

ANÁLISIS DE HIERRO SOLUBLE EN TEJIDOS PARA DIAGNOSTICAR EL DÉFICIT DE HIERRO EN NECTARINO

Tissue soluble iron analysis for the diagnosis of iron deficiency in nectarine

Bruno Razeto¹ * y Graciela Valdés¹

ABSTRACT

The objective of the present study was to test the total iron and soluble (active) iron in the dry tissues of leaves and shoots as indicators of the supply of iron in nectarines (*Prunus persica* (L.) Batsch. var. *nucipersica* C.K. Schneid.). The trial was carried out during the 2003-2004 growing season in an eight-year-old 'August Red' nectarine orchard located on a calcareous (Petrocalcic Calciaquolls) soil. Four trees with severe symptoms of iron chlorosis, four with moderate symptoms and four with normal foliage were randomly selected. On January 7, the chlorophyll concentration in the leaves was measured by SPAD method, and the concentration of total and soluble iron was analyzed in samples of 80 leaves and 12 shoots. The chlorophyll concentration in the leaf was greater in trees without symptoms, intermediate in moderately chlorotic trees and low in severely chlorotic trees. Total iron concentration in the leaf as well as the shoot, did not represent the level of chlorosis of the trees. The soluble iron concentration in the leaf did not reliably indicate the intensity of chlorosis. On the other hand, soluble iron concentration in the shoot, although did not discriminate between severely and moderately chlorotic trees, was higher in the normal trees than in chlorotic trees. In addition, soluble iron in the shoot had a high lineal correlation with leaf chlorophyll ($R^2 = 0.83$).

Key words: iron chlorosis, chlorophyll, total iron, *Prunus persica*

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue probar el análisis de hierro total y hierro soluble (activo) en el tejido seco de hojas y brotes como indicadores del nivel de abastecimiento de hierro en el nectarino (*Prunus persica* (L.) Batsch. var. *nucipersica* C.K. Schneid.). El ensayo se realizó la temporada 2003-2004 en un huerto de nectarinos de ocho años ubicado en un suelo calcáreo (Petrocalcic Calciaquolls). Se seleccionaron cuatro árboles sin síntomas en su follaje, cuatro con síntomas de clorosis férrica de moderada intensidad, y cuatro con severos síntomas de este problema nutricional. El 7 de enero se midió la concentración de clorofila en las hojas mediante el método SPAD y se analizó la concentración de hierro total y hierro soluble en muestras de 80 hojas y 12 brotes de la temporada por árbol. La concentración de clorofila en la hoja fue mayor en los árboles sin síntomas, intermedia en los medianamente cloróticos y menor en los severamente cloróticos. La concentración de hierro total, tanto en la hoja como en el brote, no presentó relación con el nivel de clorosis de los árboles. La concentración de hierro soluble en la hoja tampoco representó fielmente la clorosis presente. En cambio, la concentración de hierro soluble en el brote, aunque no discriminó entre árboles con clorosis severa y moderada, fue mayor en los árboles normales que en aquellos cloróticos. Además, se encontró una alta relación lineal ($R^2 = 0,83$) entre este parámetro y la concentración de clorofila en la hoja.

Palabras clave: clorosis férrica, clorofila, hierro total, *Prunus persica*

¹ Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Casilla 1004, Santiago, Chile.

E-mail: brazeto@uchile.cl *Autor para correspondencia.

Recibido: 12 de noviembre de 2004. Aceptado: 29 de abril de 2005.

INTRODUCCIÓN

La escasa relación que existe entre la clorosis férrica y la concentración de hierro total en las hojas es un hecho comprobado en diversas especies frutales (Hurley *et al.*, 1986; Koseoglu y Acikgoz, 1995; Guzmán *et al.* citado por Lucena, 1997; Abadía *et al.*, 2000; Palacios, 2003), al punto que muchos laboratorios de análisis foliar no incluyen este nutriente en los trabajos rutinarios de diagnóstico. Los síntomas de deficiencia de hierro son fácilmente reconocibles en las hojas, pero el diagnóstico se puede realizar cuando la planta ya ha sufrido los efectos negativos de la carencia.

Por otra parte, el análisis de clorofila en las hojas se ha postulado como una herramienta de diagnóstico para el hierro (Yadava, 1986; Lucena, 1997; Peryea y Kammereck, 1997), pero el nivel de clorofila también se afecta por otros elementos minerales (Yadava, 1986; Porro *et al.*, 2001), lo cual, en cierta medida, restringe su empleo.

