

**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES**



**CAMBIOS METABOLICOS EN CULTIVARES DE ARANDANO ALTO
(*Vaccinium corymbosum* L.) EN RESPUESTA A LA APLICACION DE
ENMIENDAS CALCICAS A UN ANDISOL.**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. Como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

NATALIA BERNARDITA JARA HORMAZABAL
PROFESOR GUIA: MARJORIE MARIANELA REYES DIAZ

TEMUCO – CHILE
2014

**CAMBIOS METABOLICOS EN CULTIVARES DE ARANDANO ALTO
(*Vaccinium corymbosum* L.) EN RESPUESTA A LA APLICACIÓN DE
ENMIENDAS CÁLCICAS A UN ANDISOL.**

PROFESOR GUIA : MARJORIE MARIANELA REYES DÍAZ
Biólogo
Doctor en Ciencias Biológicas
Dpto. de Ciencias Químicas y Recursos Naturales

PROFESOR CONSEJERO : MIREN RITA ALBERDI LAG
Profesor de Biología y Química
Doctor en Ciencias de Recursos Naturales
Dpto. de Ciencias Químicas y Recursos Naturales

CALIFICACION PROMEDIO TESIS :

ÍNDICE

Capítulo		Página
1.	INTRODUCCIÓN	1
2.	REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Caracterización de la especie	3
2.2	Importancia del arándano en Chile y el mundo	4
2.3	Importancia de los nutrientes relacionados con el estudio	5
2.3.1	Calcio	5
2.3.2	Azufre	5
2.3.3	Aluminio	6
2.4	Características bioquímicas a evaluar en el estudio	6
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1	Descripción del área de estudio	10
3.1.1	Antecedentes del huerto	10
3.2	Material vegetal y manejo	10
3.3	Aplicación de enmiendas	11
3.3.1	Sulfato de Calcio (CaSO_4)	11
3.3.2	Carbonato de Calcio (CaCO_3)	12
3.4	Análisis bioquímico del material vegetal	13
3.4.1	Determinación de antioxidantes totales de hojas y frutos	13
3.4.2	Determinación de Flavonoides totales	14
3.4.3	Determinación de antocianos totales	15
3.4.4	Peroxidación de lípidos	15
3.5	Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos	16
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.	17
4.1	Peroxidación lipídica en hojas	17
4.2	Actividad antioxidante en hojas	18
4.3	Actividad antioxidante en frutos	21
4.4	Antocianinas totales en hojas	23
4.5	Fenoles totales en frutos	24

4.6	Antocianinas totales en frutos	26
4.7	Flavonoides totales en hojas	27
5	CONCLUSIONES	29
6	RESUMEN	30
7	SUMMARY	31
8	LITERATURA CITADA	32
9	ANEXOS	36

1. INTRODUCCION.

Antecedentes generales.

El arándano es una especie frutal de tipo arbustivo, nativo de Norteamérica y que pertenece a la familia de la Ericaceas. Este frutal es considerado dentro del grupo de los berries junto con el frambueso, moras, entre otros.

Esta especie fue introducida a Chile a principios de la década de los ochenta, generándose a la fecha una serie de investigaciones en torno a sus cualidades nutritivas y en general beneficiosas para la salud humana; tales como su alto contenido antioxidantes, lo cual lo ha convertido en una especie conocida y utilizada por aquellos quienes priorizan la salud y el bienestar desde un punto de vista más natural.

Existen tres tipos de arándanos: el arándano “alto” (highbush), *Vaccinium corymbosum* L.; el arándano "ojo de conejo" (rabbiteye) *Vaccinium ashei* R.; y el arándano "bajo" (lowbush), *Vaccinium angustifolium* A. Las especies de mayor importancia en nuestro país corresponden al arándano alto, donde se incluyen las variedades utilizadas en este estudio; Legacy, Brigitta y Bluegold.

Esta especie se adapta muy bien a las condiciones de acidez de los suelos del sur de nuestro país ($\text{pH} \leq 5.5$), elevada porosidad y altos contenidos de materia orgánica. Sin embargo, las condiciones edafoclimáticas de la Región de La Araucanía propicias para el óptimo desarrollo del arándano, especialmente la acidez, presentan una problemática en cuanto a sus altos niveles de aluminio (Al^{3+}). Este metal, soluble en condiciones de acidez, es tóxico para la planta, ya que limita el desarrollo radicular y en general el crecimiento de la misma, inhibiendo el alargamiento y la división celular. Además actúa desplazando los nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo del frutal, induciendo principalmente deficiencias de Ca, P y Mg. Además, bajo toxicidad por Al^{3+} aumentan las especies reactivas al oxígeno (ROS), y por ende el estrés oxidativo y la peroxidación de lípidos de membrana, que puede ser altamente perjudicial para la planta, dependiendo de la capacidad antioxidante que posea.

La fertilización en este cultivo ha sido una de las prácticas más eficientes para asegurar un potencial adecuado para producir frutos abundantes y de excelente calidad. Por otra parte, debido a la baja eficiencia de absorción de sus raíces; por su escasa exploración y ausencia de pelos

radicales y por desarrollarse en un medio ácido, requieren constantemente durante su crecimiento del aporte de nutrientes, principalmente calcio. Una deficiencia de este nutriente puede evidenciarse en una baja brotación y pérdida de consistencia de sus frutos, donde uno de los más utilizados es el sulfato de calcio (CaSO_4).

Es así como en este trabajo se planteó la siguiente hipótesis.

El calcio aplicado al suelo como carbonato o sulfato reducirá los altos contenidos de aluminio tóxico (Al^{3+}) presentes en un Andisol (suelo ácido), aumentando en mayor proporción la actividad antioxidante y disminuyendo la peroxidación lipídica especialmente en el cultivar Legacy.

De acuerdo a lo anterior, en el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo General

Evaluar el efecto de la aplicación de dos fuentes distintas de calcio (sulfato de calcio y carbonato de calcio) sobre el contenido de aluminio y las características bioquímicas (actividad antioxidante y peroxidación lipídica) en tres cultivares de arándano alto.

Objetivos Específicos

- Evaluar el efecto de diferentes dosis de enmiendas calcáreas sobre la disminución del aluminio del suelo y de los cultivares utilizados.
- Determinar la dosis óptima de sulfato y carbonato de calcio para disminuir el aluminio tóxico en el suelo y la planta, como asimismo los cambios en la actividad antioxidante y peroxidación lipídica en los cultivares utilizados.

2 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.

2.1 Caracterización de la especie.

El arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) es un frutal arbustivo nativo de Norteamérica, considerado dentro de los comercialmente llamados berries por sus características tanto físicas (colores desde rojo a morado y tamaño pequeño) como químicas (alto contenido antioxidante haciéndolos benéficos para la salud), introducido a Chile a principios de la década de los ochenta (Buzeta, 1997).

Los arándanos altos son plantas de entre 1.5 y 2.5 metros de altura con una alta resistencia al frío (-30°C en invierno) cultivadas en suelos con pH de 4.5 a 5.5. Requieren de entre 800 a 1200 horas frío (bajo 7°C), son autofértiles y presentan un período de flor a fruto de 30 a 90 días. Entre ellas encontramos las variedades Legacy, Brigitta y Bluegold; de producción media a tardía y alto potencial de rendimiento. El fruto es una baya de sabor agridulce, de forma casi esférica, de 7 a 15 mm de diámetro, de color azul claro a oscuro, con pequeñas semillas y firme al tacto (CIREN, CORFO 1989).

Una de las variedades preferidas en el mercado norteamericano es la fruta de la variedad highbush Brigitta, por su sabor y la sensación de crocante al masticar su epicarpio (INDAP 2003).

2.2 Importancia del arándano en Chile y el mundo.

Los arándanos son la especie de berry mas cultivada en Chile, siendo la Región de La Araucanía la tercera a nivel nacional con mayor superficie plantada, 1.561 ha. que constituyen el 12,6 % del total país. Ver tabla 1.

Tabla 1. Superficie de arándanos por regiones en Chile. Fuente: Censo frutícola 2012.

Región	Superficie (há)	Porcentaje (%)
III Región de Atacama	2	0,0
IV Región de Coquimbo	331,7	2,7
V Región de Valparaíso	341,4	2,8
Región Metropolitana de Santiago	335	2,7
VI Región de O'Higgins	875,2	7,1
VII Región del Maule	2018,5	16,3
VIII Región del Bio-Bio	4280,2	34,5
IX Región de La Araucanía	1561	12,6
X Región de Los Lagos	1141,3	9,2
XIV Región de Los Ríos	1519,1	12,2
TOTAL PAÍS	12405,4	

Esta alcanza el 22,8 % del volumen total de fruta fresca exportada en el país, siendo Estados Unidos el país más demandante de este fruto en el mundo. Esto por la creciente tendencia de una alimentación sana, impulsada por una campaña de sensibilización realizada por la industria de arándanos en EEUU.

Entre los años 2008 y 2010 más del 50 % de las importaciones de arándanos frescos en Estados Unidos provinieron de Chile. (ODEPA 2011). Ver figura 1.

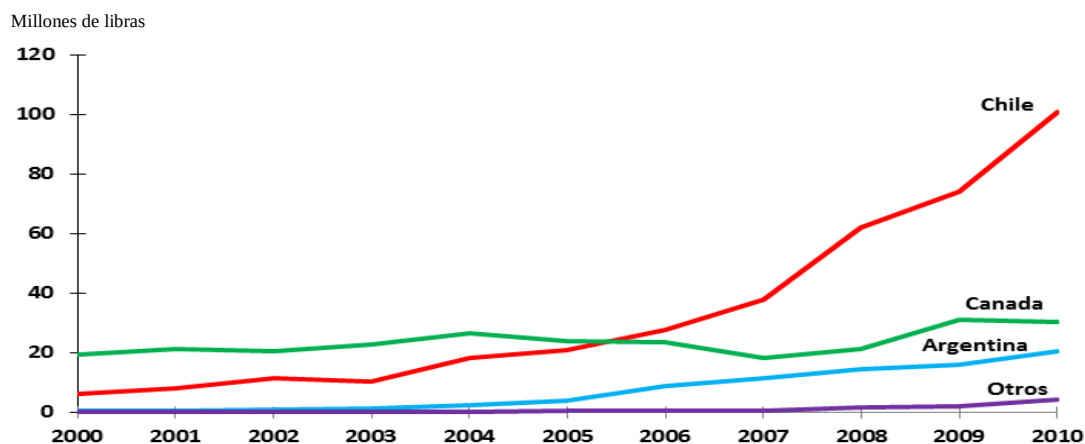


Figura 1. Evolución de las importaciones de arándanos frescos en EE.UU entre los años 2000 y 2010 (millones de libras). Fuente: USDA, Foreign Agricultural Service

2.3 Importancia de los elementos relacionados con el estudio.

2.3.1 Calcio.

El Calcio (Ca) es un elemento abundante en la mayoría de los suelos por lo que rara vez constituye un factor limitante. Sin embargo en suelos ácidos se hace necesario el aporte de sales cálcicas debido al alto contenido de aluminio (Al) tóxico para las plantas. Es uno de los nutrientes más importante en la determinación de la calidad de los frutos en lo referente a conservación y su efecto sobre la capacidad de almacenamiento, la cual no puede ser sustituida por otros nutrientes. Esta relación entre el contenido de Ca y la firmeza del fruto está dada por su incidencia en la estabilidad de la lámina media, estructura y permeabilidad de membranas, en el crecimiento de meristemas y como regulador de la acción de fitohormonas (Rubilar, 2004).

