



**UNIVERSIDAD DE TALCA
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA DE AGRONOMÍA**

**DETERMINACION DE CLOROFILAS, FLAVONOIDES Y
NITRÓGENO EN CEREZOS (*PRUNUS AVIUM* L. VAR.
'SANTINA') BAJO TRES CONDICIONES DE CULTIVO,
MEDIANTE UN METODO NO DESTRUCTIVO.**

MEMORIA DE TÍTULO

DIEGO ALFREDO MONTENEGRO MIÑO

TALCA, CHILE

2020

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.



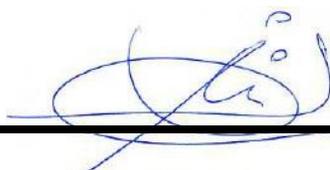
Talca, 2020

APROBACIÓN:



Profesor guía:

Ing. Agr. Dr. José Antonio Yuri Salomón
Profesor Escuela de Agronomía
Centro de Pomáceas
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca



Profesor co-guía:

Ing. Agr. Dr. (c) Javier Sánchez Contreras
Unidad del cerezo
Centro de Pomáceas
Facultad de Ciencias Agrarias
Universidad de Talca

Fecha de presentación de la Defensa de Memoria: 03 de junio de 2020.

Agradecimientos

En primer lugar, quiero agradecer al Centro de Pomáceas y a mi profesor guía José Antonio Yuri, por brindarme la posibilidad de realizar mi Memoria de pregrado en la unidad del cerezo, agradecer también al equipo técnico que trabaja en el centro, Brenda, Miguel, Mauricio, quienes siempre estuvieron dispuestos a resolver mis dudas y enseñarme, no solo durante las evaluaciones de mi estudio, sino que también mientras realizaba mi práctica profesional en el centro.

Agradezco a Verónica e Irina, mi madre y mi hermana por el incondicional apoyo que me dieron durante este proceso, también agradezco a Camila mi pareja quien ha sabido guiar y apoyar cada decisión que he tomado, dándome contención y amor incondicional.

De manera especial quiero agradecer a mi profesor Co-Guía Javier Sánchez por el tiempo y dedicación a mi trabajo, por estar siempre dispuesto a resolver mis dudas y entregarme conocimiento, haciéndome muchas veces parte de su equipo en la unidad del cerezo.

Para finalizar quiero agradecer a mis amigos y futuros colegas, Gonzalo y Cristian, con los que compartir gran parte de mi proceso universitario donde nunca faltó la riza, las anécdotas y los buenos momentos.

RESUMEN

Durante los últimos años el aumento en la producción de cerezas en Chile ha generado un gran interés, dada su alta rentabilidad. Al contar con variedades de cosecha temprana para obtener mayores retornos económicos, están más expuestas a eventos climáticos adversos, tales como heladas en primavera y lluvias estivales. La implementación de cubiertas plásticas ha logrado hacer frente a estos eventos, protegiendo a los frutos de la partidura (*cracking*), siendo una de las tecnologías más efectivas frente a la lluvia. Sin embargo, las cubiertas plásticas afectan diversos parámetros fisiológicos de los árboles y calidad y condición de la fruta, a causa del microclima que producen.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto que tiene el uso de cubiertas plásticas, sobre el contenido de clorofila, flavonoides y nitrógeno, mediante un método no destructivo, que relaciona dos índices –clorofila (Chl) y flavonoides (Flav)—, para obtener un índice nitrógeno (NBI).

El ensayo fue realizado en el huerto Santa Carmen, Comuna de Sagrada Familia (35°01'41.7" S; 71°26'50.6" W), Región del Maule, Chile, durante la temporada 2018/19. El cultivar estudiado fue 'Santina' sobre portainjerto 'Colt', conducidos en el sistema *Kym Green Bush* (KGB).

Los tratamientos estudiados fueron: (T₀): sin cubierta protectora; (T₁): con cubiertas antilluvias; (T₂): bajo macrotúnel. Las evaluaciones fueron realizadas durante tres fechas a lo largo de la temporada: 35, 49 y 125 días después de plena flor (DDPF).

Los resultados obtenidos indicaron que el macrotúnel evidenció mayor índice de Chl durante las dos primeras fechas (23,3; 30,3 u. Dualex), mientras que, en la última fecha, el control tuvo el mayor índice (35,7 u. Dualex), no mostrando diferencias con el macrotúnel (34,2). En el índice Flav, se observó que el macrotúnel obtuvo un menor índice respecto a los otros dos tratamientos, durante todas las fechas de muestreo (1,29; 1,34; 1,69), con diferencias significativas respecto a los otros tratamientos; mientras que el control mostró los mayores índices durante toda la temporada (1,57; 1,58; 2,0). El índice NBI (Nitrogen Balanced Index) mostró ser mayor bajo macrotúnel, con diferencias significativas frente a los otros tratamientos, durante todas las fechas (18,4; 23,4; 20,6), en tanto los otros tratamientos mostraron un comportamiento similar en las distintas fechas de muestreo.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN	5
1.1	Hipótesis	7
1.2	Objetivo general	7
1.3	Objetivos específicos	7
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	8
2.1	Condiciones edafoclimáticas para la producción de cerezas	8
2.2	Importancia económica y situación actual de Chile	8
2.2.1	Antecedentes de la producción y exportación.	8
2.2.2	Principales variedades de cerezas y superficie en Chile.	9
2.3	Uso de cubiertas plásticas	10
2.3.1	Antecedentes generales sobre el uso de cubiertas plásticas.	10
2.3.2	Partidura o <i>cracking</i> .	11
2.3.3	Efectos de las cubiertas plásticas sobre cerezos.	11
2.4	El nitrógeno	12
2.4.1	Nitrógeno en árboles frutales.	12
2.4.2	Dinámica del nitrógeno.	12
2.5	Métodos destructivos para la determinación de nitrógeno	13
2.5.1	Métodos bioquímicos	13
2.5.2	Métodos ópticos no destructivos	13
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	15
3.1	Localización y antecedentes de la zona	15
3.2	Material y dimensiones de las cubiertas	15
3.3	Diseño experimental y muestreo	16
3.3.1	Evaluación y seguimiento de clorofilas, flavonoides y nitrógeno mediante métodos no destructivos.	16
3.3.2	Evaluación del contenido de nitrógeno foliar: 125 días después de plena flor (DDPF).	17
3.4	Análisis estadístico	19
3.4.2	Comparación entre métodos para la cuantificación de clorofilas y nitrógeno en hojas.	19
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
4.1	Evaluación no destructiva de los índices de clorofila (Chl), flavonoides (Flav) y nitrógeno (NBI)	20

4.1.1 Índice de clorofila (Chl)	20
4.1.2. Índice de flavonoides (Flav)	21
4.1.3. Índice de nitrógeno (NBI)	22
4.2 Evaluación del contenido de nitrógeno foliar por los métodos Kjeldahl y Dumas	23
4.3 Comparación entre métodos químico y óptico para la cuantificación de clorofilas y nitrógeno	24
4.3.1 cuantificación de clorofilas	24
4.3.2 cuantificación de nitrógeno	24
5. CONCLUSIONES	27
6. BIBLIOGRAFÍA	28

1. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas dos décadas, Chile ha experimentado un aumento exponencial en la producción de cerezas (*Prunus avium* L.), ubicándose como el sexto país productor a nivel mundial durante el 2014 y teniendo una participación del 4,6% durante este mismo año (Muñoz, 2015). Este incremento se ha visto reflejado en la cantidad de hectáreas (ha) plantadas durante el 2003 que superaron levemente las 9.000 ha y en la temporada 2019/2020, superó las 38.000 ha como superficie comercial (ODEPA, 2019). A nivel nacional la producción se concentra principalmente entre las Regiones del Maule y O'Higgins (CIREN, 2016). Las principales variedades cultivadas en el país son: 'Lapins', 'Santina' y 'Regina', que concentran el 71,2% de la superficie total cultivada con cerezos en Chile (ODEPA, 2019).

