecimiento de los brotes fue significativamente mayor, y en tal período se presentaron diferencias entre los tratamientos (Figura 1).

Como era de esperar, el manejo tradicional para el control de clorosis férrica mediante la aplicación de Fe-EDDHA, resultó ser la estrategia más eficaz para incrementar el crecimiento de las plantas. Estos resultados, confirman que, bajo las condiciones edáficas en las cuales se estableció el presente experimento, el quelato utilizado representa una fuente importante de Fe altamente disponible para las plantas y de rápida acción respecto de las otras estrategias en estudio. Por otra parte, al final de la temporada se registró un mayor largo de los brotes en las plantas tratadas con Fe-Hemo respecto del control. Tal efecto, podría ser debido a la composición del producto utilizado, ya que, los compuestos derivados de sangre son una fuente natural de Fe en concentraciones que alcanzan los 3.500-5.000 mg kg⁻¹ y otros nutrientes, especialmente N (Ciavatta et al., 1997). Además, el Fe-Hemo posee altos contenidos de diferentes aminoácidos (Anexo 1), los que contribuyen en el aporte de N metabolizado para desarrollo de los arándanos, y esto posiblemente explica en parte el mayor crecimiento de brotes que se observó durante el verano.

Por su parte, los tratamientos basados en asociaciones con gramíneas no lograron mejorar el crecimiento de los brotes en comparación con el control. Resultados similares han sido observados en estudios previos conducidos en macetas en con los cultivos de olivos asociados a las gramíneas *Brachypodium distachyum* L., *Lolium rigidum* L., *Bromus madritensis* L., *Aegilops ventricosa* Tausch, *Hordeum vulgare* L. *Festuca rubra* L. Los mismos resultados se obtuvieron en el cultivo del maní asociado a *Zea mays* L. cv. Danyu, *Hordeum vulgare*, *Avena strigosa* y *Triticum aestivum*, y en vides asociadas a la gramínea *Festuca rubra* L. (Zuo y Zhang, 2008; Cañasveras et al., 2014; Covarrubias et al., 2014). Tales resultados, han sido atribuidos por los autores mencionados a la competencia que las especies gramíneas ejercen sobre el cultivo, en términos de espacio, agua y nutrientes.

Adicionalmente, en un estudio conducido en vides cultivadas en macetas, se registró un importante efecto de la asociación con gramíneas en la reducción de la biomasa radical de las vides y en la concentración de nitratos en el suelo (Covarrubias et al., 2014), confirmando que muy probablemente existe competencia entre las gramíneas y el cultivo por agua y nutrientes. Por lo anterior, para optimizar la implementación de tal práctica de manejo, se sugiere controlar rigurosamente 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).

A pesar de lo anteriormente expuesto, también existen reportes en los que la asociación con gramíneas ha causado un efecto positivo en el crecimiento vegetativo del cultivo asociado (Zuo et al., 2000; Ammari y Rombolà, 2008; Bavaresco et al., 2010). En este sentido, hay evidencias que señalan que las mismas gramíneas probadas en el presente estudio indujeron un aumento en el

área foliar de plantas de limonero respecto del testigo, a pesar de verificarse una reducción en el largo de los brotes (Ammari y Rombolà, 2008). 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, mediante un incremento del área foliar. Así, el efecto de la asociación con gramíneas sobre el crecimiento vegetativo del cultivo es variable, ya que depende de las condiciones experimentales, tales como la disponibilidad de agua y nutrientes, la especie gramínea y la densidad de siembra utilizada (Covarrubias et al., 2014). 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’.

Por otra parte, 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 dilucidar el efecto alelopático que pudiese existir.