La movilidad del Ca a través del vegetal es lenta y su ausencia se evidencia principalmente en hojas jóvenes mediante la deformación de las mismas y a través de la desintegración total de meristemas en tallo y raíz (Fageria, 2001).

2.3.2 Azufre.

Los compuestos biológicos en donde se involucra el azufre (S) son de diversos tipos y complejidad.

La mayor parte del azufre tomado por las plantas del suelo es absorbido en forma de sulfato (SO_4) e incorporado al aminoácido cisteína en los tejidos fotosintéticos (Rubilar, 2004).

Diferentes fuentes de S son utilizadas en el manejo agronómico de este frutal, sin embargo existe desconocimiento acerca de cuales son las dosis adecuadas para esta especie. Una alternativa corresponde al sulfato de calcio (CaSO_4) el cual no altera los niveles de pH requeridos para poder tener mayor disponibilidad de los nutrientes (hierro y manganeso), que para el caso de esta especie frutal son mayores sus requerimientos.

Su deficiencia se distingue por la clorosis intervenal y de hojas jóvenes ya que se inhibe la síntesis proteica (Benavides, 1998).

2.3.3 Aluminio.

El aluminio (Al) es el tercer elemento más abundante de la corteza terrestre. En altas concentraciones, debido a su solubilidad en suelos ácidos, puede ser responsable de la reducción de rendimiento del cultivo por fitotoxicidad. En presencia de pH inferior a 5 se insolubilizan nutrientes como el fósforo (P) y se moviliza el Al principalmente como Al tóxico (Al^{3+}). (Marchner, 1991).

La toxicidad de Al constituye el factor limitante más importante para la producción agrícola en suelos ácidos, ya que genera la inhibición del crecimiento de las raíces, reduciéndose así la absorción de nutrientes del suelo. Además interfiere en la utilización de algunos iones, en especial el Ca, Mg y P (Yamamoto et al., 1996).

Reyes-Díaz et al (2009; 2010) realizaron estudios en plantas de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) y reportaron que altas concentraciones de Al intercambiable en los suelos volcánicos del sur de Chile causan estrés oxidativo en las plantas, siendo esta una condición propicia para estimular una mayor producción de antioxidantes de fruta como mecanismos de resistencia frente a este estrés abiótico.

2.4 Características bioquímicas a evaluar en el estudio.

Los metabolitos secundarios son aquellos compuestos orgánicos sintetizados por el organismo que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo. A diferencia de lo que

sucede con los metabolitos primarios, la ausencia de algún metabolito secundario no le impide la supervivencia, si bien se verá afectado por ella, a veces gravemente (Dirzo, 1985).

En este trabajo se evaluarán los siguientes metabolitos secundarios:

Antioxidantes, fenoles y flavonoides, antocianos. Además, peroxidación de lípidos.

Se le denomina radical libre a una molécula o átomo que posee un electrón libre girando en una órbita externa. Esta situación vuelve a la molécula o átomo altamente reactiva al oxígeno ya que el electrón mencionado busca una pareja, para salir de esta condición atómicamente inestable. (Montero, 1999).

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas, entre estas podemos encontrar los lípidos. El mayor daño oxidativo se produce en los lípidos en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica que afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, alterándose la permeabilidad de la membrana celular y produciéndose muerte celular. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno (Kuskoski et al, 2004).

Producto de la lipoperoxidación se forman aldehídos, cetonas, esteres y alcoholes (Montero, 1999).

En el estudio realizado por Reyes-Díaz et al. (2010) indicaron que debido a la toxicidad por Al se produjo un aumento en la peroxidación lipídica de membranas en arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) siendo mayormente afectado el cultivar Bluegold en comparación de Legacy. Este proceso repetitivo conduce a la membrana a perder sus propiedades físico-químicas y finaliza con la muerte celular (Díaz, 2002). Jones et al (2006) y Yamamoto et al (2001) tipifican la lipoperoxidación como un resultado del estrés oxidativo, siendo considerado como un índice general de la lesión oxidativa en la membrana.

Los antioxidantes son sustancias que activan mecanismos de defensa a nivel celular neutralizando los radicales libres. Algunos antioxidantes son sintetizados por las células de forma natural y otros deben ser ingeridos en alimentos, principalmente vitaminas E, C, Betacaroteno y minerales como el Zinc y el selenio principalmente.

Dentro de las sustancias con capacidad antioxidante que se pueden encontrar en el arándano están el betacaroteno, antocianinas, fenoles, ácido elágico y ácido fólico (Sapers et al., 1984).

Una baja lipoperoxidación se asocia con una alta capacidad antioxidante en plantas tolerantes al aluminio (Reyes-Díaz et al. 2010).

Los compuestos fenólicos son sustancias con funciones diversas, desde la coloración de flores y frutos hasta la impregnación de lignina de las paredes pecto-celulósicas. Entre los compuestos fenólicos anteriormente mencionados del arándano destacan ácidos fenólicos y antocianinas, que están siendo constantemente estudiadas por su fuerte capacidad antioxidante (Shellapan et al., 2002). Ver cuadro 1.

Los compuestos fenólicos según su estructura química se dividen en:

- Fenoles simples
 - ácidos fenólicos: ácidos benzoicos, ácidos cinámicos.
 - estilbenos: resveratrol.
- Flavonoides
 - flavonoles.
 - flavanoles: taninos o proantocianidinas.
 - antocianidinas y antocianos.

Cuadro 1. Clasificación de los compuestos fenólicos (Valls et al., 2000).

Según lo realizado por Ribera et al. (2010) hay una correlación entre el contenido de antioxidantes totales y compuestos fenólicos en los cv. Legacy, Brigitta y Bluegold. Estos han sido señalados por Prior et al. (1998), Kalt et al. (1999), Ehlenfeldt y Prior (2001) y Castrejón et al. (2008) que sugieren que los compuestos fenólicos deben ser utilizados como un rasgo de

selección para los programas de reproducción, con la finalidad de mejorar la actividad antioxidante de los genotipos de arándanos.

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Steinmetz y Potter (1996) realizaron estudios epidemiológicos sugiriendo que el consumo de alimentos ricos en polifenoles lograría ser un sistema preventivo ante las enfermedades asociadas al estrés oxidativo. Los flavonoides desempeñan un papel importante en la biología vegetal encontrándose en extractos de plantas como arándano, *Gingko biloba* y cardo. Estos compuestos responden a la luz y controlan los niveles de las auxinas reguladoras del crecimiento y diferenciación de las plantas. Otras funciones incluyen un papel antifúngico y bactericida, confieren coloración, lo que puede contribuir a los fenómenos de polinización y tienen una importante capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre (Martínez et al., 2002). Castrejon et al (2008) propone que durante el proceso de maduración de la fruta de arándano se observan dos niveles altos de la biosíntesis de flavonoides el primero se asocia con flavonoles y la biosíntesis de ácidos hidroxicinámico y el segundo en asociación a la acumulación de antocianinas. En un estudio realizado por Ribera et al. (2010) se reportó una mayor composición de antocianos en frutos del cultivar Legacy, comparándolo con los cultivares Brigitta y Bluegold.

Por otro lado, se sabe que los antocianos son colorantes naturales pertenecientes al grupo de los flavonoides. Están presentes en casi todas las plantas y en todas sus partes, sobre todo en flores y frutos (particularmente en bayas) (Kuskoski et al, 2004)

Las antocianinas son pigmentos hidrosolubles que se encuentran en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos. Actúan como antioxidantes tanto en medio acuoso como lipídico. Su efecto antioxidante es 15-20 veces mayor que vitamina E y 20 veces mayor que la vitamina C en la neutralización de radicales libres. Sus funciones en las plantas son múltiples, desde la protección de la radiación ultravioleta hasta la de atracción de insectos polinizadores (Pino, 2007).

3 MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Descripción del área de estudio.

3.1.1 Antecedentes del huerto.

El ensayo se realizó en el Fundo “Berries San Luis” ubicado en la comuna de Lautaro, Provincia de Cautín en la región de La Araucanía-Chile. El huerto tiene aproximadamente 15 años, con un suelo que pertenece a la serie Perquenco con alta saturación de aluminio.

Se evaluaron tres cultivares; Legacy, Brigitta y Bluegold, con aplicaciones de sulfato de calcio y carbonato de calcio en distintas concentraciones. Las mediciones y tomas de muestras (hojas y frutos) fueron realizadas durante la época primavera-verano en condiciones de follaje completo en tres períodos: I. Noviembre de 2010 II. Diciembre de 2010 y III. Enero de 2011 (figura 2).



Figura 2. Plantas utilizadas para los ensayos.

3.2. Material vegetal y manejo.

Las plantas en estudio fueron seleccionadas de forma aleatoria dentro del huerto, considerando dos hileras con 1.5 m de camellón, 3 m de entrehilera y 90 cm entre plantas, por cada variedad a tratar. En las variedades utilizadas se aplicaron cuatro dosis de cada enmienda (sulfato y carbonato de calcio) en aproximadamente veinte plantas por tratamiento por hilera, dentro de los

cuales se incluye un testigo o control que denominamos T₀ al cual no se le aplicó la enmienda, y tres tratamientos en base a distintas concentraciones de la enmienda (Tabla 2).

Tabla 2. Dosis de enmienda en forma de sulfato y carbonato de calcio aplicados a tres cultivares de arándano alto (kg/ha).