Gran parte de la producción va dirigida al lejano oriente, donde China es el principal comprador, concentrando el 85% de las exportaciones (Muñoz, 2015). La producción en contraestación y la coincidencia con el Año Nuevo Chino son los principales factores de esta pronunciada demanda (ProChile, 2017), que se ve expresado en el retorno que se obtiene por kg exportado; por lo que en la temporada 2018/2019 se alcanzó un promedio de \$7,35 USD/Kg (ODEPA, 2019). Además de tener las ventajas antes mencionadas como país productor, las cerezas tienen un gran atractivo organoléptico y múltiples propiedades beneficiosas para la salud del ser humano, siendo la más destacada su capacidad antioxidante proveniente de polifenoles y antocianinas que tienen la capacidad de prevenir o retardar la oxidación de moléculas orgánicas (Usenik *et al.*, 2008).

Durante la temporada 2019/20 se obtuvo un récord productivo, exportando 228.548 toneladas (t) de fruta fresca (iQonsulting, 2020), producto de las buenas condiciones climáticas que se caracterizaron por un invierno con alta concentración de precipitaciones, una primavera con altas temperaturas y libre de lluvias en los meses de cosecha (González, 2018). Este último factor es un gran problema en la producción de cerezas, ya que es responsable de la aparición de partidura o *cracking* en frutos (Yamaguchi *et al.*, 2002). Esto ha provocado que los productores busquen nuevas tecnologías para asegurar sus cultivos ante este suceso, siendo la implementación de cubiertas plásticas sobre los cultivos, una buena opción (Abud *et al.*, 2018). Diversos estudios alrededor del mundo han demostrado que la implementación de estas cubiertas genera un efecto de microclima alrededor de los árboles (Robinson y Domínguez, 2013; Lang, 2014; Abud *et al.*, 2018).

Durante los últimos años se ha estudiado el efecto de estructuras más sofisticadas sobre cultivos, como lo son los macrotúneles, obteniendo muy buenos resultados en arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.), manzanos (*Malus Domestica* L.) y cerezos, generando mejores condiciones de floración, cosechas más tempranas, y mayores rendimientos (Overbeck *et al.*, 2017; Schmitz-Eiberger y Blanke, 2012; Retamal, 2014). Si bien estas nuevas tecnologías son beneficiosas para el cultivo, es necesario conocer las respuestas fisiológicas de los árboles ante los nuevos estímulos que estas generan.

Hoy en día el manejo del nitrógeno es uno de los mayores problemas en la agricultura, estimar la cantidad necesaria y cubrir las deficiencias con rapidez y eficiencia se hace imprescindible para obtener el máximo potencial del cultivo (Samborski *et al.*, 2009). La manera más utilizada para saber el contenido de nitrógeno en los cultivos es mediante análisis foliares, que son destructivos en cuanto al material vegetal (Munson, 1998). Sin embargo, durante los últimos años la utilización de métodos ópticos para la determinación del nitrógeno foliar ha comenzado a tomar relevancia, usando los índices de clorofila (Chl) como base y, la reflectancia, transmitancia o fluorescencia de la hoja como mecanismo de caracterización rápida. (Tremblay *et al.*, 2012).

Si bien es poca la investigación sobre la nutrición en cerezos respecto al uso de cubiertas en este, se hace preponderante estudiar el comportamiento del nitrógeno en el cultivo, bajo estas nuevas condiciones ambientales.

La hipótesis y los objetivos de la presente investigación son:

1.1 Hipótesis

El uso de cubiertas plásticas generará un aumento en los índices de Clorofila, Flavonoides y Nitrógeno en hojas de cerezo

1.2 Objetivo general

Hacer un seguimiento y evaluación no destructiva del contenido de Clorofila, Flavonoides y Nitrógeno en cerezos, cultivar 'Santina'; bajo tres condiciones de cultivo, dos de ellos con ambiente modificado.

1.3 Objetivos específicos

- I. Evaluar el efecto de las cubiertas plásticas sobre el contenido de Clorofila en las hojas, mediante un método no destructivo.
- II. Evaluar el efecto de las cubiertas plásticas sobre el contenido de Flavonoides en hojas, mediante un método no destructivo.
- III. Evaluar el efecto de las cubiertas plásticas sobre el contenido de Nitrógeno en las hojas, mediante un método no destructivo.
- IV. Evaluar el efecto de las cubiertas plásticas sobre el contenido de Nitrógeno acumulado en hojas, mediante una determinación bioquímica.
- V. Comparar un método óptico y analítico con métodos químicos para la determinación de clorofila y nitrógeno en hojas de cerezo

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Condiciones edafoclimáticas para la producción de cerezas

El cerezo es uno de los cultivos con mayor adaptabilidad a diferentes condiciones edafoclimáticas de la zona templada. Si bien es una especie delicada en cuanto a requerimientos de clima, es uno de los frutales que tiene mayor exigencia de frío durante su vernalización, estas van de las 400 a las 1500 horas frío (umbral: $\leq T_{7^{\circ}\text{C}}$) dependiendo de la variedad (Tersoglio, 2006). Pese a que es una especie con tolerancia media a las heladas durante primavera, las temperaturas menores a 0 °C provocan daños irreversibles en el periodo de mayor sensibilidad que corresponde a fruto recién cuajado (INIA, 2005). Su temperatura mínima de crecimiento se encuentra alrededor de los 7 °C, logrando un óptimo desarrollo entre los 18 y 24 °C y necesitando entre 400 y 700 grados días (temperatura entre yema hinchada y cosecha) (CIREN, 2017). Es así como el cerezo prefiere inviernos largos y fríos, veranos cortos y calurosos y primaveras templadas libres de lluvias y helada (Gonzales, 2018).

En cuanto a las condiciones de suelo, es necesario tener más de 80 cm de profundidad efectiva y un buen drenaje que permita una buena aireación del sistema radicular (Labra *et al.*, 2005). El cultivo se desarrolla de buena manera en suelos alcalinos con leve tendencia a pH más ácidos y de tipo franca con texturas medias (CIREN, 2017).

2.2 Importancia económica y situación actual de Chile

2.2.1 Antecedentes de la producción y exportación.

Chile se encuentra en la sexta posición como país productor de cerezas en el mundo, con una participación del 4,6% de la producción mundial, siendo el único de los principales productores que produce en contra estación, esto permite que alcance un mejor precio medio en las exportaciones llegando en 2015 a \$7,75 USD/kg (Muñoz, 2015). En la actualidad, Chile tiene una participación de 94% en volumen exportado desde el hemisferio sur (iQonsulting, 2020).

Durante la temporada 2018/19 se exportaron 184.873 toneladas (t) de cerezas (**Tabla 1**) con una participación del 6,5% del volumen total de exportaciones de frutas frescas chilenas. Esta cantidad exportada equivale a 1.122 millones de dólares como valor FOB. El principal país

importador es China, quien acapara el 84,89% de las exportaciones chilenas, equivalente a \$953 millones de dólares como valor FOB (CIREN, 2016).

Tabla 1. Valores de exportación de las principales variedades frutales chilenos durante el 2018/2019.

Variedad	Toneladas Exportadas	Valor FOB (Mill. USD)
Cereza	184.873	1.123
Uva	725.406	1.225
Manzana	775.663	776
Arándano	113.944	641
Palta	132.525	324
Mandarina	170.161	214
Pera	128.577	129

Fuente: Elaboración propia con datos de ODEPA (2019), ordenadas de mayor a menor valor FOB.

2.2.2. Principales variedades de cerezas y superficie en Chile.

La producción de cerezas en Chile se concentra principalmente entre las Regiones de O'Higgins y el Maule con una superficie de 15.430 y 14.502 hectáreas (ha) respectivamente, y corresponde al 81,75% del total de superficie cultivada con cerezos en el país (ODEPA, 2019). Durante varios años las variedades tradicionales como 'Bing', dominaron gran parte de la superficie cultivada, sin embargo, estos últimos años se ha experimentado un cambio de variedades a lo largo del país, de la mano con el aumento de la superficie y la mayor diversidad de condiciones edafoclimáticas (Ellena, 2012). Es así como las variedades 'Lapins', 'Santina' y 'Regina' (**Tabla 2**) son las que abarcan la mayor cantidad de superficie acumulando el 71,2% de la superficie total de cerezos (ODEPA, 2019).

Tabla 2. Principales variedades de cereza cultivadas en Chile con su superficie y época de cosecha.

Variedades	Superficie (ha)	Época de cosecha
Lapins	10.781	Media
Santina	7.743	Temprana
Regina	5.891	Tardía
Bing	3.990	Media
Sweet heart	2.352	Tardía
Kordia	1.271	Tardía
Skeena	1.149	Media
Royal down	668	Temprana
Reinier	466	Media
Brooks	364	Temprana

Fuente: Elaboración propia con datos de ODEPA y el Centro de Pomáceas de la Universidad de Talca, la época de cosecha se establece desde la semana 46 hasta la semana 4 del siguiente año dividiendo el total en tres épocas; temprano (de la semana 46 a la 48), medio (de la semana 49 a la 52) y tardío (de la semana 1 a la 4).