El problema con este nutriente ha llevado a postular al análisis de "hierro activo" o hierro soluble (Fe^{++}) en la hoja como un indicador del nivel de abastecimiento de hierro en la planta. Sin embargo, según Lucena (1997), este análisis es complicado y con resultados variables, debido principalmente al hecho de emplear tejido fresco. No obstante, Sadzawka *et al.* (2000) encontraron gran sensibilidad en el análisis de hierro activo para detectar diferencias de sintomatología carencial de hierro en diversas especies frutales. Por su parte, Koseoglu y Acikgoz (1995) encontraron una alta relación entre la concentración de clorofila y la de hierro soluble en la hoja de duraznero (*Prunus persica* (L.) Batsch.), tanto en tejido fresco como en tejido seco.

La presente investigación tuvo por objetivo evaluar el análisis de hierro total y hierro soluble en las hojas y brotes, como herramientas de diagnóstico del nivel de hierro en el árbol de nectarino, especie particularmente sensible a este nutriente en Chile (Ruiz *et al.*, 1984; Razeto, 1993).

MATERIALES Y MÉTODOS

El ensayo se realizó en la temporada 2003-2004 en un huerto de nectarinos variedad August Red, ubicado en la localidad de El Monte, comuna de Talagante (33°40' lat. Sur, 70°50' long. Oeste), Región

Metropolitana. Los árboles, de ocho años e injertados sobre patrón Nemaguard, estaban plantados a 7 x 3,5 m y eran regados por surcos. En el huerto había sectores de árboles normales y sectores de árboles con diferente grado de clorosis férrica, estos últimos ubicados sobre franjas de suelo calcáreo. El suelo corresponde a la serie Agua del Gato, que es un miembro de la Familia franca fina, mixta, térmica de los Petrocalcic Calciaquolls (Mollisol). Se seleccionaron aleatoriamente cuatro árboles sin síntomas, cuatro con síntomas moderados y cuatro con síntomas severos de clorosis.

El 11 de noviembre de 2003, antes de iniciar el ensayo, se realizó una aplicación al suelo de 500 g de Fe-EDDHA (ácido etilendiaminadi(*o*-hidroxifenilacético) por árbol, en tres árboles severamente cloróticos, aislados de los empleados en el ensayo. Este tratamiento tuvo por objetivo confirmar que la clorosis presente en los árboles correspondía efectivamente a aquella causada por deficiencia de hierro.

Muestras compuestas de suelo (0-50 cm) se colectaron, separadamente, desde el sector de árboles normales y desde el de árboles severamente cloróticos. Se analizó carbonato de calcio libre por el método calcímetro y el pH mediante potenciometría en una solución en agua (1: 2,5). Para el análisis químico de hierro total y hierro soluble se recolectaron muestras representativas de 80 hojas por árbol, ubicadas en el sector central del brote de la temporada, y 12 brotes (tercio apical) de la temporada, a los cuales se les eliminaron las hojas. El muestreo se realizó el 7 de enero de 2004, un mes antes de la maduración del fruto en el árbol. El mismo día se determinó, en terreno, la concentración de clorofila en 15 hojas representativas por árbol, con un medidor SPAD de clorofila (Opti-Sciences CCM-200, USA). La calibración de la curva se realizó con nueve discos de hojas por árbol, analizando clorofila en laboratorio mediante el método de Lichtenthaler y Wellburn (1983) modificado, en un espectrofotómetro (Shimadzu UV-1601, Japón).

Las muestras de hojas y brotes para análisis de hierro se lavaron con agua destilada y agua bidestilada y secaron a 70°C durante 36 h en estufa con circulación forzada de aire. Luego, se molieron en un molinillo de acero. La concentración de hierro total se midió en un espectrofotómetro de absorción

atómica (GBC modelo 905 AA, Australia), previa calcinación a 520°C por 15 h y extracción con ácido clorhídrico 1 N. La concentración de hierro soluble se midió por el método utilizado por Koseoglu y Acikgoz (1995), empleando 2 g de materia seca, la cual se agitó con 25 mL de ácido clorhídrico 1 N durante 4 h. Luego de centrifugar por 30 min, la fase líquida se filtró y aforó con agua bidestilada a 25 mL y se analizó hierro con el espectrofotómetro de absorción atómica.

