

# La clorosis férrica en limonero Fino y su diagnóstico visual

<sup>1</sup>Oltra Cámara, M. A.; <sup>1</sup>Mangas Martín, V. J.; <sup>2</sup>Giménez Montesinos, M.; <sup>2</sup>Ferrández, J. M. <sup>3</sup>Giner, J. F.

<sup>1</sup> Dpto. Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente. Universidad de Alicante. Apartado 99. 03080 Alicante, Spain. (\*corresponding author. e-mail: marco.oltra@ua.es).

<sup>2</sup> Dpto de Producción Vegetal y Microbiología. Universidad Miguel Hernández.

<sup>3</sup> Departamento de Producción Vegetal, Escuela Técnica Superior del Medio Rural y Enología. Universidad Politécnica de Valencia.

## INTRODUCCIÓN

La técnica del diagnóstico foliar de los cítricos se utiliza rutinariamente como método para guiar y controlar las aplicaciones de fertilizantes, buscar las causas de carencias y toxicidades y juzgar los efectos de los ensayos agronómicos. Los cítricos son, junto con la vid y el pomelo, la especie frutal que ha sido objeto del mayor número de trabajos, lo cual ha permitido un gran progreso de esta técnica.

El hierro (Fe) es un elemento esencial para los cultivos, pues forma parte de moléculas que intervienen en sistemas fotosintéticos y respiratorios, como la ferredoxina, los citocromos y citocromo oxidasa, resulta esencial para la síntesis de clorofila y participa en un buen número de sistemas enzimáticos importantes para el metabolismo de las plantas. Si se quiere comprender y mejorar la nutrición férrica, es fundamental identificar los componentes involucrados en la toma del hierro a nivel molecular. En los últimos años, se han identificado familias de genes que codifican los transportadores responsables de la toma de hierro desde la rizosfera hasta las células de la raíz (Thomine, 2001). Sin embargo, no se conoce la naturaleza de las señales implicadas en la regulación de la homeostasis del Fe, ni cómo estas señales se convierten en cambios en la expresión génica y en la actividad enzimática (Schmidt, 2003).

La clorosis férrica es una deficiencia de hierro que se observa con frecuencia en los cítricos (*Citrus spp.*), y se caracteriza, de forma visual, por un amarillamiento intermerval de las hojas jóvenes. Suele producirse como consecuencia de un nivel alto de bicarbonatos en la solución del suelo, que provoca un descenso en la solubilidad del Fe en el suelo y, posteriormente en la planta, una disminución de la actividad fisiológica del Fe. El término clorosis indica la falta de clorofila y otros pigmentos, tanto en la hoja como en el fruto, de las plantas que sufren esta deficiencia de Fe. Los cítricos afectados por la clorosis presentan una reducción del vigor y de la producción, por ello la prevención de la clorosis férrica en los cítricos es relevante.

Pese a la importancia de un correcto diagnóstico foliar del hierro, la mayoría de los análisis realizados, si bien no son erróneos en cuanto a las concentraciones de hierro (resultados analíticos), si pueden serlo en cuanto a la interpretación de esos resultados. Esto es debido a que el método utilizado para la determinación del Fe en la mayoría de análisis foliares -espectrofotometría de absorción atómica- expresa la concentración total de este elemento, sin diferenciar el activo ( $Fe^{2+}$  capaz de intervenir en reacciones metabólicas) y el no activo ( $Fe^{3+}$ ).

El primer objetivo del presente trabajo es estudiar en muestras foliares que presentan carencia de hierro, si existe relación entre el diagnóstico visual y el análisis foliar de las mismas. Asimismo, se pretende determinar qué tipo de muestras darán los resultados más cercanos a la realidad en cuanto a la concentración de ese elemento y su apariencia visual. Una vez conocidos los resultados de este estudio, se discutirá qué forma es la correcta para la toma de la muestra foliar y qué método analítico se debería utilizar para la determinación del elemento.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras foliares fueron de limonero Fino y se tomaron siguiendo diagonales a lo largo de la parcela, primero en un sentido y después en el otro, asegurando así la toma de muestras en las cuatro orientaciones: norte, sur, este y oeste. Se han recogido hojas procedentes de la brotación de primavera, con una edad comprendida entre 5 y 7 meses y sin frutos terminales. Las muestras estaban compuestas por hojas enteras, con peciolo incluido, y libres de plagas, enfermedades y tratamientos foliares. Las hojas se introducían en bolsas debidamente etiquetadas y se enviaban al laboratorio para la realización de los análisis de hierro por espectrofotometría de absorción atómica. Finalmente, con los datos obtenidos se realizó un estudio estadístico ANOVA para determinar si existe o no relación entre el método de diagnóstico visual y el método analítico.