La diversidad de variedades que Chile ofrece al mercado es una respuesta a la alta demanda existente en el Asia oriental y la variabilidad en el periodo de mayor demanda, dado por el Año Nuevo Chino (RedAgrícola, 2019).

2.3 Uso de cubiertas plásticas

2.3.1. Antecedentes generales sobre el uso de cubiertas plásticas.

El uso de cubiertas plásticas sobre cultivos durante los últimos años ha aumentado, debido a la necesidad de proteger las producciones frente a lluvias o heladas durante los periodos de mayor sensibilidad de la fruta (Abud *et al.*, 2018). La implementación de estas nuevas tecnologías comenzó entre el año 2005 y 2006 sobre uva de mesa (*Vitis vinifera* L.), para luego diversificarse sobre otros cultivos (INIA, 2016). Lang (2014) describe que las cubiertas parten desde estructuras simples, hechas a partir de postes y alambre para la implementación de redes temporales, pasando por cubiertas tipo carpa, hechas a partir de polietileno de alta densidad (HDPE, por sus siglas en inglés), destinadas a proteger el cultivo de la lluvia; hasta estructuras más sofisticadas como los macrotúneles, contruidos a partir de una estructura de aluminio y cubiertas con HDPE,

así mismo, se estima que los costos de cada estructura dependerá del tipo de material y su calidad, variando entre 22.000 USD/ha y 70.000 USD/ha, respectivamente.

2.3.2. Partidura o *cracking*.

Las lluvias durante el periodo de cosecha registran grandes pérdidas económicas año tras año, debido al daño que provocan en las cerezas. Durante la temporada 2014/15 se registraron pérdidas entre el 10 y 40% por lluvias (Tapia *et al.*, 2018).

Hoy en día existen muy pocos cultivares tolerantes a la partidura, siendo 'Regina' la variedad con mayor resistencia, mientras que 'Kordia' y 'Lapins' tienen una tolerancia media (Balbontin *et al.*, 2013). Por su parte, Chistensen (1972) describe tres tipos de grietas o partidura en la fruta: I) grieta lateral; II) grieta en el extremo del tallo y; III) grieta en el extremo superior de la fruta. Aunque aún no se comprende en su totalidad el mecanismo causante de este suceso, aparentemente podría deberse a una rápida y excesiva absorción de agua por parte de la fruta, ya sea por absorción directa (agua libre en la cutícula de la fruta), o como una absorción a través del sistema vascular (exceso de agua captada por las raíces) (Kertesz y Nebel, 1935).

El uso de cubiertas plásticas sobre el cultivo es uno de los recursos utilizados para evitar grandes pérdidas por *cracking*, si bien estas tecnologías sirven en la prevención, no solucionan totalmente el problema (Lang, 2014), ya que solo evitan el agua libre en la cutícula.

2.3.3. Efectos de las cubiertas plásticas sobre cerezos.

Robinson y Domínguez (2013) analizaron la influencia del macrotúnel sobre el cultivo del cerezo y observaron que esta tecnología ofrece un buen control de la partidura y produce mayores rendimientos. Mismos resultados obtenidos por Borve *et al.*, (2003) en cubiertas a dos aguas. Lang (2014), señala que el efecto del macrotúnel provoca una mayor acumulación de días grados (GDD), reduce la velocidad del viento, así como también se reduce en un 25% la incidencia de luz directa, además señala que es una buena herramienta para proteger el cultivo frente a heladas durante periodos críticos en primavera.

Sin embargo, también existe evidencia de que las cubiertas plásticas tienen efectos negativos en la condición de fruta, aumentando su tamaño, pero disminuyendo la firmeza, además señala que estas cubiertas alteraron por completo la fenología del cultivo, adelantando la floración y maduración durante la primavera (Wallber y Sagredo, 2014).

2.4 El nitrógeno

2.4.1. Nitrógeno en árboles frutales.

Para obtener un correcto desarrollo y una óptima producción, se requiere mantener una nutrición equilibrada, en donde el suministro de nutrientes sea acorde a la necesidad que el cultivo exige durante sus distintos estados fenológicos (Ellena, 2012). El nitrógeno (N) es un elemento primordial para las plantas, especialmente en árboles frutales (Rezeto, 1999) ya que cumple diversas funciones, entre las que se destaca, la renovación de estructuras vegetales, su influencia en el desarrollo de brotes y raíces, el efecto que tiene en la inducción floral y la producción de fruta, además de participar en diversos procesos metabólicos y ser parte estructural de las proteínas (Ellena, 2012). Este elemento tiene una estrecha relación con la clorofila, ya que la estructura química de ésta incluye un grupo tetrapirrol con un átomo de magnesio en el centro (Álvarez *et al.*, 2012). El exceso de N produce un retraso en la lignificación de brotes (dejándolo expuesto a ser atacado por diversos patógenos), retrasa la maduración de fruta, que posteriormente se refleja en un deterioro más rápido durante el almacenamiento (Ellena, 2012). Por otra parte, el déficit de nitrógeno se podría traducir en menores rendimientos y menor vigor en los árboles dejándolos expuestos ante ataques fitopatógenos (San Martino, 2010).

2.4.2. Dinámica del nitrógeno.

A principios de primavera, con el comienzo del desarrollo vegetativo, los árboles de cerezo consumen principalmente nitrógeno procedente de las estructuras de almacenaje, como raíces, tronco, ramas y brotes; que fueron almacenados durante la temporada anterior. Estas reservas se movilizan en forma aminoacídica hacia las yemas (Ellena, 2012), posterior a esto y ya avanzada la primavera, comienza la absorción de nitrógeno desde el suelo, coincidiendo la máxima absorción con el máximo crecimiento vegetativo mientras que en otoño disminuye dando paso a la senescencia foliar (Jordan *et al.*, 1998). Durante la senescencia, las proteínas presentes

en las hojas se degradan convirtiéndose en compuestos nitrogenados de bajo peso molecular que serán realojados en las estructuras de reservas durante el receso invernal (Millard, 1993).

2.5 Métodos destructivos para la determinación de nitrógeno

Las hojas son el órgano que mejor representa el estado nutricional del árbol, es por ello por lo que gran parte de los métodos para la determinación de nitrógeno se realizan a partir de análisis foliares.

2.5.1. Métodos bioquímicos

En la actualidad básicamente son dos los métodos que se utilizan para la determinación del nitrógeno en tejidos vegetales. El primero corresponde a la metodología de Kjeldahl, que consiste en una digestión ácida que convierte el material orgánico en sulfato de amonio. Para determinar el porcentaje de nitrógeno se le aplica hidróxido de sodio, convirtiendo la muestra en amoníaco, que luego será destilado y titulado (Brener, 1960).

El segundo es el método de combustión de Dumas y consiste en introducir la muestra en una cámara térmica; en una primera etapa se usa al oxígeno como gas portador que calcina la muestra; posteriormente, el nitrógeno será medido en los gases de combustión. Esta medición puede ser a través de un manómetro mediante la absorción del dióxido de carbono en una solución alcalina o a través de productividad térmica con métodos automatizados (Muller, 2017; Morón *et al.*, 1997).

Morón *et al.*, (1997) señala que existe una alta correlación entre ambos métodos, siendo el método de combustión de Dumas quien arroja valores levemente más altos.