Al momento de la cosecha se registró la producción por árbol. Los árboles se seleccionaron con un diseño aleatorizado, con tres niveles de clorosis y cuatro repeticiones por cada nivel. La unidad experimental correspondió a un árbol. Los resultados se analizaron mediante análisis de varianza y prueba de comparación múltiple de Duncan con un nivel de significancia de 95%. Se realizó análisis de regresión entre variables.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La muestra de suelo proveniente del sector de árboles cloróticos presentó un 22,1% de carbonato de calcio, en tanto que la de los árboles normales presentó 1,1%. Este resultado permite atribuir al alto contenido de carbonato de calcio en el suelo la causa de la clorosis férrica presente en diferentes sectores del huerto. El pH del suelo fue de 7,9 y 8,1, respectivamente. Por otra parte, el follaje de los tres árboles cloróticos que fueron tratados con Fe-EDDHA al suelo, comenzó a cambiar de color a los 18 días después de la aplicación, para tornarse

Cuadro 1. Producción de fruta y concentración de clorofila en la hoja de nectarino, según el nivel de clorosis férrica.

Table 1. Fruit yield and chlorophyll concentration in nectarine leaves, according to the level of iron chlorosis.

Nivel de clorosis	Producción (kg árbol ⁻¹)	Concentración de clorofila (µg cm ⁻²)
Severo	50,9 b	28,7 c
Moderado	66,1 ab	49,4 b
Ausente	90,2 a	163,7 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, según prueba de Duncan ($p < 0,05$).

totalmente verde 10 días después. Los demás árboles cloróticos permanecieron en su condición inicial, lo cual confirma que el problema presente en el huerto obedece a una deficiencia de hierro.

La producción de fruta en los árboles normales fue mayor que en los cloróticos (Cuadro 1), coincidiendo con los resultados obtenidos anteriormente por Sanz *et al.* (1997) y Abadía *et al.* (2000).

La concentración de clorofila en la hoja, medida por el método SPAD, fue mayor en los árboles normales, intermedia en los moderadamente cloróticos y menor en los severamente cloróticos (Cuadro 1), lo cual confirma a este parámetro como un preciso indicador del nivel de clorosis férrica en los árboles (Lucena, 1997; Peryea y Kammereck, 1997).

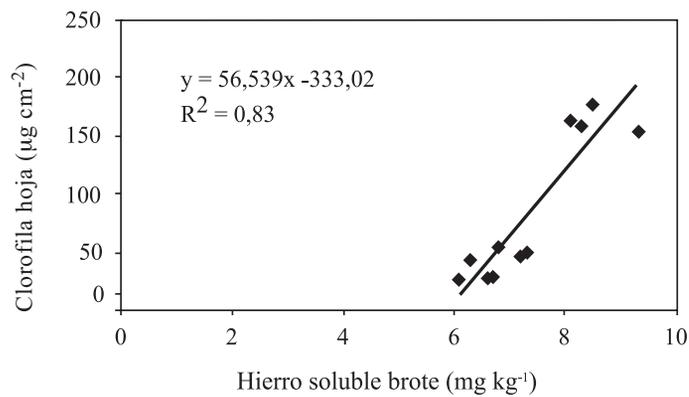
La concentración de hierro total, tanto en hoja como en brote, no presentó relación con el nivel de clorosis presente en los árboles, encontrándose incluso mayores valores en la hoja en aquellos cloróticos (Cuadro 2). Este comportamiento de la hoja confirma resultados anteriores (Hurley *et al.*, 1986; Koseoglu y Acikgoz, 1995; Morales *et al.*, 1998; Abadía *et al.*, 2000), descartándose al análisis foliar como herramienta de diagnóstico para este nutriente; también se descarta al análisis de hierro total en el brote.

La concentración de hierro soluble en la hoja tuvo una representación relativa de la clorosis presente en los árboles (Cuadro 2), pues si bien los árboles con follaje normal presentaron la mayor concentración de hierro soluble, fueron aquellos con clorosis moderada y no con clorosis severa los con menor concentración. Este resultado contribuye parcialmente a respaldar al análisis de hierro soluble en la hoja como un indicador de la clorosis férrica, al menos empleando tejido seco, tal como lo proponen Koseoglu y Acikgoz (1995). En cambio, la concentración de hierro soluble en el tejido seco del brote, aunque no discriminó entre árboles con clorosis severa y moderada, fue mayor (33%) en los árboles normales que en los severamente cloróticos (Cuadro 2). Adicionalmente, se encontró una alta relación lineal ($R^2 = 0,83$) entre esta variable y la concentración de clorofila en la hoja (Figura 1), lo cual no ocurrió con las otras variables de concentración de hierro.