T0: 0 kg/ha → Control
T1: 500 kg/ha
T2: 1000 kg/ha
T3: 2000 kg/ha

3.3. Aplicación de enmiendas.

3.3.1. Sulfato de Calcio (CaSO₄).

El sulfato de calcio (CaSO₄) fue aplicado de manera directa al suelo como enmienda calcárea con la finalidad de incrementar los niveles de calcio y azufre, favoreciendo la nutrición de la planta.

Al aplicarse en una plantación ya establecida debe cuidarse una serie de factores dado que la permanencia del producto a lo largo de la banda de plantación está directamente ligada a las condiciones climáticas presentes. La existencia de una lluvia medianamente prolongada generaría el arrastre del producto a zonas distintas a la del lugar de aplicación, no lográndose el objetivo y con la pérdida del producto y los beneficios esperados. La aplicación debe ser de tipo superficial por sobre la cinta de riego para poder incorporarlo posteriormente con un cincel o rastra a 3 o 5 cm. de profundidad.

El aporte de calcio y azufre del sulfato de calcio se observa en la Tabla 3.

Tabla 3. Contenido de nutrientes (Kg) en 100 Kg producto utilizado.

Producto	Ca	S
Sulfato de Calcio	23	18

3.3.2. Carbonato de Calcio (CaCO_3).

El carbonato de calcio (CaCO_3) fue aplicado de la misma forma que el sulfato de calcio, directo al suelo, sobre la cinta de riego a lo largo y ancho del camellón, con la finalidad de aumentar el contenido de calcio en el suelo y a su vez disminuir la saturación de aluminio existente en éste (figura 3). La enmienda es de marca SOPROCAL con 98 % de pureza.

El aporte de calcio del carbonato de calcio se observa en la tabla 4.

Tabla 4. Contenido de nutrientes (Kg) en 100 Kg de producto utilizado.

Producto	Ca
Carbonato de Calcio	36



Figura 3. Aplicación de enmiendas en el huerto

Detalle de los tratamientos:

De acuerdo a los datos de la parcela se establecieron las cantidades adecuadas de aplicación de sulfato de calcio y carbonato de calcio por tratamiento en aproximadamente 20 plantas como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Kg de producto aplicados a cada ensayo realizadas el 15 de septiembre del año 2010 bajo las condiciones de suelo con alta saturación de aluminio y pH bajo, entre 4.7 y 5.7

Tratamiento	Kg de cada enmienda
T ₀	0
T ₁	1.35
T ₂	2.7
T ₃	5.4

3.4. Análisis bioquímico del material vegetal.

3.4.1. Determinación de antioxidantes totales de hojas y frutos.

Para la determinación de antioxidantes totales en hojas y frutos se utilizó el método del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), protocolo descrito por Chinnici et al. (2004). La absorbancia fue medida a 515 nm utilizando trolox como estándar con un espectrofotómetro (modelo 2800 uu/vis, UNICO, New Jersey, USA). Ver figura 4 y 5.



Figura 4. Extracto de hojas reaccionando con DPPH.



Figura 5. Espectrofotómetro utilizado para medir absorbancia.

3.4.2 Determinación de flavonoides totales.

Para la determinación de flavonoides totales se utilizó el método colorimétrico de cloruro de aluminio (Chang et al., 2002). La absorbancia de los extractos metanólicos acidificados se midieron en un espectrofotómetro a 510 nm.

3.4.3 Determinación de antocianos totales.

El contenido de antocianinas totales se realizó según el método diferencial de pH como de Cheng y Breen (1991) con modificaciones menores. Las absorbancias de los extractos de antocianina se midieron en un espectrofotómetro a 530 nm y 657 nm con un coeficiente de extinción molar de cianidina-3-glucósido de 29.600.

3.4.4 Peroxidación de lípidos.

Se determino por el método de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) según lo descrito por Heath y Packer (1968) y modificado por Du y Bramlage (1992) donde las muestras luego de maceradas son calentadas a 95°C durante una hora (figura 6). En este procedimiento la absorbancia fue medida a 532, 600 y 440 nm para corregir las interferencias producidas por los complejos de TBARS-azucres.



Figura 6. Termoblock utilizado para la determinación de TBARS.

3.5 Diseño experimental y tratamiento estadístico de los datos.

Para las determinaciones relativas a las características físicas y bioquímicas de los frutos el diseño experimental adoptado fue un diseño de bloques divididos, con tres cultivares con cuatro tratamientos cada uno.

El tratamiento estadístico consistió en un análisis de varianza (ANOVA) y una comparación de medias a través de la prueba de Tukey, considerando como valores significativamente diferentes con $p \leq 0,05$.

El análisis y las pruebas estadísticas se realizaron a través del programa computacional JMP 8.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1 Peroxidación lipidica en hojas.

La figura 7 muestra los resultados obtenidos para peroxidación de lípidos. Las medias están entre 34 y 515, obteniéndose diferencias significativas entre los cultivares, siendo mayor Bluegold ($P < 0,05$), coincidiendo con lo observado por Reyes-Díaz et al. (2010). Sin embargo, en el estudio realizado por Reyes-Díaz et al. (2010) resultó que el cv. Bluegold mostró una peroxidación de lípidos más alta y fue el más afectado por toxicidad por Al comparado con el cv. Legacy. Mientras que en este estudio se observó que el cv. Legacy presentó los mayores valores de peroxidación de lípidos en todos los tratamientos, dentro de esto cabe destacar que en el caso de carbonato de calcio 1000 y 2000 Kg/ha se presentan los resultados más altos en cv. Legacy comparado con cv. Bluegold, llegando a ser 5 veces superior. El tratamiento de carbonato de calcio fue el que incrementó más la peroxidación de lípidos comparado con el tratamiento de sulfato de calcio, especialmente en el cv. Legacy (Figura 7).

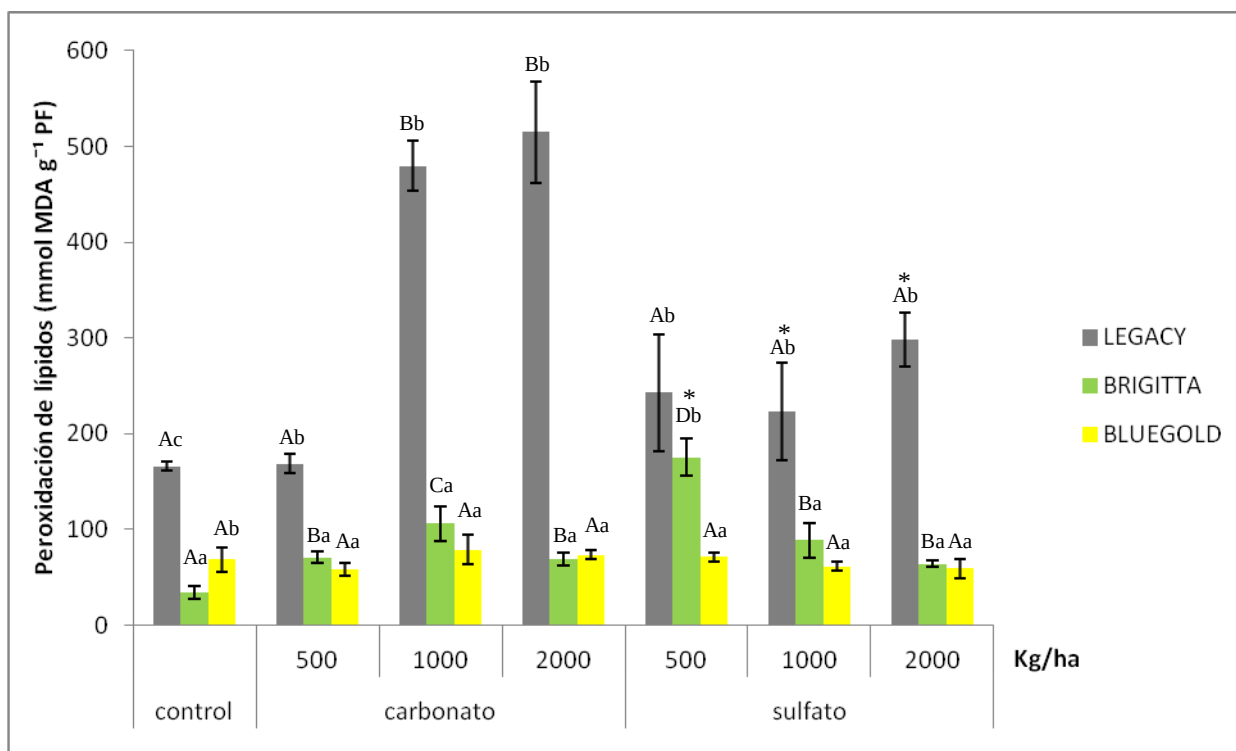


Figura 7. Peroxidación de lípidos en hojas de tres cultivares de arándano, bajo la influencia de dos enmiendas calcareas. Los valores son un promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras

minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento; letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar; asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar.

4.2 Actividad antioxidante en hojas.

En la figura 8A se presentan los resultados de antioxidantes en hojas obtenidos en el mes de noviembre, para cada uno de los tratamientos evaluados. Se presentan diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos y dentro del mismo cultivar según el análisis de varianza realizado. Las medias varían entre 5243 y 10244 $\mu\text{mol ET g}^{-1} \text{PF}$.

El tratamiento de sulfato de calcio fue el que presentó las mayores diferencias entre cultivares, siendo la dosis de 500 Kg/ha la que presenta los resultados más bajos, llegando a presentar resultados similares que el control para caso del cv. Legacy. Para el caso del tratamiento de carbonato de calcio se observa que la cantidad de antioxidantes fue mayor comparado con el control, sin embargo entre las dosis de 500, 1000 y 2000 Kg/ha de este mismo tratamiento no se observan diferencias para un mismo cultivar.

En la figura 8B se muestran los datos obtenidos de antioxidantes en hojas para el mes de diciembre. De acuerdo a los resultados y su respectivo análisis de varianza, se observaron diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$). A diferencia de lo obtenido en el mes de noviembre el cultivar con los valores más elevados de antioxidantes fue Bluegold comparado con Legacy. Las medias para este mes están entre 5772 y 11180 $\mu\text{mol ET g}^{-1} \text{PF}$. Se presentan diferencias tanto entre cultivares como entre tratamientos, siendo el tratamiento con sulfato de calcio el que presenta los niveles más bajos de antioxidantes.