2.5.2. Métodos ópticos no destructivos

A causa del alto costo y del tiempo que conlleva la determinación de nitrógeno foliar de forma tradicional mediante los métodos químicos, en la actualidad se estudian/utilizan instrumentos portátiles que realizan una medición de forma rápida y sin destruir el material vegetal analizado (Cerovic *et al.*, 2002; Cevovic *et al.*, 2012; Overbeck *et al.*, 2017). Es así, como los métodos

ópticos que usan la clorofila (Chl) como base de su mecanismo de determinación, siguen siendo tema de investigación. Hoy en día uno de los instrumentos más utilizado es el equipo Minolta SPAD-502, este instrumento estima de manera indirecta el contenido de nitrógeno usando la porción de luz reflejada por la clorofila y traduciéndose en unidades SPAD (Mendoza *et al.*, 1998). Turner y Jund (1991) señalan que las unidades SPAD tiene un valor proporcional al contenido de nitrógeno en plantas de arroz, sin embargo, se ha visto que el instrumento en cultivos perennes presenta problemas ya que muestra equivalencias no lineales, que pueden ser relacionadas a la morfología y la masa por área de las hojas (LMA, por sus siglas en inglés) (Cevovic *et al.*, 2012). Cartelat *et al.* (2005) propone el uso de un índice de nitrógeno (NBI), que es la ratio de la Chl en relación con el contenido epidérmico de flavonoides (Flav) de la hoja, señalando que este sería más sensible al estado fenológico del cultivo. El instrumento Dualex 4 Scientific (Dx4) usa la actividad fluorescente de la clorofila para medir los flavonoides (Flav) a una longitud de onda de 375 nanómetros (nm), para obtener la relación (Chl/Flav) que permiten calcular el índice NBI. Además, el instrumento calcula el índice de clorofila (Chl) usando la transmitancia de esta, cuantificándola en una longitud de onda muy cercana al rojo lejano (700 nm)

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización y antecedentes de la zona

El ensayo se realizó en el Huerto Santa Carmen, perteneciente a la empresa Inés Escobar S.A., en la comuna de Sagrada Familia, Región del Maule (35°01'41.7" S; 71°26'50.6" W).

El sector cuenta con una precipitación anual de 355 mm durante el año 2018, que se concentran entre los meses de abril y noviembre del mismo año. El suelo tiene una textura superficial franco limoso seguida por una franca arcillo limosa en las estratas inferiores. Para el ensayo se utilizaron árboles de cerezo 'Santina' injertado sobre un patrón 'Colt' y conducido en *Kym Green Bush* (KGB); establecidos el año 2012, bajo un marco de plantación de 4 x 2,2 metros, teniendo un total de 1.136 plantas por ha, con una orientación de las hileras: este-oeste. Los árboles se encuentran en tres condiciones: I) sin cubierta protectora (T_0); II) bajo cubierta antilluvias (T_1) y; III) bajo macrotúnel (T_2).

3.2 Material y dimensiones de las cubiertas

El sistema de cubiertas antilluvias tienen como estructura base, postes de madera ubicados de forma vertical, unidos por alambres que siguen la orientación de la hilera. El material que cubre esta estructura corresponde a polietileno de alta densidad (HDPE): tipo rafia; con un espesor de 250 μm . Las dimensiones son: 4 m de altura (sector más cercano a los postes) por un ancho aproximado de 4 m. La estructura cuenta con un sistema de pliegue y repliegue manual para facilitar el manejo de cubiertas durante la temporada.

Por su parte el sistema de macrotúnel, consta de una estructura base formada con postes de aluminio con un techo en forma de arco. Está cubierto, al igual que el sistema a dos aguas, por tejido HDPE, pero como polímero continuo, con un espesor de 150 μm . Los extremos laterales también están cubiertos con HDPE. Las dimensiones son: 4,5 m de altura, 8 metros de ancho y 13 metros de profundidad, pudiendo unirse en serie para cubrir mayor superficie.

3.3 Diseño experimental y muestreo

3.3.1 Evaluación y seguimiento de clorofilas, flavonoides y nitrógeno mediante métodos no destructivos.

El ensayo contó con tres tratamientos (**Cuadro 3.1**), considerando una superficie de 0,5 ha cada uno, plantada con cerezos cv. 'Santina' sobre portainjerto 'Colt'. Se establecieron tres fechas de muestreo, que representan los estados fenológicos de: fruto cuajado, cosecha y postcosecha (**Cuadro 3.1**).

Cuadro 3.1 Fecha de muestreo y días después de plena flor (DDPF) de cada tratamiento y condición de las hojas obtenidas en árboles cv. 'Santina' injertados sobre 'Colt'.

Fecha	DDPF	Tratamiento	Condición	Cultivar
25.oct.18	35	T ₀	Aire libre	'Santina' / 'Colt'
		T ₁	Cubierta a dos aguas	
		T ₂	Túnel	
08.nov.18	49	T ₀	Aire libre	
		T ₁	Cubierta a dos aguas	
		T ₂	Túnel	
23.ene.19	125	T ₀	Aire libre	
		T ₁	Cubierta a dos aguas	
		T ₂	Túnel	

Fuente: Elaboración propia. Se tomó como fecha de plena flor el día 20 de septiembre el 2018.

Para cada fecha de medición se seleccionaron 10 árboles con similar vigor y número de ramas, de los cuales se escogieron tres hojas desarrolladas y sanas, desde 1,5 m de altura y expuestas al sol, obteniéndose así 3 mediciones por árbol, con un total de 30 mediciones por tratamiento. Cada medición fue realizada con el equipo Dualex4, obteniéndose un valor para clorofila (Chl), flavonoides (Flav) y balance de nitrógeno (NBI) para cada medición. El promedio de cada árbol (3 mediciones) fue tomado como una repetición. Todas las mediciones fueron realizadas en el huerto.

3.3.2 Evaluación del contenido de nitrógeno foliar: 125 días después de plena flor (DDPF).

En el cuarto muestreo (125 DDPF) y tras realizar la última medición con el equipo Dualex4 en terreno, se extrajeron de los árboles el mismo grupo de hojas medidas, para estimar el porcentaje de nitrógeno foliar mediante los métodos bioquímicos de Kjeldahl y Dumas, con la finalidad de establecer relaciones en la cantidad de nitrógeno acumulado hasta esa fecha en los distintos tratamientos.

3.3.3 Comparación entre los métodos bioquímicos y químicos contra un método óptico para la cuantificación de clorofilas y nitrógeno en hojas de cerezo.

Para comparar el método óptico con el método bioquímico de cuantificación de clorofila y los métodos químicos para cuantificar el nitrógeno; se realizó una separación por medio de una escala de color a un grupo de hojas extraídas desde el tratamiento sin cubierta protectora (T_0) el día 23 de enero del 2019 que corresponde a los 125 DDPP. La escala consistió en 4 niveles, caracterizados por color y tonalidad de las hojas (**Cuadro 3.2**). Cada nivel de la escala incluyó 4 hojas homogéneas (tonalidad y tamaño); al momento de ser analizadas estadísticamente, cada nivel se evaluó como un tratamiento y cada hoja como una repetición.

En una primera instancia las hojas fueron analizadas con el equipo Minolta SPAD-502, estableciendo rangos en unidades SPAD para cada nivel de la escala de color (**Cuadro 3.2**) y así evitar el error visual. A cada hoja se le realizaron dos mediciones y su promedio fue utilizado para establecer cada rango. Luego las muestras se analizaron con el equipo Dualex4 y posterior a esto se realizaron las cuantificaciones bioquímicas y químicas de clorofilas y nitrógeno, respectivamente.

Cuadro 3.2 Caracterización visual de cada nivel de la escala y su respectivo rango en unidades SPAD.

Caracterización visual (tonalidad)	Rango (unidades SPAD)
Amarillo	0 – 3
Amarillo/ Verde	6 – 14
Verde / Amarrillo	20 -34
Verde	39– 43

3.3.3.1 Cuantificación con método óptico (no destructivo)

A cada hoja se le realizaron 2 mediciones con el equipo Dualex4, estableciéndose un índice de clorofila (Chl) y nitrógeno (NBI); el promedio de éstas fue tomado como una repetición dentro de cada nivel.

3.3.1.2 Cuantificación bioquímica y química de clorofila y nitrógeno.

i. Clorofilas

La concentración de este pigmento fue determinado a través del método propuesto por Lichtenthaler (1987), basado en la extracción de compuestos liposolubles en un solvente orgánico.

Se obtuvo un disco de hoja (~0,04g), desde la zona media de ésta, por medio de un sacabocados n° 7; luego la muestra fue troceada con un bisturí y puesta en un tubo Eppendorf y se adicionaron 500 µL de acetona al 80%, dejándolo macerar por 24 h a 4 °C. Transcurrido este tiempo el extracto fue lavado con 500 µL de acetona al 80% nuevamente. Posterior a ello, la muestra fue ultrasonificada durante 3 min, para finalmente medir la absorbancia con un espectrofotómetro a 470 nm (clorofila a) y 647 nm (clorofila b).

ii. Nitrógeno

El material vegetal que quedo luego de la cuantificación de clorofila fue analizado mediante el método Kjeldahl, que consiste en una digestión ácida que convirtió el tejido orgánico en sulfato de amonio; luego de esto se aplicó hidróxido de sodio convirtiendo la muestra en amoniaco para finalmente ser destilada y titulada expresando el contenido de nitrógeno de manera porcentual (%). Adicionalmente se utilizó el método de Dumas, donde el material fue introducido en una cámara térmica (mufla) para ser calcinada, donde el dióxido de carbono producido por la combustión fue eliminado para luego estimar la cantidad de nitrógeno de forma porcentual (%).