El trabajo se realizó en la finca "Lo Monte", situada en el término municipal del Pilar de la Horadada, perteneciente a la provincia de Alicante (España). La superficie total de la finca es de 425 hectáreas. La parcela objeto del experimento tiene una superficie de 5 hectáreas y 4 áreas en la que hay 1400 árboles de limoneros de la variedad Fino. Los árboles tienen una edad de 15 años y tienen como portainjerto el naranjo amargo (*Citrus aurantium*). La parcela se riega por sistema de riego localizado. Tiene un marco de plantación de 6 x 6, siendo el diámetro de copa medio de 5,5 metros. La temperatura media es de 18°C y la pluviometría media de 245 mm/año.

El número total de hojas muestreadas de limón Fino fue de alrededor de 3.500, que se clasificaron en cuatro grupos atendiendo a los síntomas visuales de carencia de hierro que presentaban:

- \*X<sub>0</sub>: Hojas que representan al rango normal teórico, son hojas sin apariencia de toxicidades o carencias.
- \*X<sub>1</sub>: Hojas cuyos nervios y limbo foliar permanecen igual que en X<sub>0</sub>. Presenta un color verde más degradado, menos intenso que en X<sub>0</sub>.
- \*X<sub>2</sub>: Hojas con limbos de una coloración muy degradada con respecto a X<sub>0</sub> (limbos amarillos) y nervios verdes.
- \*X<sub>3</sub>: Hojas con limbos de color amarillo-blanquecinos con nervios verde-amarillentos.

El número de repeticiones no era el mismo para todos los grupos, debido a que se tomaron las muestras y después se clasificaron según el grado de clorosis visual. No obstante, el valor mínimo de repeticiones por grupo es 7, siendo suficiente para hacer la estadística básica.



FOTO 1. Clasificación de los grupos de hojas



FOTO 2. Grados de carencia de hierro.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de la varianza (Tabla I) aplicado a los resultados muestra que existe una diferencia altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre los grupos muestreados, lo cual resulta lógico teniendo en cuenta el grado de intensidad de clorosis de cada uno de los grupos en que se separaron las hojas. Si bien al repasar las medias de cada grupo se infiere claramente que los resultados no son los que se espera de una hoja con deficiencia. Resulta paradójico encontrar valores mayores en las hojas deficientes que en el grupo testigo, que presenta una coloración verde intensa, visualmente pues, normal.

TABLA I. ANÁLISIS DE LA VARIANZA

Grupo	Fe (ppm)	Desv. Tip.	Err. Est.	Mínimo	Máximo	Tamaño
X <sub>0</sub>	164,4	30,2	11,4	117,9	213,5	7
X <sub>1</sub>	227,7	70,0	22,1	148,5	325,2	10
X <sub>2</sub>	273,6	60,1	20,0	185,7	366,7	9
X <sub>3</sub>	128,8	47,1	17,8	86,4	191,5	7

\* (X<sub>0</sub> = normal, X<sub>1</sub> = carencia, X<sub>2</sub> = carencia alta, X<sub>3</sub> = carencia muy alta)

Media global: 205,86      Tamaño global: 33  
Varianza factorial: 33239,15      Grados de libertad: 3  
Varianza residual: 3166,95      Grados de libertad: 29  
F. experimental: 10,49  
SIGNIFICATIVO: (P < 0,01)

Trabajos anteriores (Valenzuela y Romero, 1991) hacen referencia a que la pigmentación de las hojas y, por tanto, su contenido en clorofila es mayor a medida que aumenta la concentración de la forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ). Estos mismos autores citan varios trabajos que apoyan esta tesis. La mayor parte del Fe en la planta está en forma férrica ( $Fe^{3+}$ ) como una fosfoproteína férrica, sin embargo se cree que la forma ferrosa ( $Fe^{2+}$ ) es la metabólicamente activa (Jones et al., 1991).

Por esta razón, la concentración de Fe total no parece un indicador fiable del estado nutritivo del Fe, por lo que los datos sobre niveles críticos de deficiencia o sobre niveles adecuados, deben darse con ciertas reservas. Por ello en la toma de muestras de hojas deberá obviarse la recogida de hojas cloróticas, ya que en dicho caso los resultados pueden ser totalmente discrepantes.