Al final de la temporada, las aplicaciones Fe-EDDHA incrementaron significativamente la concentración de clorofila de las hojas respecto de las plantas tratadas con Fe-hemo de aquellas asociadas con gramíneas y del control (Figura 3). La cantidad de radiación que una planta de arándanos es capaz de captar, no sólo determina la producción de hidratos de carbono mediante la fotosíntesis, sino que también define la calidad de la fruta y la morfología de la planta (largo brote, tamaño de la hoja, la densidad de estomas) (Retamales y Hancock, 2012). Por otra parte el déficit de Fe reduce los niveles de clorofila a, b y total en las hojas, debido a que uno de sus roles principales en las plantas es catalizar la formación directa del pigmento clorofílico, indispensable en el proceso para la obtención de azúcares primarios (Kim et al., 2007).

El efecto positivo del Fe-EDDHA sobre la concentración de clorofila se debe a la absorción inmediata de este producto por la planta, permitiendo restaurar los contenidos de clorofila en las hojas de manera más rápida. Por otra parte, el nulo efecto de la asociación con especies gramíneas sobre esta variable vegetativa puede deberse a que el Fe asimilado por los arándanos bajo tales condiciones es aún insuficiente para poder restaurar la síntesis de clorofila en las hojas. Es importante considerar que el proceso de adquisición de Fe a través de los PS es más lento, debido a que este se compone de diversas etapas, desde la síntesis a la absorción del complejo PS-Fe⁺³ por las raíces del cultivo que está asociado a las gramíneas (Römheld, 1991).

El déficit de Fe afectó 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). Si bien la diferencia sólo fue significativa, en las plantas tratadas con Fe-EDDHA, también se pudieron observar valores intermedios en las plantas asociadas con *Poa pratensis*, los cuales tuvieron una tendencia hacia el aumento de la carga frutal y la producción total, en comparación con las plantas testigos.

Con respecto al peso promedio de los frutos 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; Ojer et al., 2009; Tapia, 2011). 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 peso 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). Pero estos factores no influyeron en los resultados porque eran similares en todas las plantas al momento de iniciar la cosecha. De todas formas los resultados obtenidos evidenciaron sólo en una fecha de las cosechas, diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, en donde la asociación con *Festuca rubra* disminuyó el peso promedio de los frutos, esto se debe a que las plantas bajo asociación estaban expuestas a la competencia por agua ejercida por las gramíneas, lo que posiblemente ocasionó una menor entrada de agua en las células, afectando su expansión (Gough, 1994)

En cuanto a las variables evaluadas de calidad de las bayas, la fruta proveniente de todos los tratamientos estuvo dentro de los rangos normales que señala Beaudry (1992). Los resultados obtenidos indican que las estrategias para el control del déficit de Fe estudiadas no afectaron claramente las variables evaluadas que determinan la calidad de la fruta a cosecha, ya que las diferencias obtenidas entre los tratamientos se presentaron sólo en algunas variables y fechas, y no se observó una influencia clara de los tratamientos. En otras experiencias reportadas sobre especies frutales, el déficit de Fe no afectó las variables que determinan la maduración de la fruta a cosecha en cuanto a su calidad (Bañulz et al., 2003). No obstante, en la presente investigación se observó que las fechas en que se cosechó un mayor volumen de fruta se registraron valores menores de firmeza, lo que sugiere que a un mayor volumen de cosecha producto de una maduración simultánea de los frutos en la planta, la firmeza de esos frutos podría disminuir (Webster, 2005).

Existen numerosos estudios acerca de los beneficios que tiene para la salud humana una dieta rica en antioxidantes y esto ha impulsado a múltiples centros de investigación a estudiar los factores que influyen en el contenido de los mismos en las frutas y distintos alimentos (Farnham et al., 1999; Goldman et al., 1999; Grusak et al., 1999; Kochian y Garvin, 1999).

Por su parte, las antocianinas presentes en mayor cantidad fueron la delfinidina 3-galactósido, malvidina 3-galactósido, cianidina 3-galactósido y delfinidina 3-arabinósido, lo cual se asemeja a lo reportado por Ballinger et al. (1970), Kader et al. (1996), y Giovanelli y Buratti (2009), en *V. corymbosum*, en los cultivares 'Bluecrop', 'Goldtraube', 'Darrow' y 'Patriot'.