3.4 Análisis estadístico

3.4.1 Evaluación de clorofilas, flavonoides y nitrógeno mediante métodos no destructivos.

Cada fecha de muestreo fue analizada de forma individual, al igual que cada índice. Para cada índice se consideró un diseño completamente al azar (DCA), donde cada tratamiento tenía 10 repeticiones (árboles) con una unidad muestral de 3 hojas por repetición (el promedio de las 3 hojas fue considerado como una repetición).

Los datos del ensayo fueron analizados con el programa Stargraphics versión 18-x64, utilizando un análisis de varianzas simple (ANDEVA) y una separación de medias con la prueba LSD al 95% de exigencia, considerando diferencias estadísticas con un valor $p \leq 0,05$

3.4.2 Comparación entre métodos para la cuantificación de clorofilas y nitrógeno en hojas.

Para evaluar la metodología óptica se consideró un diseño completamente al azar (DCA), donde cada nivel de la escala fue considerado como un tratamiento, y cada hoja por nivel como una repetición con una unidad muestral de 2 mediciones por hoja (el promedio de las 2 mediciones fue considerado como una repetición).

Para evaluar la cuantificación de clorofilas se consideró un diseño completamente al azar (DCA), donde cada nivel de la esca fue considerado como un tratamiento y cada hoja como una repetición, solo se realizó una medición por hoja.

Los datos, tanto de la metodología óptica como de la cuantificación de clorofila, fueron analizados con el programa Stargraphics versión 18-x64, utilizando un análisis de varianzas simple (ANDEVA) y una separación de medias con la prueba LSD al 95% de exigencia, considerando diferencias estadísticas con un valor $p \leq 0,05$

Para evaluar el contenido de nitrógeno, solo se obtuvo un valor a través de cada método bioquímico (Kjeldahl y Dumas) para cada nivel de la escala de color, el cual se comparó de forma porcentual y grafica con el índice NBI.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Evaluación no destructiva de los índices de clorofila (Chl), flavonoides (Flav) y nitrógeno (NBI)

4.1.1 Índice de clorofila (Chl)

Durante las dos primeras mediciones (35 y 49 DDPF), el tratamiento control (T_0) y el tratamiento de cubierta antilluvias (T_1), no muestran diferencias significativas. Sin embargo, el tratamiento bajo macrotúnel (T_2), si tuvo una diferencia del 15% en el primer muestreo. En el segundo muestreo el macrotúnel se diferenció con un 22% con respecto al tratamiento control y un 16% con respecto al tratamiento bajo cubierta antilluvias (**Cuadro 4.1**).

Overbeck *et al.*, (2017) estudió la disponibilidad de luz hasta cosecha en tres cultivares de cerezas bajo cubierta ('Samba sumste' 'Bellise' y 'Rita'), usando métodos no destructivos (Dualox). El estudio muestra que los tres cultivares bajo cubierta indican un mayor índice de clorofila respecto a los mismos cultivares sin cubierta y un incremento de ésta durante el desarrollo y crecimiento del cultivo hasta cosecha. Cerovic *et al.*, (2012) encontraron resultados similares en hojas de trigo.

En este ensayo el tratamiento bajo macrotúnel tuvo problemas durante el periodo de polinización con los vectores entomófilos, viéndose reflejado en un bajo rendimiento (700 kg/ha) en comparación a los otros dos tratamientos (7000 kg/ha sin cubierta protectora y 5700 kg/ha bajo cubiertas antilluvias). Esta baja carga frutal y el rol que tiene la fruta como el mayor captador de asimilados (Tersoglio *et al.*, 2004), hace que órganos que ven inhibido su crecimiento durante el periodo de crecimiento de fruta, sean los principales captadores de asimilado (Bonomelli *et al.*, 2011), translocando el nitrógeno a la producción de biomasa. La alta relación que existe entre el nitrógeno y la clorofila (Cevorvic *et al.*, 2012; Turner y Jund 1991) sumado a lo antes mencionado serian la explicación de la diferencia que tiene el tratamiento bajo macrotúnel respecto a los otros dos tratamientos durante la temporada.

La última medición se realizó en postcosecha a los 125 DDPF y se observa que el tratamiento bajo cubiertas antilluvias, tiene un menor índice Chl (9%) respecto al tratamiento sin cubierta,

pero siendo este el doble que en la medición realizada a 30 DDPF, siendo un claro indicador de que las cubiertas no tienen un gran impacto sobre el índice Chl en las hojas.

Cuadro 4.1 Índice Chl en los tres tratamientos durante las distintas fechas de medición.

Tratamiento	35 DDPF (25. oct. 18)	49 DDPF (08.nov.18)	125DDPF (23.ene.19)
T ₀	17,9 a	23,7 a	35,7 b
T ₁	17,8 a	25,6 a	32,6 a
T ₂	23,3 b	30,3 b	34,2 b
<i>Significancia</i>	**	**	**
<i>Valor P</i>	0,0000	0,0006	0,0040

Fuente: Elaboración propia, Promedios en las columnas, seguida por su respectiva letra, test LSD valor ($p \leq 0,05$). n.s = no significativo; * = significativo ($p \leq 0,05$); ** = altamente significativo valor ($p \leq 0,01$).

4.1.2. Índice de flavonoides (Flav)

Durante las primeras dos mediciones no se observan diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento de cubiertas antilluvias, sin embargo, el tratamiento macrotúnel es quien muestra una diferencia significativa respecto a los otros dos tratamientos, mostrando durante todas las fechas de muestreo un menor índice (**Cuadro 4.2**), debiéndose posiblemente al material que compone la cubierta y como éste filtra la luz (Sánchez, 2019). En relación con la última medición, es posible apreciar que el tratamiento control muestra una diferencia significativa respecto a los otros tratamientos, mientras que T₁ y T₂ no muestran diferencias entre sí. (**Cuadro 4.2**).

Cuadro 4.2 Índice Flav para los tres tratamientos durante las distintas fechas de medición.

Tratamientos	35 DDPF (25. oct. 18)	49 DDPF (08.nov.18)	125DDPF (23.ene.19)
T ₀	1,57 a	1,58 a	2,00 a
T ₁	1,56 a	1,56 a	1,80 b
T ₂	1,29 b	1,34 b	1,69 b
<i>Significancia</i>	*	*	**
<i>Valor P</i>	0,0052	0,0488	0,0000

Fuente: Elaboración propia, Promedios en las columnas, seguida por su respectiva letra, test LSD valor ($p \leq 0,05$). n.s = no significativo; * = significativo ($p \leq 0,05$); ** = altamente significativo valor ($p \leq 0,01$).

Overbeck *et al.*, (2017) señalo que todos los cultivares estudiados sin cubierta protectora (control) obtuvieron un mayor índice Flav, en relación a los mismos cultivares bajo una cubierta plástica. También señala que el aumento en la biosíntesis de flavonoides ha sido observado en condiciones de alta luminosidad y es un reflejo del importante rol que cumplen estos compuestos como elementos fotoprotectores.

Carrasco-Ríos (2009) estudiando el efecto de la radiación UV-B en hojas, señala que la radiación UV-B influye en la síntesis de metabolitos secundarios como fenoles y flavonoides, siendo una medida de protección que toman las plantas ante esta radiación, estudiado tambienen frutos por Li (1993).

Según Sánchez (2019), durante este mismo ensayo demostró que la radiación UV-B a 1,5 m de altura sería mucho menor bajo macrotúnel (2%) y bajo cubiertas antilluvias (51%) con respecto a los cerezos con manejo al aire libre (100%), debido al material utilizado en los tejidos plásticos para aumentar su vida útil (Sánchez, 2019).