Los valores que señalan las tablas del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación (MAPA, www.mapa.es) de España para la interpretación de la concentración en hierro, expresado en ppm, son los siguientes:

TABLA II. VALORES DE INTERPRETACIÓN PARA EL HIERRO. MAPA

Muy bajo	Bajo	Normal	Alto	Muy alto
< 35	35-60	61-100	101-200	>200

Si tomamos estos valores del MAPA como referencia para la interpretación de las muestras, observamos que la media del contenido en hierro en la muestra X<sub>0</sub> es de 164,4 ppm, lo que nos indicaría que estamos en un valor alto. En el caso de las muestras X<sub>1</sub> y X<sub>2</sub>, la media es de 227,7 y 273,6 ppm respectivamente, y según la misma norma de interpretación estaríamos en un valor muy alto, a pesar de tener mayor grado visual de clorosis. En el caso de la muestra X<sub>3</sub> (carencia visual muy alta), el contenido es de 128,8 ppm, situándola en un contenido alto.

Las muestras X<sub>2</sub> y X<sub>3</sub> tienen valores mínimos de 185,7 y 86,4 ppm, y máximos de 366,7 y 191,5 ppm respectivamente, de modo que, según las tablas del MAPA, tendrían concentraciones normales o altas de este elemento. Es obvio que esta interpretación no se corresponde con el diagnóstico visual, es decir, no existe correlación entre la concentración foliar de Fe y el grado de clorosis, llegando incluso a ser mayor la cantidad de hierro en hojas cloróticas que en hojas verdes, debido a la inactivación del Fe en hojas o a un efecto de la clorosis férrica sobre el crecimiento de la hoja (Morales et al., 1988). Sin embargo, actualmente, la mayoría de laboratorios españoles realiza una analítica del Fe total en hojas, según la metodología del MAPA (absorción atómica) y su interpretación conforme a dichas tablas, lo que hace pensar que no siempre sería correcto, particularmente en la determinación de la intensidad de la clorosis férrica, de acuerdo a los datos aquí presentados y que confirma otros trabajos citados. Debido a esta paradoja de escasa o nula correlación entre clorosis férrica y concentración foliar de Fe, se vienen buscando nuevos parámetros como métodos de diagnosis temprana de la clorosis férrica. Recientes investigaciones proponen usar la concentración de Fe en las flores de naranjos para predecir la aparición de clorosis férrica (Pestana et al., 2001).

## CONCLUSIONES

Para la determinación del Fe por el método analítico oficial del MAPA, no se deben tomar muestras foliares de limoneros con clorosis férrica visualmente manifiesta. Las concentraciones foliares de Fe total no constituyen un indicativo correcto para determinar el grado de clorosis de los limoneros.

Los métodos analíticos en los que se basan la mayoría de los laboratorios para obtener los contenidos foliares de Fe no son válidos para interpretar el grado de carencia del mismo. El diagnóstico visual del Fe en limoneros es una técnica factible para determinar la carencia de este elemento y mucho más efectiva que la analítica a efectos prácticos de aplicación de quelatos.

## BIBLIOGRAFÍA:

- Jones Jr., J.B., B. Wolf, and H.A. Mills. 1991. Plant Analysis Handbook. A Practical Sampling, Preparation, Analysis and Interpretation Guide. Micro-Macro publishing Inc. Athens, Georgia, USA. 213 p.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, Dirección General de Política Alimentaria. 1986. Métodos Oficiales de Análisis. Vol. III.
- Morales F., Grasa R., Abadía, A., Abadía, J. 1998. Iron Chlorosis Paradox in Fruit Trees, J. Plant Nutr., 21 (4) , 815-825.
- Pestana, M.; Correia, P.J.; de Varennes, A.; Abadía, J. & Araújo Faria, E. 2001. The use of floral analysis to diagnose the nutritional status of orange trees. J. Plant Nutr., 24 (12), 1913 – 1923.
- Schmidt, W. 2003. Iron solutions: acquisition strategies and signaling pathways in plants. Trends Plant Sci., 8, 188-193.
- Valenzuela, J. L. y Romero, L. 1991. ¿Son útiles los análisis foliares? Ciencia Agronómica Nº 0 A.G. Editores El Ejido. Almería.
- Thomine, S. 2001. Mining out for iron. Trends Plant Sci. 6, 140.