Con respecto a la aplicación de Fe-EDDHA, las pieles de las bayas provenientes de este tratamiento, obtuvieron los mayores valores en cuanto a la concentración de las distintas antocianinas presentes en el perfil antociánico de las pieles de las bayas, con respecto del tratamiento control. Los valores de las concentraciones, están dentro del rango encontrado por otros autores en la literatura (Ehlenfeldt y Prior, 2001; Mainland y Tucker, 2000).

La aplicación de sangre bovina, redujo la concentración de las distintas antocianinas encontradas en el perfil antociánico presente en las pieles de los arándanos, estos valores estarían influenciados por el estrés en el que se encontraban las plantas al momento de la cosecha y su

grado de clorosis, que comparados con las plantas tratadas con Fe-EDDHA, se evidenciaron menores valores (Moyer et al., 2002).

En el caso de la asociación con gramíneas, los valores obtenidos bajo la asociación con *Poa pratensis*, no se diferencian en gran medida a los conseguidos bajo la aplicación con Fe-EDDHA. No obstante la asociación con *Festuca rubra*, afectó la concentración de las antocianinas, lo que se puede atribuir a madurez de la fruta (Connor et al., 2002a), ya que si se relacionan los valores obtenidos en la variable de firmeza, la fruta proveniente de la asociación con esta gramínea presentó un menor valor promedio con respecto al resto de los tratamientos.

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, en donde la aplicación de sangre animal disminuyó la concentración con respecto de los demás tratamientos. 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, en donde las plantas sometidas a la aplicación del compuesto derivado de sangre animal, disminuyó la concentración de los ácidos (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*, esta concentración estuvo influenciada por la aplicación de Fe-EDDHA y la asociación con la gramínea *Poa pratensis*, en donde ambos tratamientos influenciaron mayores valores de concentración promedio con respecto de los demás tratamientos. Finalmente, de los flavonoles, la astilbina evidenció un mayor contenido que la quercetina. Al respecto, se ha reportado que la quercetina es el principal flavonol en el arándano (Kader et al., 1996; Häkkinen, et al., 1998), no obstante en este estudio su concentración no se vio influenciada por ninguno de los tratamientos.

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, la cual pudo estar influenciada por el efecto de los tratamientos, ya que si se relacionan los valores obtenidos en la variable de firmeza, ambas gramíneas presentaron un menor valor promedio con respecto al resto de los tratamientos.

En relación fotosíntesis y sus variables relacionadas, no se encontraron diferencias estadísticas como respuesta a los tratamientos en la primera fecha de medición la cual corresponde a plena cosecha, a pesar de que existieron diferencias significativas en cuanto al contenido de clorofila en

la temporada de evaluación. Los resultados no coinciden con lo 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).

Es importante mencionar que aunque existieron diferencias significativas en cuanto al contenido de clorofila en la temporada de evaluación, no se evidenciaron diferencias en la primera fecha de medición de las variables de intercambio gaseoso foliar. Todos los tratamientos presentaron algún grado de clorosis, unos en menor medida que otros, pero no obstante esto refutaría lo publicado en otros estudios, en que se refieren a que el déficit de Fe también afectaría la estructura del poro estomático (Fernández et al., 2008; Covarrubias et al., 2014). Y con ello frente a la presencia de clorosis férrica, afectaría otras variables como el contenido de clorofila y el largo de brote, no afectando de manera significativa las variables de intercambio de gaseoso foliar (Eichert et al., 2010).