4.1.3. Índice de nitrógeno (NBI)

Durante las tres mediciones realizadas en la temporada se observa que no existen diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento bajo cubiertas antilluvias. Sin embargo, los cerezos bajo macrotúnel, siempre tuvieron un mayor índice NBI (**Cuadro 4.3**), debido a la menor carga frutal dada por las condiciones mencionadas anteriormente durante el periodo de polinización. Tersoglio *et al.*, (2004), afirma que la fruta tiene la mayor fuerza para acumular fotoasimilados en relación a las diferentes estructuras del árbol, es por ello que árboles con alta carga frutal poseen menor expansión foliar con poco aumento en el área de sección transversal. Al existir una menor carga frutal la relación fuente/sumidero cambiaría, dejando gran parte de los asimilados a la generación de biomasa.

Overbeck *et al.*, (2017) observó el mismo comportamiento, siendo los tratamientos bajo cubierta plástica los que muestran un mayor índice respecto a los tratamientos sin cubierta. Uno de los mecanismos más usados por las plantas para la absorción de nutrientes es el flujo de masas, el nitrógeno es uno de los macroelementos que es absorbido principalmente por este mecanismo (Marschner, 2012). El motor del flujo de masas es la transpiración que hace circular agua, sales y minerales, vía xilemática en los árboles (Acevedo, 2005).

Díaz *et al.*, (2019) no encontraron diferencias significativas en la transpiración de cerezos bajo cubiertas plásticas y los tratamientos control (sin cubierta). Por otro lado, Retamal (2014) indicó que la conductancia estomática (gs) en arándanos bajo macrotúnel, sería un 99% superior que sin cubierta protectora en días soleados ($gs_{Túnel} = 258 \text{ mmol/m}^2 \text{ s}$; $gs_{Aire libre} = 130 \text{ mmol/m}^2 \text{ s}$) y un 42% en días parcialmente nublados ($gs_{Túnel} = 255 \text{ mmol/m}^2 \text{ s}$; $gs_{Aire libre} = 180 \text{ mmol/m}^2 \text{ s}$). Una mayor conductancia estomática sería el reflejo de un mayor intercambio de gases en las hojas (asimilación de CO_2 y transpiración).

Cuadro 4.3 Índice NBI para los tres tratamientos en las diferentes fechas de medición.

Tratamientos	35 DDPF (25. oct. 18)	49 DDPF (08.nov.18)	125DDPF (23.ene.19)
T ₀	11,6 a	15,3 a	18,0 a
T ₁	11,9 a	16,7 a	18,4 a
T ₂	18,4 b	23,4 b	20,6 b
Significancia	**	*	*
Valor P	0,0001	0,0005	0,0007

Fuente: Elaboración propia, Promedios en las columnas, seguida por su respectiva letra, test LSD valor $p \leq 0,05$. n.s = no significativo; * = significativo ($p \leq 0,05$); ** = altamente significativo (valor $p \leq 0,01$).

4.2 Evaluación del contenido de nitrógeno foliar por los métodos Kjeldahl y Dumas

De acuerdo con los métodos químicos de determinación de nitrógeno foliar (Kjeldahl y Dumas) a los 125 DDPP, se observó que el tratamiento control, acumula un mayor porcentaje de N (2,33% Dumas y 2,15% Kjeldahl), seguido por el tratamiento bajo macrotúnel (2,24% Dumas y 2,07% Kjeldahl) (**Cuadro 4.4**), existiendo una leve diferencia entre los tratamientos, esto indica que el efecto de las cubiertas no tiene un gran impacto en la acumulación de N en el cultivo ya que solo disminuyó un 4% en cerezos bajo macrotúnel y un 7% en cerezos bajo cubiertas antilluvias.

Cuadro 4.4 Comparación de las distintas metodologías para determinar nitrógeno foliar.

Tratamientos	Método Dumas	Método Kjeldahl
T ₀	2,33%	2,15%
T ₁	2,18%	2,02%
T ₂	2,24%	2,07%

Fuente: Elaboración propia; ambas metodologías usan muestras obtenidas 125 DDPF.

4.3 Comparación entre métodos químico y óptico para la cuantificación de clorofilas y nitrógeno

4.3.1 cuantificación de clorofilas

De acuerdo con los resultados se puede apreciar que el instrumento Dualex4 a través del índice Chl logra identificar diferencias significativas entre los distintos niveles en los que se agruparon las hojas. El método químico de cuantificación de clorofila logra identificar las mismas diferencias estadísticas que el método óptico. No estableciendo diferencias significativas entre el primer y segundo nivel (**Cuadro 4.6**), pero si encontrando diferencias significativas entre el tercer y cuarto nivel (**Cuadro 4.6**)

4.3.2 cuantificación de nitrógeno

Los resultados muestran que índice NBI no encuentra diferencias significativas entre el primer y segundo nivel de la escala, de igual forma no encuentra diferencias significativas entre el tercer y cuarto nivel, estableciendo dos grupos estadísticamente iguales (**Cuadro 4.6**). Por otro lado, la determinación química establece diferencias porcentuales entre los cuatro niveles (**Cuadro 4.6**), teniendo una diferencia de un 58% entre el primer y cuarto nivel (método de Kjeldahl y Dumas), resultado distinto al que se observa en el índice NBI que establece una diferencia de un 85% entre el primer y cuarto nivel. Si bien el índice NBI establece diferencias estadísticas entre el segundo nivel y el tercero, esta diferencia es de un 69% mientras que los métodos bioquímicos establecen una diferencia de un 45% (método de Kjeldahl y Dumas) entre ambos niveles.

Cuadro 4.6 comparación entre los métodos químicos y óptico para la determinación de nitrógeno

Caracterización visual/Unidades SPAD	Índice NBI	Método de Kjeldahl (N %)	Método de Dumas (N %)	Índice Chl	Clorofilas totales (µg/g de peso fresco)
Amarillo 0 – 3	2,3 a	0,65	0,6	2,6 a	3,3 a
Amarillo/ Verde 6 – 14	4,2 a	0,71	0,65	6,6 a	11,4 a
Verde/ Amarillo 20 – 24	13,4 b	1,3	1,2	16,4 b	45,6 b
Verde 39 – 43	15,5 b	1,53	1,41	32,5 c	140,5 c

Fuente: los datos del método óptico son un promedio para cada nivel de la escala, los datos de ambos métodos bioquímicos son un valor porcentual del contenido de nitrógeno por nivel de la escala.

Si bien el índice NBI muestra diferencias respecto a los métodos bioquímicos existe una tendencia positiva, pero con gran dispersión en los niveles 3 y 4 (**Figura 4.1; Figura 4.2**) de la escala, por lo que realizar una correlación entre el índice NBI y los métodos químicos para la determinación de nitrógeno no sería un análisis confiable.

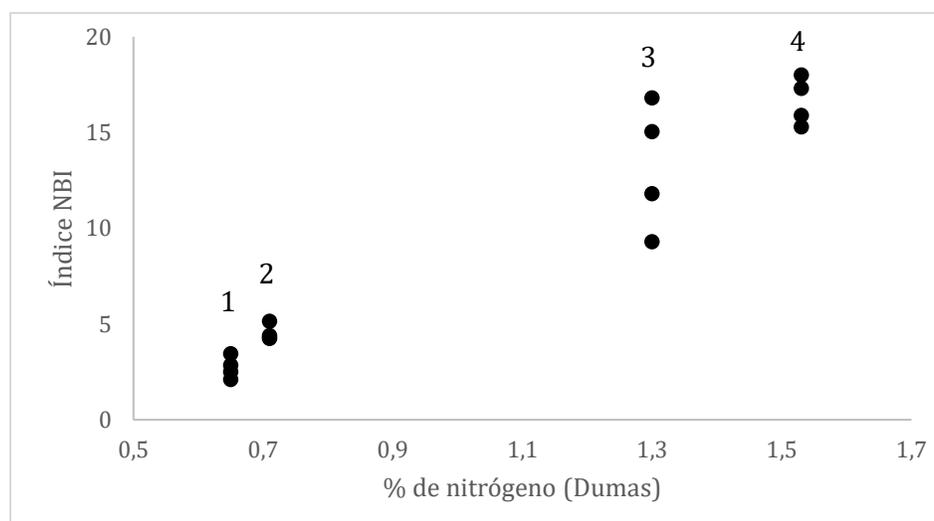


Figura 4.1 regresión lineal del índice NBI respecto a las distintas concentraciones de nitrógeno obtenida en los niveles de la escala de color (1: amarillo; 2: amarillo/verde; 3: verde/amarillo; 4: verde) en hojas de cerezo mediante la determinación bioquímica de Dumas.