Es posible observar que el tratamiento de 2000 Kg/ha de carbonato de calcio presenta mayores diferencias entre cultivares, siendo 50% y 100% mayor en Brigitta y Bluegold, respectivamente comparado con Legacy.

En la figura 8C se muestran los resultados obtenidos de antioxidantes en hojas para el mes de enero del año 2011, presentándose valores más elevados que los meses anteriores. El análisis de

varianza arrojó diferencias significativas entre los tratamientos ($P < 0,05$). Los valores más altos se encontraron con el tratamiento de sulfato de calcio, mientras que los cv. Legacy y Brigitta están sobre el cv. Bluegold en la cantidad de antioxidantes en hojas. Las medias para este mes están entre 10037 y 14130 $\mu\text{mol ET g}^{-1}$ PF. Si bien existen diferencias significativas entre cultivares, no se observan grandes diferencias entre estos ni entre los tratamientos, observándose las mayores diferencias entre cultivares en el tratamiento de 1000 Kg/ha donde el cultivar Brigitta es un 10 % más antioxidantes que Legacy y 20 % más que Bluegold.

Tales diferencias pueden ser explicadas por lo señalado por Reyes-Díaz et al. (2009), donde se sugiere que las altas concentraciones de aluminio intercambiable en suelos volcánicos ácidos del sur de Chile causan estrés oxidativo en plantas de arándanos. Esto podría inducir una mayor producción de compuestos antioxidantes como un mecanismo de tolerancia para superar los efectos de este estrés. Por otra parte Reyes-Díaz et al. (2010) asocia una baja lipoperoxidación con una alta capacidad antioxidante

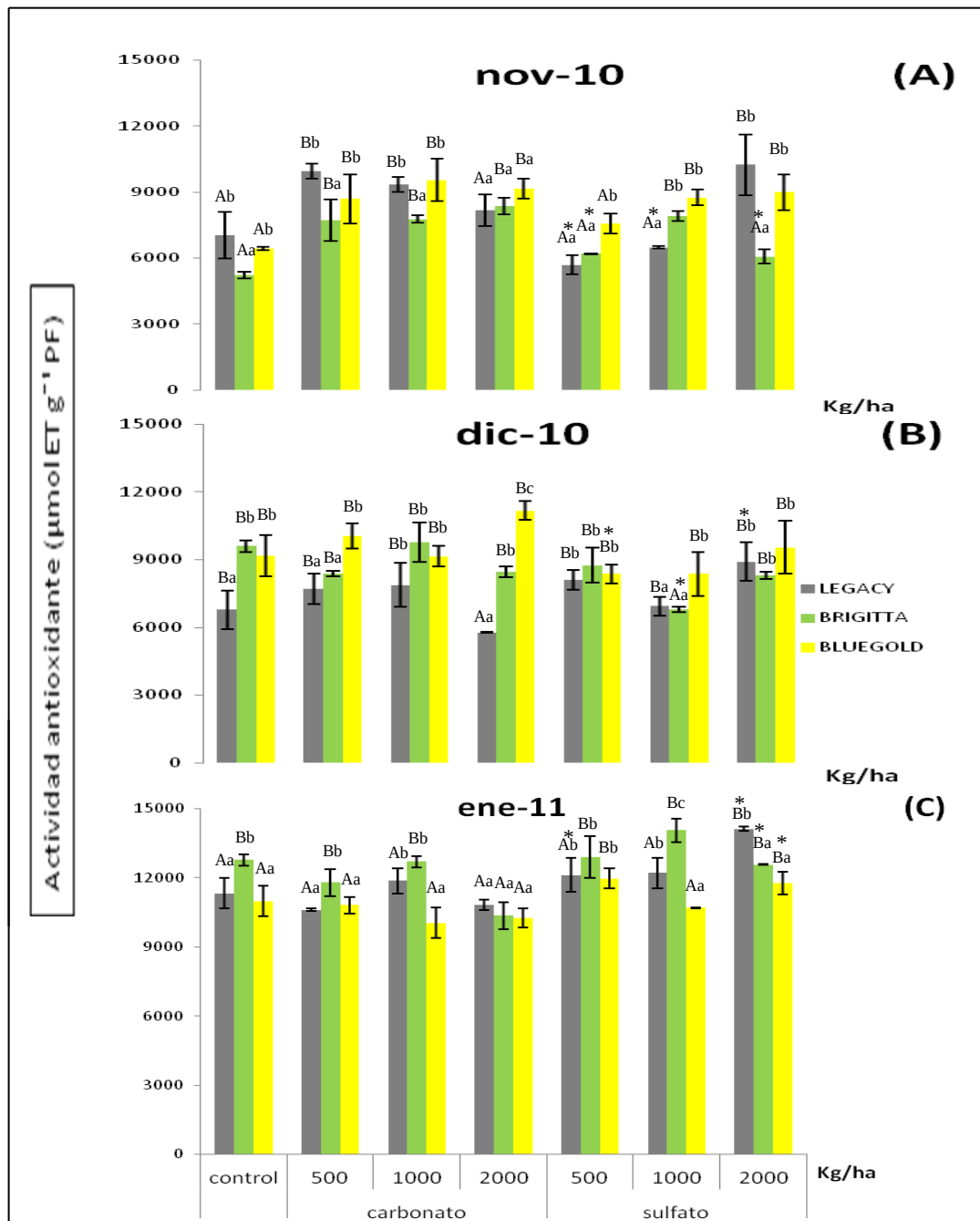


Figura 8. Actividad antioxidante total de hojas de tres cultivares de arandanos sometidas a dos tipos de enmiendas calcareas. Los valores son promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar. Asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar.

4.3 Actividad antioxidantes en frutos.

La figura 9 muestra los resultados obtenidos para antioxidantes en frutos, para cada uno de los tratamientos evaluados. Se observan diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos y cultivares, siendo Legacy la que presenta los valores mas elevados en las variables ya mencionadas y el tratamiento de sulfato de calcio alcanzó mayores niveles de antioxidantes totales que el tratamiento con carbonato de calcio. La actividad antioxidante en frutos fue menor a la obtenida en hojas, mostrando medias entre 1022 y 2383. Estos resultados coinciden con los reportados por Ribera et al. (2010).

Se pueden observar las mayores diferencias entre cultivares, en el tratamiento de 500 Kg/ha de carbonato de calcio donde Legacy mostró valores un 75% más altos que Brigitta. En el tratamiento de 1000 Kg/ha de sulfato de calcio, Bluegold presentó valores de un 50 y 100% mas bajo que Brigitta y Legacy, respectivamente. En general el cv. Legacy es el que presenta los valores de antioxidantes más altos, sin embargo en las dosis de 1000 y 2000 Kg/ha de carbonato de calcio hay una pequeña disminución, mientras que para estas mismas dosis con el tratamiento de sulfato de calcio hay un notable aumento de casi un 30%.

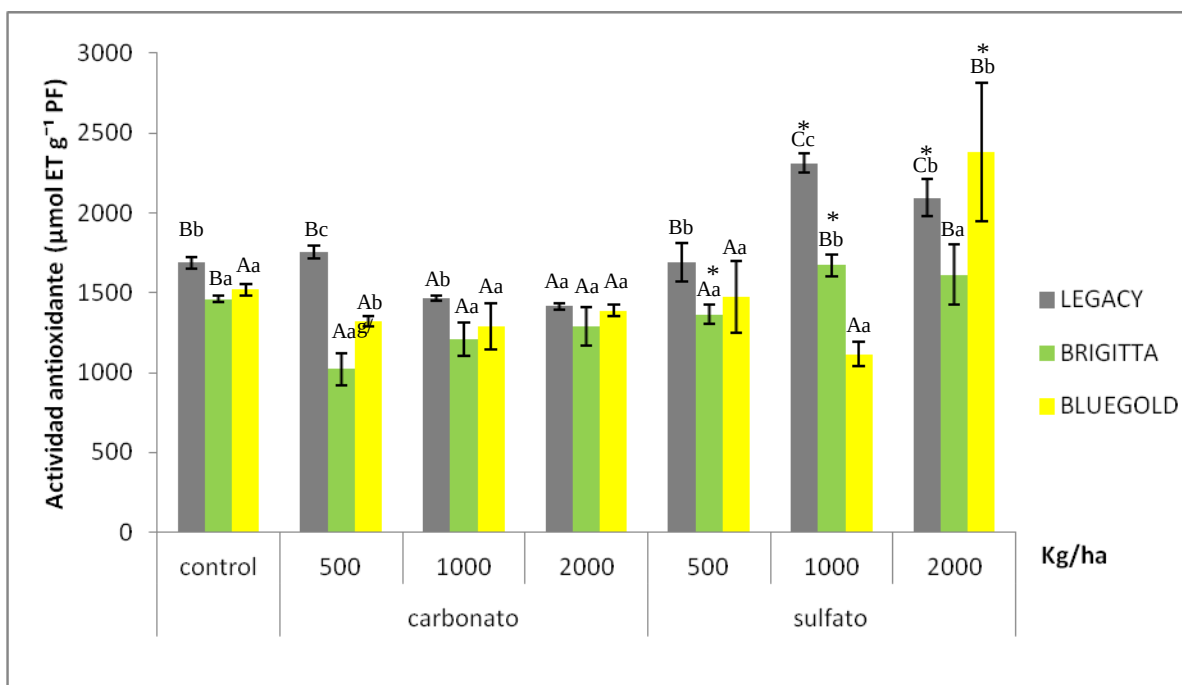


Figura 9. Antioxidantes totales en frutos de tres cultivares de arándano alto bajo la influencia de dos enmiendas calcareas. Los valores representan un promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar. Asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar.

4.4 Antocianinas totales en hojas

En la figura 10 se presentan los resultados obtenidos para el contenido de antocianinas en hoja. Según el análisis de varianza se presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) entre tratamientos, cultivares y dosis. Los resultados expuestos verifican que dentro de la misma especie puede existir variabilidad en el contenido de antocianinas, dependiendo de los cultivares. Esto coincide con lo señalado por Pino et al. (2007), quien observó que los cultivares de arándano alto presentan diferencias significativas en el total de antocianinas.

Con el tratamiento de sulfato de calcio se observa una distribución más homogénea de antocianinas, siendo el cv. Legacy el que presenta los valores más bajos, mientras que Bluegold los más altos. Se observan también diferencias significativas entre cultivares en 500 Kg/ha de carbonato de calcio, siendo Brigitta quien supera en un 100% a los cultivares Legacy y Bluegold.