En cuanto a la segunda fecha de medición del 27 de febrero, si se registraron diferencias estadísticas entre los tratamientos en las variables de conductancia estomática (G_s), y transpiración de la hoja (E). En este caso, las plantas que presentaron un mayor contenido de clorofila en las hojas resultaron obtener un menor valor de conductancia estomática y transpiración de la hoja que las plantas que presentaron mayor grado de clorosis. Tales resultados, indican que una planta bien abastecida con Fe, como aquellas tratadas con Fe-EDDHA, podrían presentar una mayor eficiencia del uso del agua, si tal índice se calcula como el cociente entre la tasa de fotosíntesis neta y la tasa de transpiración por unidad de área foliar. Resultados similares han sido observados 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). De todos modos, es importante mencionar que hubiese sido clave el poder realizar más mediciones durante la temporada para así tener un seguimiento más claro sobre las variables mencionadas.

Respecto al análisis foliar, los tratamientos implementados influenciaron las concentraciones de K, Ca, Mg, Mn y Cu.

La aplicación Fe-EDDHA redujo la concentración de Ca y Mg respecto del control. Estudios demuestran que la presencia elevada de calcio en los suelos reduce la absorción de Fe por las raíces de la planta, y junto con esto se afecta también la interacción con iones de Mg en el metabolismo, esto se debe principalmente al sinergismo que se produce entre los elementos (Krewer and NeSmith 1999; Retamales y Hancock, 2012). No obstante en la presente investigación, las plantas que estuvieron bajo la aplicación de Fe-EDDHA, obtuvieron valores de concentración de Ca y Mg menores en comparación con el control. La absorción de estos elementos, no sólo depende de su contenido en el suelo, sino también de la abundancia de otros iones que pueden interferir su asimilación. Por lo que altos contenidos de Ca, impedirían la absorción de Mg y a su vez el Ca precipitaría en forma de carbonatos en las condiciones de suelo en que se realizó el experimento (Krewer y NeSmith 1999).

En relación a las plantas tratadas con sangre bovina evidenciaron la mayor concentración de Mn, con respecto al resto de los tratamientos. 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 I, Cuadro 1). También, la sangre representaría un fertilizante idóneo para 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 conducir la fertilización hacia una agricultura más sostenible.

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 la asociación con *Poa pratensis* redujo las concentraciones de K, Mg y Cu con respecto del testigo. Por su parte, la asociación con *Festuca rubra* redujo la concentración de K respecto del control. Tales resultados, concuerdan con lo observado por Gunes et al. (2007) y reflejaría cierta competencia por la absorción de nutrientes.

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 K, 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).

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 Fe 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 Fe 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).

CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos, es posible concluir que:

La aplicación de un formulado a base de sangre bovina ejerce un efecto positivo sobre el crecimiento vegetativo y la concentración foliar de Mn en arándanos ‘Emerald’ cultivados en un suelo calcáreo, sin influenciar la producción, la calidad de las bayas y el intercambio gaseoso foliar.

La asociación con *Festuca rubra* y *Poa pratensis* incrementa significativamente la concentración de antocianos y fenoles de bajo peso molecular en las pieles de los arándanos ‘Emerald’ cultivados en un suelo calcáreo. Sin embargo, tales estrategias afectan negativamente el crecimiento vegetativo, la concentración de clorofila, las variables productivas y la concentración de minerales en las plantas.

La asociación con gramíneas no influencia el intercambio gaseoso foliar de los arándanos.

Las estrategias sostenibles para el control del déficit de Fe sometidas a experimentación, no lograron superar la eficacia de las aplicaciones del quelato Fe-EDDHA para contrarrestar la carencia del metal en los arándanos.

BIBLIOGRAFÍA

Álvarez-Fernández, A.; P. Paniagua; J. Abadía and Anunciación Abadía. 2003, Dec. 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.

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.

Ammari, T. and A.D. Rombolà. 2010, jun. Overcoming iron deficiency chlorosis in citrus through intercropping with perennial grass species. *Acta Horticulturae*, 1: 327-332.

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.

Bavaresco, L.; M. Bertamini and F. Iacono. 2006. Lime-induced chlorosis and physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Pinot blanc) leaves. *VITISJournal of Grapevine Research*, 45(1): 45.

Bavaresco, L.; M.I. Gonçalves; M. Gatti and F. Ferrari. 2010, jun. Effects of traditional and new methods on overcoming lime-induced chlorosis of grapevine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 6(2): 186-190.