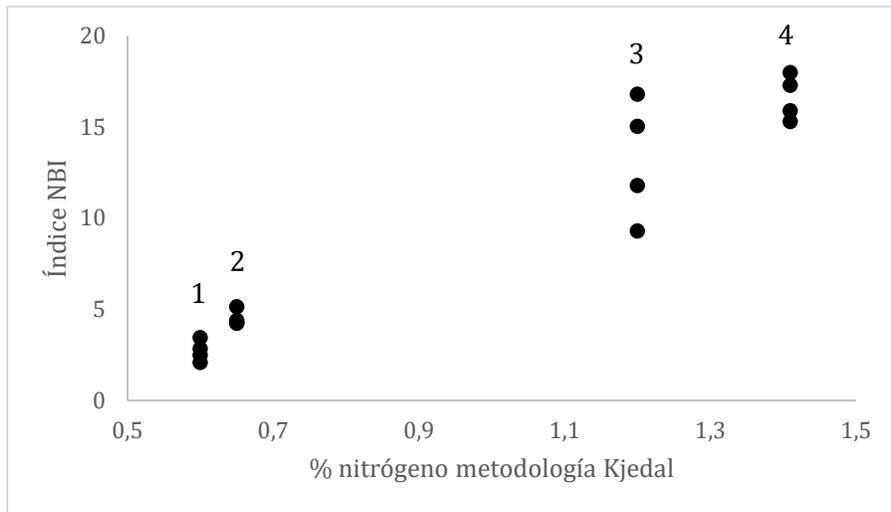


Figura 4.2 regresión lineal del índice NBI respecto a las distintas concentraciones de nitrógeno obtenida en los niveles de la escala de color (1: amarillo; 2: amarillo/verde; 3: verde/amarillo; 4: verde) en hojas de cerezo mediante la determinación bioquímica de Kjeldahl.

Si bien existe una tendencia positiva entre el índice NBI y el contenido de nitrógeno en hojas de cerezo, esto solo sería una aproximación a la evidencia encontrada en otros cultivos que demuestran que la combinación de clorofila y flavonoides (Chl/Flav)(base para la formación del índice NBI) sería mucho más precisa que las mediciones de clorofila (Chl) por si sola en la estimación de nitrógeno foliar (Tremblay et al.2009), siendo un tema para futuras investigaciones.

5. CONCLUSIONES

- 1) Durante el periodo de crecimiento de fruta (35; 49 DDPF) los índices de clorofila (Chl); Flavonoides (Flav) y nitrógeno (NBI), no muestran diferencias significativas entre los tratamientos control y bajo cubiertas antilluvias, por lo que no se rechaza H₀

- 2) La cuantificación de nitrógeno acumulado (125 DDPF), no muestra diferencias significativas entre los tratamientos sin cubierta protectora y los tratamientos bajo cubiertas plásticas, por lo que se debería estudiar con mayor profundidad antes de decidir si realizar programas diferenciados en la fertilización de nitrógeno.

- 3) El equipo Dualex4 a través del índice Chl mostró ser rápido y eficaz en la cuantificación de clorofila, estableciendo las mismas diferencias que el método químico, en hojas con distinto contenido de clorofila

6. BIBLIOGRAFÍA

Abud C. Sepulveda A. 2017. Boletín técnico Pomáceas; Cubiertas plásticas plásticas en cerezos. Centro de Pomáceas, Facultad de Agronomía, Universidad de Talca, Chile.

Álvarez E.; De la rosa L.; Gonzales G.; Ayala J. 2012. Antioxidantes en alimentos y salud. Bosques de las Lomas, Mexico, D.F. Editorial Clave

Balbontín C.; Ayala H.; Richard M.; Tapia G.; Ellen M.; Torres C.; Yury J.A.; Quero-García J.; Silva H. 2013. Cracking in sweet cherries: A comprehensive review from a physiological, molecular and genomic perspective. Chilean J. Agric. Res. Vol.73 no.1. Chillán. Chile.

Bonomelli C.; Bonilla C.; Acuña E.; Artocha P. 2012. Season pattern of root growth in relation to shoot phenology and soil temperature in sweet cherry trees (*Prunus avium* L.): A preliminary study in central Chile. Ciencia e Investigación Agraria. Vol. 39(1). 127-136

Borver J.; Skaar E.; Sekse L.; Meland M.; Vangdal E. 2003. Rain protective covering of sweet cherry trees - effects of different covering methods on fruit quality and microclimate. HortTechnology, Vol 3 (1)

Bremner M, 1960. Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. J. Agric. Sci. Vol 55 (1).

Candal P.A.; Gomillo T. 2008. Pitting en cereza: Estudio de los principales puntos de impacto en líneas productivas. Área de postcosecha INTA Alto valle. Instituto Nacional de Tecnologías Agropecuarias. Ministerio de Agricultura, Ganadería y pesca, Gobierno de Argentina

Carrasco-Ríos L. 2009. Efecto de la radiación ultravioleta-B en plantas. IDESIA. Vol. 27(3). 59-76.

Cartelat A.; Cerovic Z.G.; Goulas Y.; Meyer S.; Lelarge C.; Prioul J-L.; Barbottin A.; Jeuffroy M-H.; Gate P.; Agati G.; Moya I. 2005. Optical assessed contents of leaf polyphenolics and chlorophyll as indicators of nitrogen deficiency in wheat (*Triticum aestivum* L.). Field Crop Res. Vol. 53. 39-51.

Cerovic Z.G.; Masdoumier G.; Ben Ghazlen N.; Latouche G. 2012. A new optical leaf-clip meter for simultaneous non-destructive assessment of leaf chlorophyll and epidermal flavonoid. Physiologia Plantarum. Vol.146. 251-260.

Cerovic Z.G.; Ounis A.; Cartelat A.; Latouche G.; Goulas Y.; Meyes S.; Moya I. 2002. The use of chlorophyll fluorescence excitation spectral for the nondestructive in situ assessment of UV-absorbing compounds in leaves. Plant, Cell & Environ. Vol. 19. 543-578.

Cerovic Z.G.; Ben Ghazlen N.; Milhade C.; Obert M.; Debuissson S.; Le Moigne. 2015. Nondestructive diagnostic test for nitrogen nutrition of Grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on Dualox leaf-clip measurements in the field. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 63 (11). 3669 - 3680.

CIREN. 2016. Catastro frutícola principales resultados julio 2016. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en <https://www.ciren.cl/productos/catastros/> Consultado el 09 de abril del 2020.

CIREN. 2017. Cerezo. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en <https://www.ciren.cl/wp-content/uploads/2017/12/Cerezo.pdf>. Consultado el 13 de abril del 2020.

Christensen J.V. 1973. Cracking in cherries: VI. Cracking susceptibility in relation to the growth rhythm of the fruit. Acta Agriculturae Scandinavica. Vol. 23. 52-54.

Crisosto C.; Garner D.; Doyle J.; R. Day K. 1993. Relationship between fruit respiration, bruising susceptibility, and temperature in sweet cherries. HortScience. Vol 28 (2): 132-135.

Díaz A. 2019. Evaluación del estado hídrico e intercambio gaseoso de un huerto de cerezo (cv. "Santina") bajo cobertores plásticos de distinta densidad. Memoria para optar al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Talca, Talca, Chile.

Ellena M. 2012. Boletín- INIA n° 247: Formación y sistema de conducción del cerezo dulce. Instituto de investigación agropecuaria. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile.

González S, 2018. Stone Fruit Annual. Report contains assessments of commodity and trade issues made by USDA staff and not necessarily statements of official U.S. Government policy. United States Department of Agriculture (USDA). U.S.

INIA. 2016. Cubiertas plásticas: INIA y Subsólé se anticipan en estrategias de adaptación al cambio climático. [En línea] recuperado de <http://www.inia.cl/blog/2016/10/11/uva-de-mesa-de-campo-abierto-a-cubierta-plastica-inia-y-subsole-se-anticipan-al-cambio-climatico/> . consultado el 14 de abril del 2020.

iQConsulting. 2020. Anuario 2019/2020: Mercado Internacional de Cerezas. <http://www.iqconsulting.com/yb/#>

Jordan M.O.; Habib R.; Bonafous M. 1997. Uptake and allocation of nitrogen in Young peach trees as affected by the amount of photosynthates available in roots. Journal of plant nutrition. Vol 21. 2441- 2454.