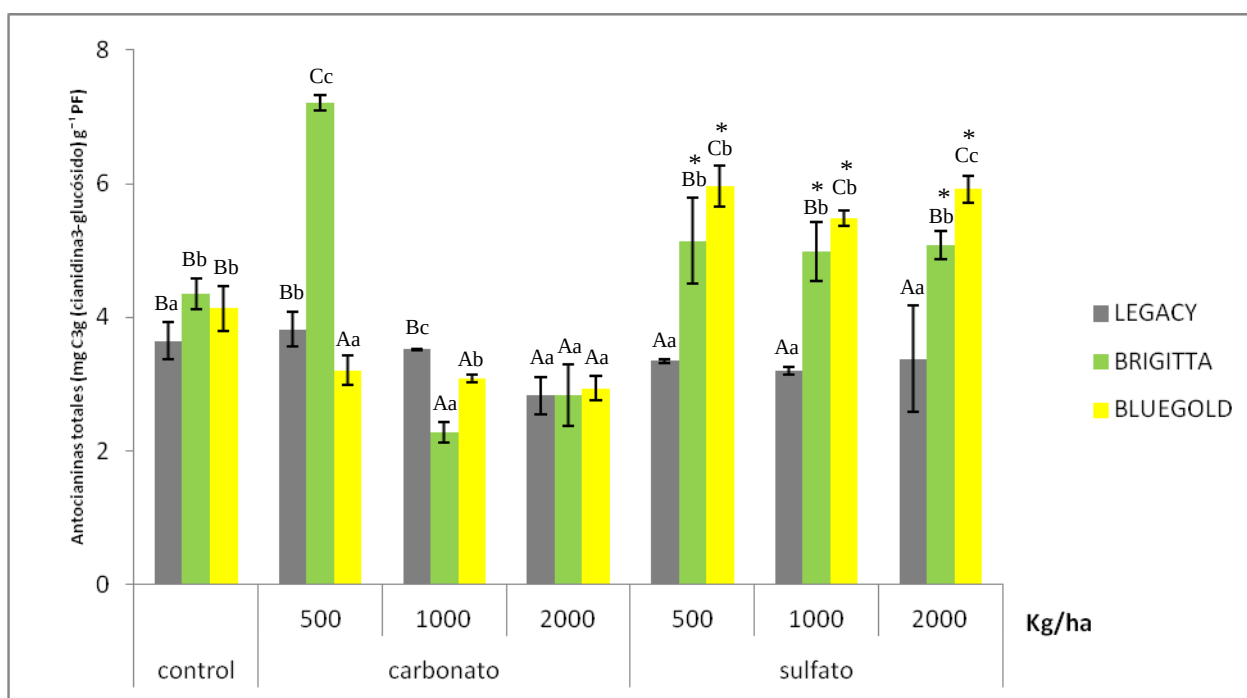


Figura 10. Antocianinas totales en hojas de tres cultivares de arándano bajo, sometidas a dos tipos de enmiendas calcáreas. Los valores son un promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar. Asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar.

4.5 Fenoles totales en frutos.

Según los resultados expuestos en la figura 11 se presentan diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0,05$) esto coincide con lo reportado por Prior et al. (1998); Ehlenfeldt y Prior (2001); Moyer et al. (2002), Connor et al. (2002) y Guerrero (2006) quienes indican que sí existen diferencias entre cultivares en el contenido de fenoles. Bluegold con la fuente de calcio sulfatada fue el que presenta los valores más elevados de fenoles llegando a ser 100% mayor que los otros cultivares. Por otra parte, el cv. Legacy con el tratamiento de carbonato de calcio muestra un notable aumento en el contenido de fenoles, siendo la dosis de 1000 Kg/ha la que presenta el valor más alto de éstos, superando casi en un 20% al control. En cambio, en el tratamiento con sulfato de calcio los fenoles totales son menores comparados con el control, no habiendo diferencias significativas entre las dosis de 500, 1000 y 2000 Kg/ha. El cv. Brigitta presenta una disminución respecto al control de fenoles totales con el tratamiento de carbonato de calcio, sin embargo a medida que se aumenta la dosis el contenido de estos también aumenta, llegando a ser la dosis de 2000 Kg/ha igual al control. No ocurre lo mismo para el tratamiento con sulfato de calcio en el mismo cultivar, ya que el contenido de fenoles disminuye a medida que se aumenta la dosis de tratamiento

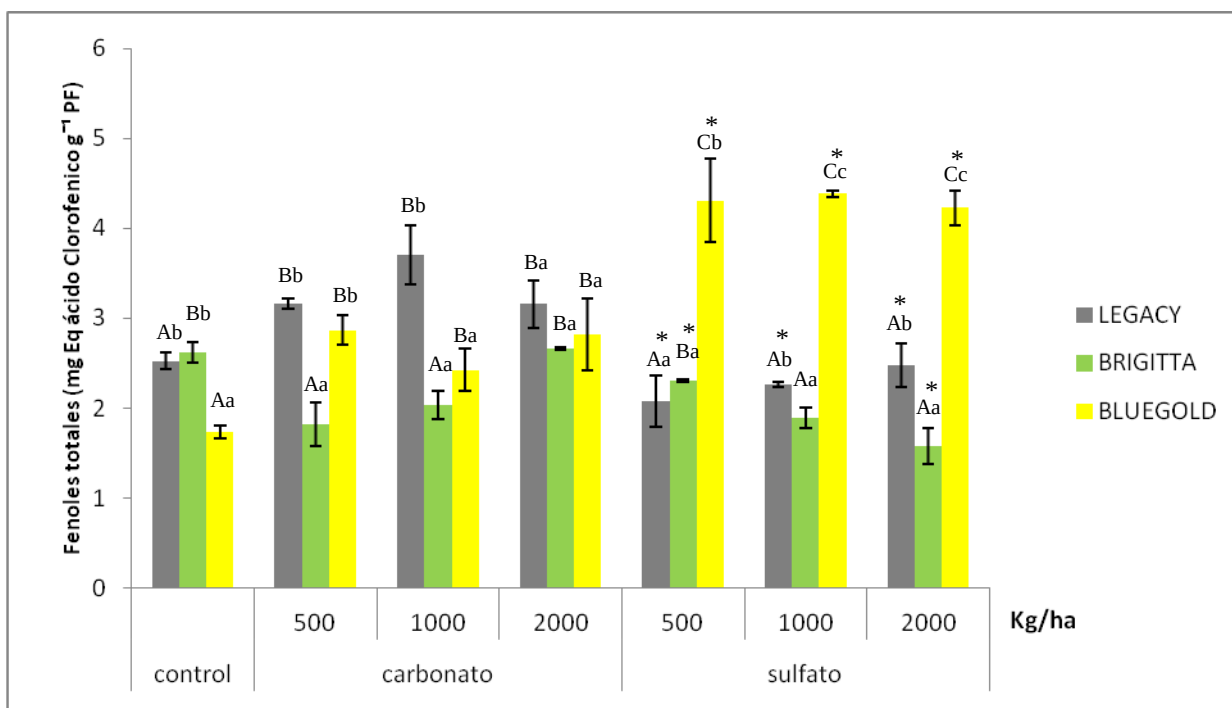


Figura 11. Fenoles totales en frutos de tres cultivares de arándano, bajo la influencia de dos enmiendas calcareas. Los valores son un promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar. Asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar.

4.6 Antocianinas totales en frutos.

En la figura 12 se presentan los resultados obtenidos de antocianinas en frutos. Los resultados expuestos verifican que al igual que en hojas, dentro de la misma especie puede existir variabilidad en el contenido de antocianinas. Esto coincide con lo señalado por Pino et al. (2007), quien observó que los cultivares de arándano alto presentan diferencias significativas en el total de antocianinas en frutos.

Se observa una disminución en el contenido de antocianinas totales con ambos tratamientos para el cv. Legacy con respecto al control, llegando a ser hasta un tercio en el tratamiento de 2000 Kg/ha de carbonato de calcio. En este mismo tratamiento el cultivar Legacy es superado por Bluegold en un 200%, siendo el mayor resultado obtenido. Entre tratamientos también se observaron diferencias, para el caso del cv. Legacy se presenta una disminución en el contenido de antocianinas totales siendo este inversamente proporcional a los Kg. aplicados de carbonato de calcio. Ocurre lo contrario en el tratamiento de sulfato de calcio, ya que el contenido de antocianinas totales aumenta a medida que se aumenta la dosis del tratamiento. En el cv. Bluegold con el tratamiento de carbonato de calcio, se observan valores más altos de antocianinas en las dosis de 500 y 2000 Kg/ha superando en casi un 30% al control, mientras que en el tratamiento con sulfato de calcio se observa una disminución de antocianinas en la dosis de 500 Kg/ha, y un aumento en la dosis de 2000 Kg/ha.

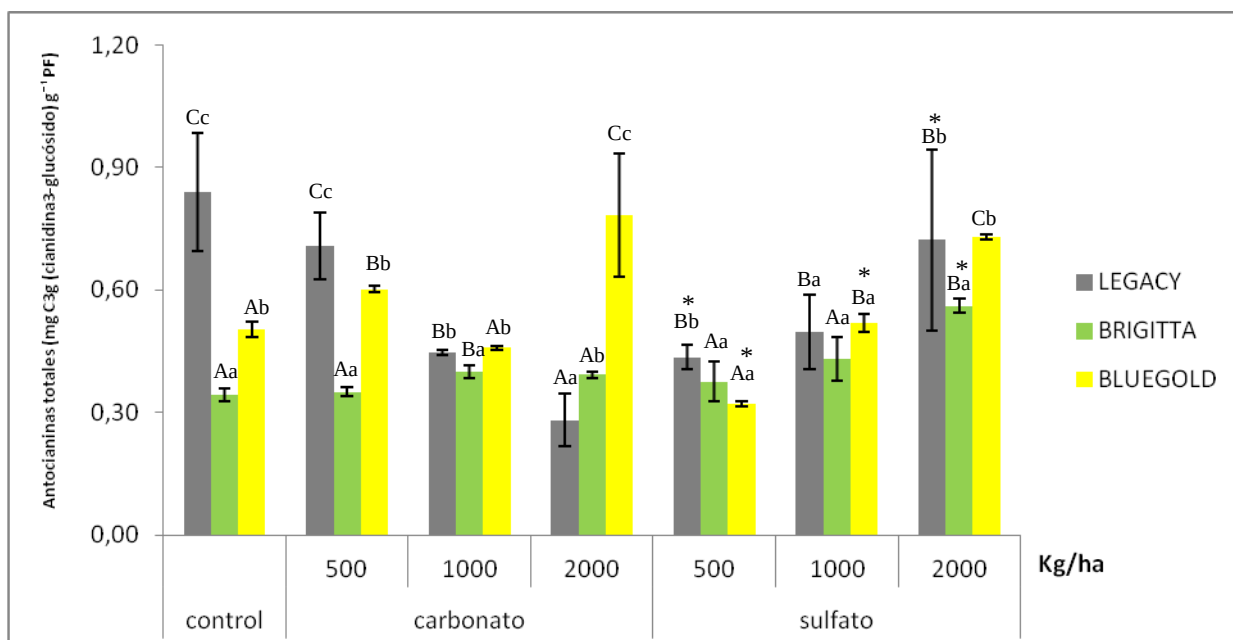


Figura 12. Antocianinas totales en frutos de tres cultivares de arándano bajo, la influencia de dos enmiendas calcareas. Los valores son un promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar. Asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar

4.7 Flavonoides totales en hojas.

Los resultados presentados en la figura 13 muestran diferencias significativas en la concentración de flavonoides totales ($P < 0,05$), esto coincide con lo señalado por Prior et al. (1998); Ehlenfeldt y Prior (2001); Moyer et al. (2002), Connor et al. (2002) y Guerrero (2006) quienes indican que si existen diferencias entre cultivares en el contenido de flavonoides totales, siendo Brigitta con fuente de calcio carbonatada la que presenta los valores más elevados en flavonoides y el cv. Bluegold los más bajos. Para el caso del carbonato de calcio el cultivar Brigitta llega a ser 80% más alto que Bluegold y hasta 30% más que Legacy. Mientras que con sulfato de calcio se presentan diferencias entre variedades en el tratamiento de 2000 Kg/ha, donde Brigitta es mayor que Legacy en un 25% y mayor que Bluegold en un 10%. Entre tratamientos también se observan diferencias, llegando a ser un 30% mayores para el caso de Brigitta con carbonato de calcio como

enmienda. Mientras que para el cultivar Legacy es un 10% mayor con carbonato de calcio. El cv. Bluegold no presenta diferencias significativas entre tratamientos.

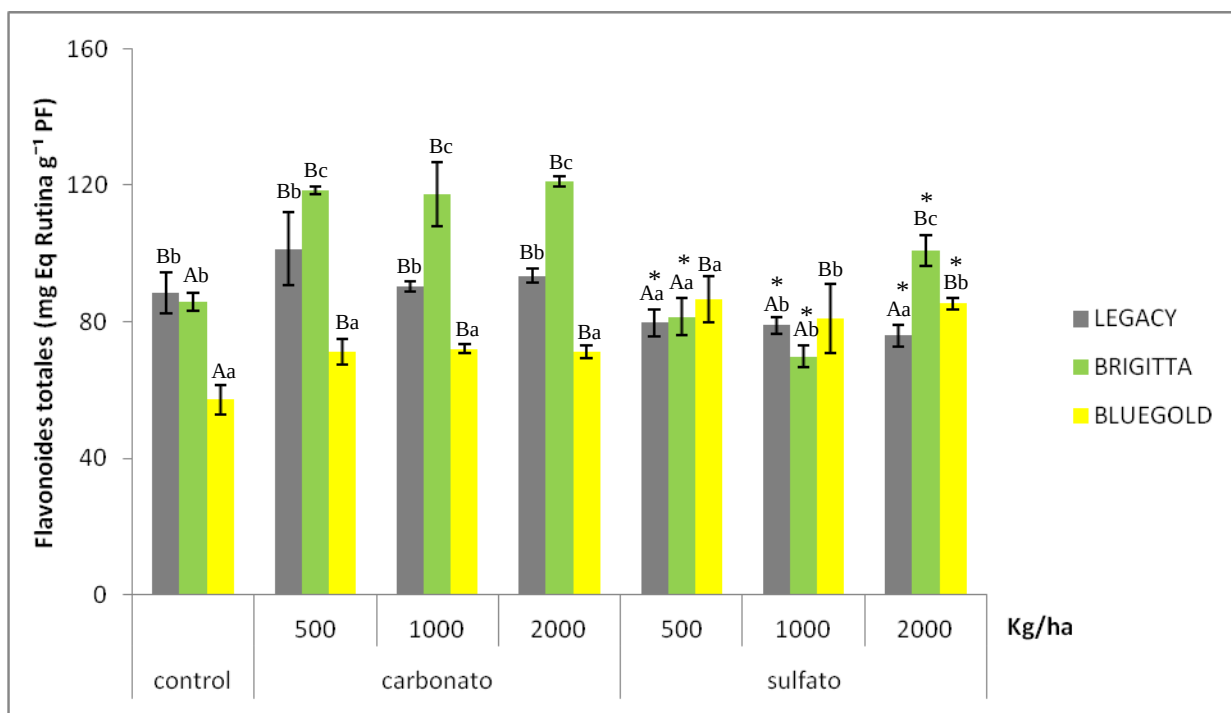


Figura 13. Flavonoides totales en hojas de tres cultivares de arándano, bajo la influencia de dos enmiendas calcareas. Los valores son un promedio de tres réplicas $\pm$ error estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas entre cultivares para un mismo tratamiento. Letras mayúsculas indican diferencias significativas entre distintas dosis para un mismo tratamiento y cultivar. Asterisco (*) indica diferencias significativas entre enmiendas para una misma dosis y cultivar.

5. CONCLUSIONES

Sobre los resultados obtenidos en esta investigación se puede concluir:

- Se produjeron diferencias estadísticamente significativas para todos los compuestos de los frutos y las hojas de tres cultivares de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.), es por esto que se acepta la hipótesis planteada.
- Se observaron diferencias significativas entre tratamientos, por lo que se asume que con éstos se logró disminuir los altos contenidos del aluminio del suelo beneficiando a la planta.
- Tanto para el tratamiento de sulfato de calcio como en el de carbonato de calcio la dosis donde se obtuvieron los mejores resultados de los metabolitos secundarios estudiados es la de 500 Kg/ha.
- El cultivar donde se observaron mayores beneficios tanto en antioxidantes, antocianinas y fenoles fue Bluegold. También en éste se obtuvieron los valores más bajos de peroxidación de lípidos. Esto se pudo apreciar aun más con el calcio en forma de sulfato.
- Los resultados obtenidos son importantes desde el punto de vista del mejoramiento ya que deja en evidencia la variabilidad de las fuentes de calcio y de los cultivares con respecto a sus propiedades químicas, permitiendo seleccionar aquellos que presenten mejores características según los objetivos de la producción de arándanos.

6. RESUMEN

El arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L.) es un arbusto frutal nativo de Norteamérica cuya demanda en esta región ha aumentado considerablemente los últimos años, siendo Chile el país desde donde más se importa dicha fruta. Esta especie posee raíces superficiales, estableciéndose bajo condiciones de suelos ácidos y poco profundos. Por lo tanto, para su correcto desarrollo requiere de ciertas adiciones nutritivas complementarias a la fertilización inicial. El sulfato de calcio constituye una importante fuente de calcio y azufre como enmienda a ciertas condiciones de saturación del suelo sin influir mayormente en los niveles de pH de los suelos de la Región. Así también el carbonato de calcio, que también aporta una cantidad considerable de calcio, ayuda a la corrección de problemas de pH y saturación de aluminio.

Esta investigación tiene por objetivo evaluar el efecto de la aplicación de dos fuentes distintas de calcio (sulfato de calcio y carbonato de calcio) sobre el contenido de aluminio y las características bioquímicas de tres cultivares de arándano alto. Para cumplir con el objetivo se realizaron mediciones de antioxidantes, antocianinas, flavonoides y peroxidación de lípidos en hojas y frutos de tres cultivares de arándano alto.

Según los resultados obtenidos se concluyó que hay diferencias significativas entre tratamientos y también entre cultivares en todos los metabolitos estudiados, por lo que se aceptó la hipótesis planteada. Además, cabe destacar que la investigación es importante desde el punto de vista del mejoramiento, ya que deja en evidencia la variabilidad de las fuentes de calcio y de los cultivares con respecto a sus propiedades químicas, permitiendo seleccionar aquellos que presenten mejores características según los objetivos de la producción de arándanos.

7. SUMMARY

Highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) is a fruit shrub native to North America, where its demand has increased considerably in recent years, being Chile the most important exporting of these fruits. This species has surface roots, developing on acid and shallow soils. Therefore, for its development it requires addition of certain supplementary nutrients to the initial fertilization. Calcium sulfate is an important source of calcium and sulfur as an amendment to some conditions of soil saturation without affecting the pH levels of soils in the region. On the other hand, calcium carbonate also brings a considerable amount of calcium and helps to correct pH problems and aluminum saturation.

This research aims to evaluate the effect of applying two different sources of calcium (calcium sulfate and calcium carbonate) on the aluminum content and the biochemical features of three highbush blueberry cultivars. We measured antioxidants, anthocyanins, flavonoids and lipid peroxidation in leaves and fruits of three cultivars of highbush blueberry for performing this research.

According to the results it was concluded that there are significant differences between treatments and cultivars in all features studied, so the hypothesis was accepted. Besides, it is highlight that the research is important for improvement the nutrient conditions of this species, permitting to select the best cultivars according to the aims of the production.