Beaudry, R. 1992. Blueberry quality characteristics and how they can be optimized. *Annual Report of the Michigan State Horticultural Society*, 122: 140-145

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.

Bienfait, H.F. Mechanisms in Fe-Efficiency Reactions of Higher Plants. 1988. *J. PlantNutr.* 11:605-629.

Bravo, J. 2012, oct. Mercado de arándanos: sin nubarrones en el horizonte. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Chile. 10p.

Briat, J.; C. Dubos and F. Gaymard. 2015. Iron nutrition, biomass production, and plant product quality. *Trends in plant science*, 20(1): 33-40.

Bremner, L.M. y C.S. Mulvaney. 1982. Total nitrogen.: Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties (Agronomy 9). Page, R., H. Miller and D.R. Keeney (eds): 2nd edition. ASA, S.S.A. Madison, Wisconsin, USA. 595- 634

Bryla, D. 2006. Irrigation of Blueberry. Seminario Internacional de Fertiriego. (3^{er}, 10 al 12 de agosto de 2006, Santiago, Chile). Soquimich comercial SQM.

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.

CIREN. 2012. Catastro frutícola 2012: principales resultados. Ed. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias, Centro de Información de Recursos Naturales. Santiago, Chile, 40p.

Covarrubias, J.I.; A. Pisi and A.D. Rombolà. 2014. 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.

Eichert, T.; J.J. Peguero-Pina; E. Gil-Peigrín; 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.

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.

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

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.

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.

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.

Ferreya, R.; G. Sellés; R. Rui; P. Gil y C. Barrera. 2008. Manejo de la clorosis férrica en palto. (Bol.Inf. N°81), Centro Regional de Investigación La Cruz, INIA, Ministerio de Agricultura. [En línea]. Quillota, Chile: INIA. 60p. Recuperado en: <www2.inia.cl/medios/biblioteca/boletines/NR35156.pdf> Consultado el: 28 de mayo de 2014.

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.

Gough, R.E. 1994. Harvesting. (cap. 14; pp. 165-172). In: *The Highbush Blueberry and Its Management*. New York, USA: Food Products Press. 272p.

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.

Hanson, E. 2006, Aug. Nitrogen fertilization of highbush blueberry. *Acta Horticulturae*, 715 (1): 347-351.

Hatfield, J. Prueger J. 2015. Weather and Climate Extremes. USDA Research and Programs on Extreme Events. Volume 10 parte A. 4-10

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).

Horneck, D.; J. Hart; R. Stevens; S. Petrie and J. Altland. 2004, Feb. Acidifying soil for crop production west of the cascade mountains. (Crop and Soil Science, N° EM 8857-E), Oregon State University Extension Service. Corvallis, Oregon: FG78. 11p.

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.

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.

Kim, S.A. and M.L. Guerinot. 2007, May. Mining iron: iron uptake and transport in plants. *Plant Transporters and Channels*, 581 (12): 2273-228.

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.

Lucena, J. 2003, feb. Fe chelates for remediation of Fe chlorosis in strategy I plants. *Journal of Plant Nutrition*, 26(10-11): 1969-1984.

Ma, J.F.; H. Ueno; D. Rombola and T. Iwashita. 2003, sep. Characterization of phytosiderophores secretion in *Festuca rubra*. *Plant and Soil*, 256 (1): 131-137.