Cuadro 2. Concentración de hierro total y hierro soluble en la hoja y el brote de nectarino, según el nivel de clorosis férrica. Base peso seco.**Table 2. Concentration of total iron and soluble iron in nectarine leaves and shoots, according to the level of iron chlorosis. Dry weight basis.**

Nivel de clorosis	Hoja		Brote	
	Hierro total	Hierro soluble	Hierro total	Hierro soluble
	mg kg ⁻¹			
Severo	127,7 a	10,4 b	27,0 a	6,5 b
Moderado	97,2 b	7,2 c	23,7 a	6,9 b
Ausente	95,0 b	12,4 a	26,0 a	8,6 a

Promedios seguidos de distinta letra indican diferencia significativa entre los respectivos grupos de árboles, según prueba de Duncan ($p < 0,05$).

**Figura 1. Relación entre la concentración de hierro soluble en el brote y la concentración de clorofila en la hoja de nectarino.****Figure 1. Relationship between the soluble iron concentration in the shoot and the chlorophyll concentration in nectarine leaves.**

CONCLUSIONES

Estos resultados preliminares permiten visualizar en el análisis de hierro soluble en el tejido seco de la hoja y, especialmente del brote, un posible indicador del nivel de abastecimiento de hierro en el árbol de nectarino. La facilidad que implica el

empleo de materia seca en el proceso de análisis de laboratorio hace interesante este análisis, como una eventual herramienta de diagnóstico de este nutriente, que aún no cuenta con una técnica que sea fácilmente manejable. Sin embargo, se requiere de investigación adicional para obtener resultados más definitivos.

LITERATURA CITADA

- Abadía, J., M. Tagliavini, R. Grasa, R. Belkhdja, A. Abadía, M. Sanz, *et al.* 2000. Using the flower Fe concentration for estimating chlorosis status in fruit tree orchards: a summary report. *J. Plant Nutr.* 23:2023-2033.
- Hurley, A., R. Walser, T. Davis, and D. Barney. 1986. Net photosynthesis, chlorophyll, and foliar iron in apple trees after injection with ferrous sulfate. *HortScience* 21:1029-1031.
- Koseoglu, A., and V. Acikgoz. 1995. Determination of iron chlorosis with extractable iron analysis in peach leaves. *J. Plant Nutr.* 18:153-161.
- Lichtenthaler, H., and A. Wellburn. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophyll a and b of leaf extract in different solvents. *Biochem. Soc. Trans.* 603:591-592.
- Lucena, J. 1997. Methods of diagnosis of mineral nutrition of plants: a critical review. *Acta Hort.* 448:179-192.
- Morales, F., R. Grasa, A. Abadía, and J. Abadía. 1998. Iron chlorosis paradox in fruit trees. *J. Plant Nutr.* 21:815-825.
- Palacios, J. 2003. Clorosis férrica y su relación con el nivel de clorofila y hierro en diferentes órganos en palto (*Persea americana* Mill.). 20 p. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas, Santiago, Chile.
- Peryea, F., and R. Kammereck. 1997. Use of Minolta SPAD-502 chlorophyll meter to quantify the effectiveness of mid-summer trunk injection of iron on chlorotic pear trees. *J. Plant Nutr.* 20:1457-1463.
- Porro, D., C. Dorigatti, M. Stefanini, and A. Ceschini. 2001. Use of SPAD meter in diagnosis of nutritional status in apple and grapevine. *Acta Hort.* 564:243-252.
- Razeto, B. 1993. La nutrición mineral de los frutales. Deficiencias y excesos. 105 p. Sociedad Química y Minera de Chile (SOQUIMICH), Santiago, Chile.
- Ruiz, R., C. Sotomayor, y G. Lemus. 1984. Corrección de clorosis férrica en nectarinos y efecto residual. *Agric. Téc. (Chile)* 44:305-309.
- Sadzawka, A., R. Ruiz, y J. Villanueva. 2000. Estimación del Fe (II) foliar para el diagnóstico de la clorosis férrica en plantas. *Actas 51º Congreso Agronómico de Chile. Simiente (Chile)* 70:86-87.
- Sanz, M., J. Pascual, and J. Machín. 1997. Prognosis and correction of iron chlorosis in peach trees: influence on fruit quality. *J. Plant Nutr.* 20:1567-1572.
- Yadava, U. 1986. A rapid and nondestructive method to determine chlorophyll in intact leaves. *HortScience* 21:1449-1450.