8. LITERATURA CITADA.

- Aedo, P.** 1994. Efecto de aspersiones de sales de calcio en precosecha sobre frutos de arándano alto cv. Bluecrop. Tesis Ing. Agrónomo. Universidad de La Frontera. Temuco. 83 p.
- Andina, D.** Calcio y magnesio en el suelo. Ingeniero Agrónomo. 3 p.
- Arándano.** Estándar técnico y económico. Servicio de información para la agricultura familiar campesina. Instituto Nacional de Desarrollo Agropecuario (INDAP). 4 p.
- Buzeta, A.** 1997. Arándanos. In: Chile: Berries para el 2000. Fundación Chile. Santiago, Chile. P 53-88.
- Caminti, A.** 2007. Manejo de frutales arbustivos. Ingeniero agrónomo. AER INTA. San Martín de los Andes. 6 p.
- Cerda, R.** 2003. Situación actual del arándano en Chile y el mundo. In Seminario. El cultivo del arándano: tecnologías y avances. Universidad de Concepción. Chillán, Chile. 16 p.
- Centro de información de recursos naturales (CIREN).** 1989. Frutales menores y de hoja persistente. CORFO. 59 p.
- Chang, C., Yang, H., Chern, J.** 2002. Estimación del contenido total de flavonoides en el propóleos por dos métodos colorimétricos complementarios. J. de Alimentos, Drogas Analysis. P 178-182 .
- Connor, A., Luby, J., Finn, C. y Hancock, J.** 2002. Genotypic and environmental variation in antioxidant activity among blueberry cultivars. Acta horticulturae (ISHS). P 209-213.
- Díaz, L.** 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Instituto Superior de Medicina Militar. Revista cubana de medicina militar. Ciudad de la Habana. Cuba. 5 p.
- Dirzo, R.** 1985. Metabolitos secundarios en las plantas. 9 p.
- Ehlenfeldt, M. y Prior, R.** 2001. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and phenolics and anthocyanin concentrations in fruits and leaf tissues of highbush blueberry. J. Agric. Food Chem. 49: P 2222-2227.
- Fageria, V.** 2001. Nutrient interactions in crop plants. Journal of Plant Nutrition. P 1269-1290.

- Gámez, M.** 2007. Situación de los mercados de exportación de tres frutas en expansión: paltas, arándanos y cerezas. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Santiago, Chile. Visitada en junio del 2011
<http://www.odepa.gob.cl/servlet/articulos.ServletMostrarDetalle;jsessionid=CFDE4FE89DB6888F27F92200F40ED4AF?idcla=2&idcat=5&idclase=99&idn=2017&volver=1>
- Garren, R.** Riego y poda en arándanos. P 75-79
- Guerrero, J.** Capacidad antioxidante, fenoles y antocianinas totales e inhibición de Botrytis cinerea Pers. Ex Fr. por extractos crudos de fruta de cultivares de arándano alto (Vaccinium corymbosum L.) según localidades de la zona sur de Chile. Tesis Doctor en Ciencias Agrarias. Universidad Austral de Chile. Valdivia, Chile. 121 p.
- Gough, R.** 1994. The highbush blueberry and its management. Food Products Press. New York, USA. 272 p.
- INDAP.** Mercado del arándano en Chile. Departamento Desarrollo empresarial. IX Región. 2003. 10 p.
- INFOAGRO.** 2006. El cultivo del arándano. Visitada en noviembre del 2011
http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tropicales/arandano.htm.
- Kuskoski, M., Asuero, A., García, C., Troncoso, A. y Fett, R.** 2004. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. Departamento de Análisis Químico y Departamento de Bioquímica, Bromatología y Toxicología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. Itacorubi, Florianópolis.. 3 p.
- Marschner, H.** 1991. Mechanisms of adapattion of plants to acid soil. Plant and soil. p 1-20.
- Montero, M.** 1999. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Santiago de Compostela. España. 3 p.
- Moyer, R., Hummer, K., Finn, C., Frei, B. y Wrolstad, R.** 2002. Anthocyanins, phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus and Ribes. J. Agric. Food Chem. 50, p 519-525.
- Muñoz, C.** 1998. Arándano: Antecedentes generales. Instituto de investigaciones agropecuarias Carrillanca. Seminario: El cultivo del arándano. Temuco, 30 Noviembre, 1 y 2 de Diciembre de 1998. P 5-16.
- Pino, C.** 2007. Descripción del desarrollo vegetativo y de las características físicas y químicas de los frutos de cuatro clones de arándano alto (Vaccinium corymbosum L.). Tesis licenciatura en agronomía. Universidad Austral de Chile. Valdivia. 74 p.

- Prior, R., Cao, G.; Martin, A., Sofic, E., McEwen, J., O'brien, C., Lischner, N., Ehlenfeldt, M., Kalt, W., Krewer, G. y Mainland, M.** 1998. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of *Vaccinium* Species. *J. Agric. Food Chem.* 46: P 2686-2693.
- Reyes, M.** 2009. Comercio exterior frutícola en la temporada 2007/08 y perspectivas para 2009. Oficina de Estudios y Políticas Agrarias (ODEPA). Santiago, Chile. 10 p.
- Reyes, M., Alberdi, M. y Mora, M.** 2009. Short-term Aluminum Stress Differentially Affects the Photochemical Efficiency of Photosystem II in Highbush Blueberry Genotypes. Centro de Ciencias y Biotecnología de Recursos Naturales. Universidad de La Frontera. Temuco, Chile. 8 p.
- Reyes, M., Inostroza, C., Millaleo, R., Cruces, E., Wulff, C., Alberdi, M. y Mora, M.** 2010. Long-term Aluminum Exposure Effects on Physiological and Biochemical Features of Highbush Blueberry Cultivars. 11 p.
- Ribera, A., Reyes, M., Alberdi, M., Zuñiga, G. y Mora, M.** 2010. Antioxidant compounds in skin and pulp of fruits change among genotypes and maturity stages in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) grown in southern chile. 28 p.
- Rubilar, E.** 2004. Evaluación del efecto de la aplicación de calcio en frutos de arándano alto (*Vaccinium corymbosum* L. cv. Patriot). Tesis Ing. Agrónomo. Universidad de Concepción, Chile. 24 p.
- Sapers, G., Burgher, A., Phillips, J. y Jones, S.** 1984. Color and composition of highbush blueberry cultivars. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* P 105-111.
- Shellappan, S.; Akoh, C. y Krewer, G.** 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J. Agric. Food Chem.* P 519-525.
- Sudzuki, H.** 1993. Proyecto: "Frutales menores: Nuevas alternativas de cultivo. Universidad de Chile. Convenio: FIA-Universidad de Chile. Santiago, Chile. 286 p.
- Toneatti, M. and Rivera, N.** 2005. Ensayos de tolerancia de Aluminio de *Bromus stamineus* y *Bromus lithobius* recolectados en el Sur de Chile. *Información Tecnológica.* (Chile). P 9-17.
- Tosso, J.** 1985. Suelos volcánicos de Chile. Instituto de Investigaciones Agropecuarias.
- Velioglu, Y.; Mazza, G.; Cao, L. y Oomah, B.** 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. *J. Agric. Food Chem.* P 4113-4117.

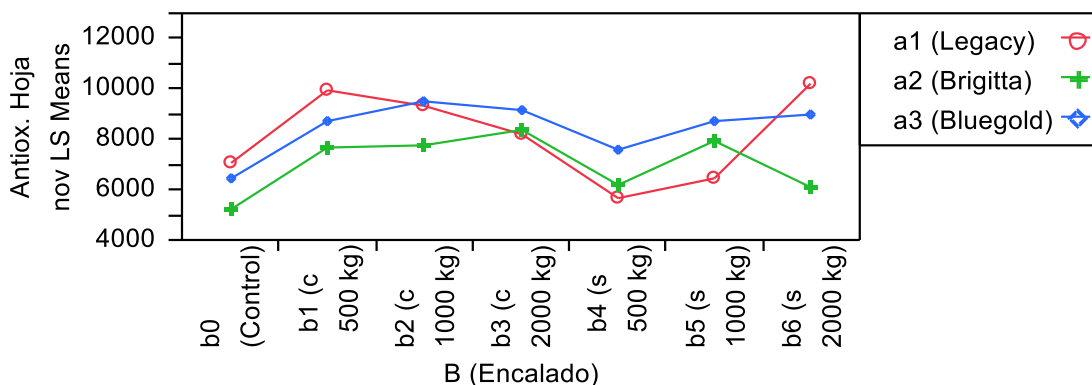
Yamamoto, Y., Masamoto, K., Rikiishis., S., nachiya, A., Yamaguchi, Y., and Matsumoto, H. 1996. aluminium tolerance adquired during phosphate starvation. Cultured tobacco cells. Plant physiology. P 217-227.

9. ANEXOS

Anexo 1. ANOVA antioxidantes noviembre

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	7,077	10,2606	0,0081*
B (Encalado)	6	6	19,72	7,4257	0,0003*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	37,8	2,8919	0,0063*

La interacción entre variedad y encalado es **mayor** a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados significativos.



Anexo 2. Prueba de Tukey

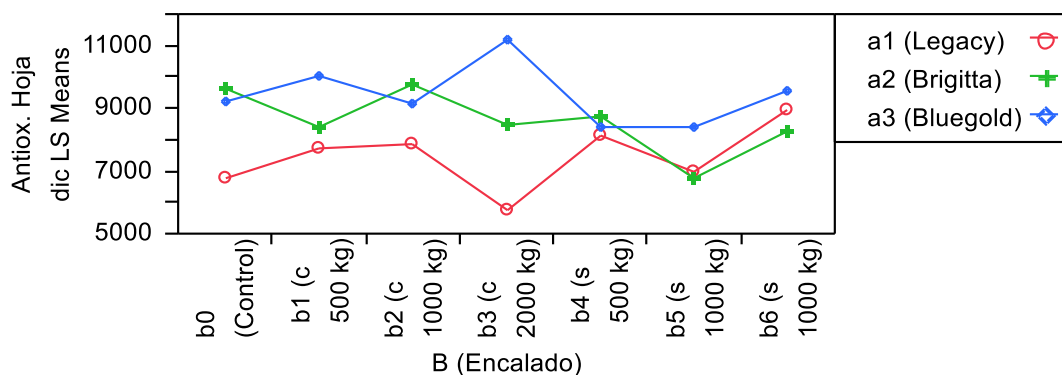
Level						Least Sq Mean
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)	A					10244,843
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)	A					9951,584
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)	A	B				9544,488
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)	A	B	C			9353,909
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)	A	B	C			9159,631
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)	A	B	C	D		9001,504
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)	A	B	C	D		8755,074
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)	A	B	C	D		8690,854
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)	A	B	C	D	E	8363,072
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)	A	B	C	D	E	8176,559
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)	A	B	C	D	E	7904,374
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	D	E	7774,209
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)	A	B	C	D	E	7710,360
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)	A	B	C	D	E	7553,836
a1 (Legacy),b0 (Control)	A	B	C	D	E	7041,919

Level						Least Sq Mean
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)		B	C	D	E	6489,081
a3 (Bluegold),b0 (Control)		B	C	D	E	6442,644
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)		B	C	D	E	6195,617
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)			C	D	E	6073,044
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)				D	E	5696,671
a2 (Brigitta),b0 (Control)					E	5243,371

Anexo 3. ANOVA antioxidantes diciembre

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	8,975	10,3359	0,0047*
B (Encalado)	6	6	15,76	1,9976	0,1268
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	29,01	2,9365	0,0087*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados significativos.