- Ma, J.; 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.
- Mainland, C.M. and J.W. Tucker. 2000, dec. Blueberry health information: Some new mostly review. *Acta Horticulturae*, 574: 39-43.
- 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.
- Marschner, P. 2011. Function of nutrients micronutrients: Iron. (Cap.7, 191-200). En su: Marschner's mineral nutrition of higher plants. 3a. The University of Adelaide, Australia: Elsevier. 651p.
- Mendoza, H. 2000. Alcalinidad y salinidad: diagnóstico, efecto sobre la producción y soluciones. Simposium Internacional Fertilización y control en frutales y viñas. (1°, agosto 2000, Santiago). Santiago, Chile: Bioamerica. 17p.
- Mengel, K. 2000. Hierro: El hierro en la fisiología. (Cap.13, 491-507). En su: Principios de nutrición vegetal. 4a. Basel-Switzerland, Suiza: International Potash Institute. 692p.
- Mori, S. and N. Nishizawa. 1987, Sep. Methionine as a dominant precursor of phytosiderophores in graminaceous plants. *Plant Cell Physiology*, 28(6): 1081–1092.
- 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.
- 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.
- 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.; 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.
- 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.
- 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.
- Prior, R.L. and G. Cao. 2000, oct. Flavonoids: diet and health relationships. *Nutrition in Clinical Care*, 3(5): 279-288.

- 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.
- 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 Crop Production. Oxfordshire, UK: CABI. 323p.
- Rombola, A.D.; W. Brüggemann; A.F. López-Millán; M. Tagliavini; J. Abadía; B. Marangoni and P.R. Moog. 2002, ago. Biochemical responses to iron deficiency in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). *Tree Physiology*, 22 (12): 869-875.
- Retamales, J. and F. Hancock. 2012b. Blueberry Taxonomy and Breeding (cap. 2, pp. 19-49). In: Blueberries Crop Production. Oxfordshire, UK: CABI. 323p.
- Robinson, N.J., C. M. Procter, E.L. Connolly and M.L. Guerinot. 1999. A ferric-chelate reductase for iron uptake from soils. *Nature* 397:694-697.
- Rombolà, A. and M. Tagliavini. 2006. Iron nutrition of fruit tree crops. (cap. 3, pp. 61-83). In: Abadía, J. and L. Barton (eds). Iron Nutrition in Plants and Rhizospheric Microorganisms. The Netherlands: Springer. 477p.
- Römheld, V. 1991, jun. The role of phytosiderophores in acquisition of iron and other micronutrients in graminaceous species: An ecological approach. *Plant Soil*, 130(1): 127-134.
- 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.
- Sugiura, Y. and K. Nomoto. 1984. Phytosiderophores: Structures and properties of mugineic acids and their metal complexes. *Structure and Bonding*, 58: 107-135.
- Schwarz, G. 1978, Mar. Estimating the Dimension of a Model. *The Annals of Statistics*, 6(2):461-464.
- Soto, R.; R. Jorquera; E. Guerra. 2010 Informe Centro de Competitividad del Maule “Arándanos” Centro de Competitividad del Maule. Universidad de Talca. Recuperado en <<http://www.ccmaule.cl/wp-content/uploads/2014/02/Cluster-Arandanos.pdf>> Consultado el: 29 de abril del 2015.
- 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.
- 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.

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. Boliáni; J.I. Covarrubias and A. Rombolà. 2013, Apr. Improvement of grapevine iron nutrition by a bovine blood-derived compound. *Acta Horticulturae*, (984): 369-374.

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.

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.

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.

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

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. Tessarín; 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.

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.

APÉNDICE

APÉNDICE I

Cuadro 1. Composición nutricional de la sangre bovina, de nombre comercial H.D.S® (14-0-0) dividida en macronutrientes, expresados en porcentaje, y micronutrientes, expresados en mg kg⁻¹.

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



Foto 1. Caja plástica con tapa. Cada caja soporta 125 g de arándano.

ANEXOS

Anexo I. Análisis proximal del producto a base de sangre bovina de nombre comercial H.D.S® (14-0-0)

Producto	Ceniza	Energía	Extractos No Nitrogenados	Hidratos de Carbono disponibles	Humedad	Materia grasa	Proteína (N*6,25)	Sodio	pH
	%	Kcal 100g ⁻¹	g	%	%	%	%	mg 100g ⁻¹	
H.D.S® (14-0-0)	0,65	383	<0,5	<0,5	4,41	<0,5	95,7	318	7,6