Kalra S. 1998. Handbook of reference methods for plant análisis. Boca Raton; Boston; London; New York; Washington, D.C. CRC press.

Kappel, F.; Toivonen, P. 2005. Resistance of advanced sweet cherry selections and cultivars to fruit surface pitting. Agriculture and Agri-Food Canada.

Kertesz Z.I. y Nebel B.R. 1935. Observation on the cracking of cherries. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC439195/>

Labra L.; Astudillo O.; Riquelme J. 2005. Boletín-INIA n° 130. Fruticultura: Establecimiento de huertos de cerezo. Centro de investigación Raihuen. Instituto de investigación agropecuaria. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile.

Lang, G. A. 2014. Growing sweet cherries under plastic covers and tunnels: Physiological aspects and practical considerations. Acta Horticulturae. 1020, 303–312.

Latorre B. 2008. Cerezos saludables. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Pontificia Universidad Católica de Chile. Documento recuperado de http://agronomia.uc.cl/component/com_sobipro/Itemid,232/pid,121/sid,707/

Lemus G. 2005. Boletín-INIA N° 133: El cultivo del cerezo. Instituto de investigación Agropecuario. Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile.

Li J.; Ou-Lee T.-M.; Raba R.; Amundson R.G.; Last R.L. 1993. Arabidopsis flavonoid mutants are hypersensitive to UV-B irradiation. The Plant Cell. Vol. 5. 171-179.

Lichtenthaler H.K. 1987. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology. Vol. 148. 350-382.

Marengo R.A.; Antezana-Vera S.A.; Nascimiento H.C.S. 2009. Relationship between specific leaf area, leaf thickness, leaf water content and SPAD-502 reading in six amazonian tree species. Photosynthetica. Vol. 47. 184-190.

Marschner P. 2012. Mineral Nutrition of Higher Plants. School of Agriculture, Food and Wine. University of Adelaide. Australia.

Mendoza M.N.; Alcantar G.; Aguilar A.; D.Etchevers J.; Santizo J.A. 1998. Estimación de la concentración de nitrógeno y clorofila en tomate mediante un medidor portátil. Terra Latinoamericana. Vol 16 (2). 135-141.

Millard, P. 1993. A review of internal cycling of nitrogen within trees in relation to soil fertility. Optimization of Plant Nutrition. Develop in plant and soil sciences. Vol 53. Editorial Fragoso, M.A.C. and M.L. van Beusichem. Dordrecht, Netherlands

Morón C.; Zacarias I.; De Pablo S. Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición. dirección de alimentación y nutrición. Oficina regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Universidad de Chile. Santiago, Chile

Muller J. 2017. ¿ Dumas o Kjeldahl para la determinación el análisis de referencia ?. Un libro blanco elaborado por FOSS. Barcelona, España. 5 pag.

Muñoz M, 2015. Cerezas: Fruta en expansión. Oficina de estudio y políticas agrarias (ODEPA), Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea], Recuperado en <https://www.odepa.gob.cl/wp-content/uploads/2015/08/Cerezas2015.pdf> Consultado el 09 de abril del 2020.

ODEPA. 2019. Boletín fruta fresca. Oficina de estudios y políticas agrarias (ODEPA), Ministerio de Agricultura, Gobierno de Chile. [En línea] Recuperado en <https://app.powerbi.com/view?r=eyJrljoiNTg4ZGYwNmMtZGE0NS00ZWYyLWI3OTYtOTUzMzM0NTI5Njg3liwidCI6IjMzYjdmNzA3LTZINmYtNDJkMi04ZDZmLTk4YmZmOWZiNWZhMCIslmMiOjR9> Consultado el 09 de abril del 2020

Overbeck V, Schmitz M, Tartachnyk I, Blanke M. 2017. Identification of light availability in different sweet cherry orchard under cover by using non-destructive measurements with a Dualex. European Journal of Agronomy. Vol 93 (2018). 50-56.

ProChile, 2017. Estudio de mercado Cerezas. Documento elaborado por la oficina de comercial de Chile en Hong Kong y Macao RAE's. Ministerio de relaciones exteriores, Gobierno de Chile. Redagricola comunicaciones limitada. 2019. Revista Redagrícola: Especial Cerezos. Edición 105. Agosto 2019. Chile. 108 pag.

Retamal J. 2014. Influencia de las condiciones micro climáticas bajo túnel alto sobre respuestas fisiológicas y productivas en arándanos (*Vaccinium corymbosum* L.). Memoria para optar al grado de Magister en Ciencias Agrarias. Universidad de Concepción, Chile.

Rezeto B. 1999. Para entender la fruticultura. Santiago, Chile. Editorial Vertigo. 373pag.

Richardson A.D.; Duigan S.P. ; Berlyn G. 2002. An evaluation of noninvasive methods to estimate foliar chlorophyll content. New Phytologist Trust. Vol. 153 (1). 185-194.

Robinson L. y Domínguez L. 2013. Production of sweet cherries under high tunnels in either the modified spanish Bush and the tal spindle systems. New York Fruit Quarterly. Vol 21 (2). 25-28. <http://nyshs.org/wp-content/uploads/2016/10/Pages-25-28-from-NYFQ-Summer-Book-6-22-2013.PRESS-6.pdf>

Samborski S.; Tremblay N.; Fallon E. 2009. Strategies to make use of plant sensors-based diagnostic information for nitrogen recommendations. Agronomy journal. Vol 101. Pag 800-816.

Sánchez, J. 2019. Comportamiento del cerezo en ambientes modificados. Boletín técnico número 109 Centro de Pomáceas. Unidad del Cerezo, Universidad de Talca, Chile.

San Martino L. 2010. Dinámica y utilización del nitrógeno en el cultivo de cerezo dulce (*Prunus avium* L.). Tesis presentada para postular a Doctor en el área de ciencias Agrarias. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Schmitz-Eiberger M., Blanque M. 2012. Bioactive components in forced sweet cherry (*Prunus avium* L.) antioxidative capacity and allergenic potential as depend on cultivation under cover. . INRES – Horticultural Science, University of Bonn, Auf dem Hugel 6, 53121 Bonn, Germany.

Tapia C.; Pinto L.; Donoso J.M.; Sepúlveda A. 2018. Boletín técnico pomáceas: maximización productiva de cerezos. Facultad de Agronomía, Universidad de Talca, Chile.

Tersoglio E.; Naranjo G.; Rivero L.; Quiroga M. 2006. Requerimiento de frío invernal y de calor en variedades de cerezos. Información técnica económica agraria. Vol 102. Pag 251-259.

Tersoglio E.; Rivero L.; Aruani C. ; Quiroga M. 2004. Nuevos índices de densidad de carga en cerezos *Prunus avium* cvs 'Rainier' y 'Bing', su relación con el contenido de sólidos solubles y distribución de calibre. ITEA. Vol. 103V N°3. Pag 173-186.

Tremblay N.; Belec C.; Jenni S.; Fortier E.; Mellgren R. 2009. The Dualex – a new tool to determine nitrogen sufficiency in brocoli. Acta Horticulturae. Vol. 824. 121-131.

Tremblay N.; Wang Z.; Belec C. 2010. Performance of Dualex in spring wheat for crop nitrogen status assessment, yield prediction and estimation of soil nitrate content. Journal of Plant Nutrition. Vol.33. 57-70.

Tremblay N.; Wang Z.; Cerovic Z. 2012. Sensing crop nitrogen status with fluorescence indicators. Agronomy sustainable development. Vol 32. Pag 451-464.

Turner, F.T. y M. F. Jund. 1991. Chlorophyll meter to predict nitrogen topdress requirement for semi-irrigated rice. Agronomy Journal. Vol. 83. 926-928.

Uddling J.; Gelang-Alfredsson J.; Piikki K.; Pleijel H. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. Photosynth Research. Vol. 91. 37-46.

Usenik V, Fabčić J, Stampar F. 2008. Sugar, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.). Agronomy department, Biotechnical faculty, University of Ljubljana, Slovenia.

Wallberg B.N. y Sagredo K.X. 2014. Vegetative and reproductive development of "Lapins" sweet cherry trees under rain protective covering. Acta Horticulturae, (1058), 411-417.

Yamaguchi M., Sato I., Ishiguro M. 2002. Influence of epidermal cell size and flesh firmness on cracking susceptibility in sweet cherry (*Prunus avium* L.) cultivars and selections. J. Japan. Soc. Hort. Sci. Vol 71 (6).