Anexo 4. Prueba de Tukey

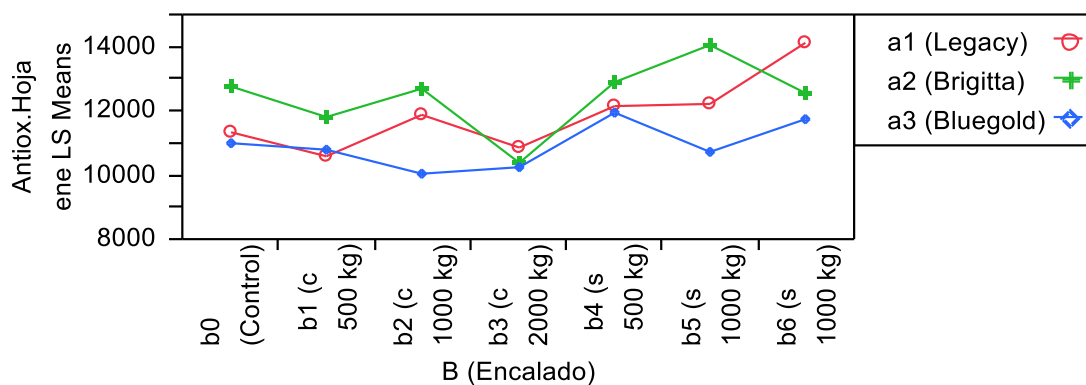
Level				Least Sq Mean
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)	A			11179,652
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)	A	B		10060,339
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)	A	B		9775,253
a2 (Brigitta),b0 (Control)	A	B		9604,773
a3 (Bluegold),b6 (s 1000 kg)	A	B		9550,400
a3 (Bluegold),b0 (Control)	A	B	C	9189,953
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	9151,397
a1 (Legacy),b6 (s 1000 kg)	A	B	C	8912,136
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)	A	B	C	8747,927

Level				Least Sq Mean
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)	A	B	C	8451,264
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)	A	B	C	8399,284
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)	A	B	C	8367,213
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)	A	B	C	8365,602
a2 (Brigitta),b6 (s 1000 kg)	A	B	C	8241,840
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)	A	B	C	8107,636
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	7869,619
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)		B	C	7713,699
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)		B	C	6946,250
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)		B	C	6794,100
a1 (Legacy),b0 (Control)		B	C	6777,784
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)			C	5771,729

Anexo 5. ANOVA antioxidantes enero

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	7,863	27,3199	0,0003*
B (Encalado)	6	6	21,55	5,9002	0,0009*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	32,52	2,7642	0,0105*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados significativos.



Anexo 6. Prueba de Tukey

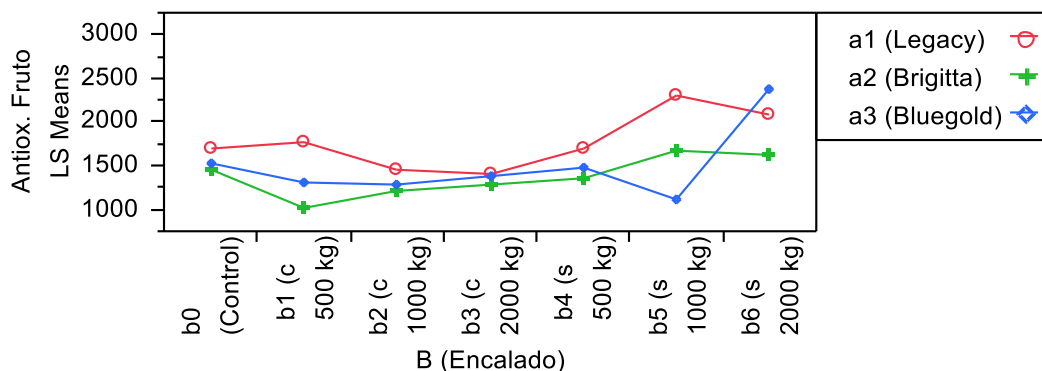
Level				Least Sq Mean
a1 (Legacy),b6 (s 1000 kg)	A			14130,022
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)	A			14065,428
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)	A	B		12895,207
a2 (Brigitta),b0 (Control)	A	B	C	12776,230
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	12700,518

Level					Least Sq Mean
a2 (Brigitta),b6 (s 1000 kg)	A	B	C	D	12566,059
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)	A	B	C	D	12218,318
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)	A	B	C	D	12126,783
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)	A	B	C	D	11964,809
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	D	11868,407
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)	A	B	C	D	11806,026
a3 (Bluegold),b6 (s 1000 kg)	A	B	C	D	11766,483
a1 (Legacy),b0 (Control)		B	C	D	11334,405
a3 (Bluegold),b0 (Control)		B	C	D	10977,097
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)		B	C	D	10833,780
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)		B	C	D	10806,309
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)		B	C	D	10693,907
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)		B	C	D	10616,335
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)		B	C	D	10356,169
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)			C	D	10249,368
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)				D	10036,749

Anexo 7. ANOVA antioxidantes fruto

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	6,501	57,8971	<,0001*
B (Encalado)	6	6	22,62	6,1146	0,0006*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	35,12	5,1572	<,0001*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados altamente significativos.



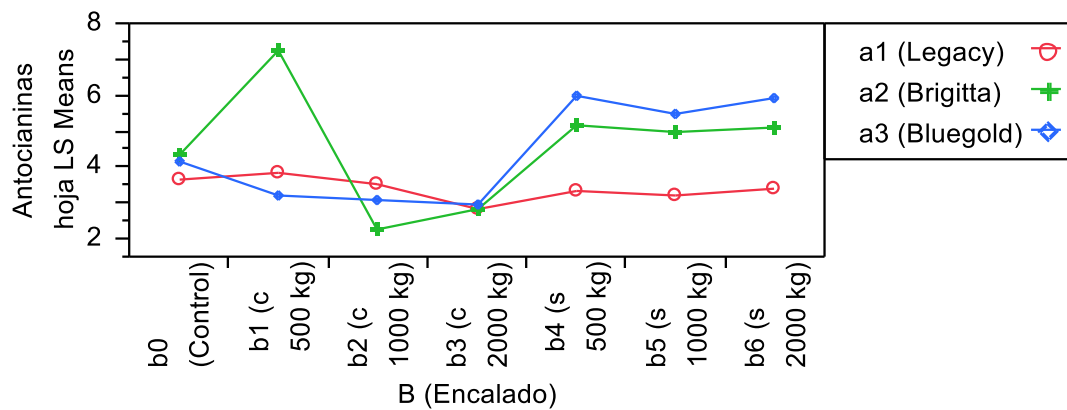
Anexo 8. Prueba de Tukey

Level							Least Sq Mean
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)	A		C				2383,2084
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)	A	B					2311,5026
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)	A	B	C	D			2095,7260
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)	A	B	C	D	E		1758,2303
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)	A	B	C	D	E	F	1691,0149
a1 (Legacy),b0 (Control)	A	B	C	D	E	F	1688,5393
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)			C	D	E	F	1673,3526
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)		B		D	E	F	1614,0040
a3 (Bluegold),b0 (Control)				D	E	F	1521,7055
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)				D	E	F	1475,2762
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)				D	E	F	1465,9121
a2 (Brigitta),b0 (Control)				D	E	F	1461,8102
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)				D	E	F	1416,9161
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)				D	E	F	1389,2604
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)					E	F	1363,6173
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)					E	F	1317,9218
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)					E	F	1290,1014
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)					E	F	1288,7165
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)					E	F	1210,4553
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)					E	F	1115,2864
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)						F	1021,6643

Anexo 9. ANOVA antocianinas hoja

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	7,13	61,1668	<,0001*
B (Encalado)	6	6	26,52	18,8463	<,0001*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	41,17	11,1874	<,0001*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados altamente significativos.



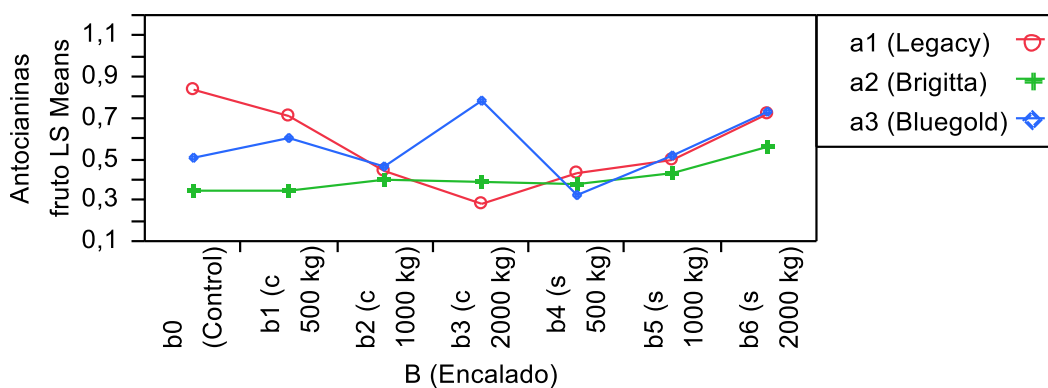
Anexo 10. Prueba de Tukey

Level								Least Sq Mean
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)	A							7,2153379
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)	A	B						5,9646451
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)	A	B						5,9160579
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)		B	C					5,4773708
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)		B	C	D				5,1399000
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)		B	C	D				5,0775834
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)		B	C	D	E			4,9742985
a2 (Brigitta),b0 (Control)		B	C	D	E	F		4,3458238
a3 (Bluegold),b0 (Control)			C	D	E	F		4,1349286
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)			C	D	E	F	G	3,8205259
a1 (Legacy),b0 (Control)				D	E	F	G	3,6454890
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)				D	E	F	G	3,5143463
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)					E	F	G	3,3756242
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)					E	F	G	3,3414974
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)						F	G	3,2041357
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)						F	G	3,1954734
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)						F	G	3,0772229
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)						F	G	2,9331834
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)						F	G	2,8323813
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)						F	G	2,8236199
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)							G	2,2820052

Anexo 11. ANOVA antocianinas fruto

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	9,747	22,1060	0,0002*
B (Encalado)	6	6	30,49	5,6444	0,0005*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	58,75	2,9348	0,0030*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados significativos.



Anexo 12. Prueba de Tukey

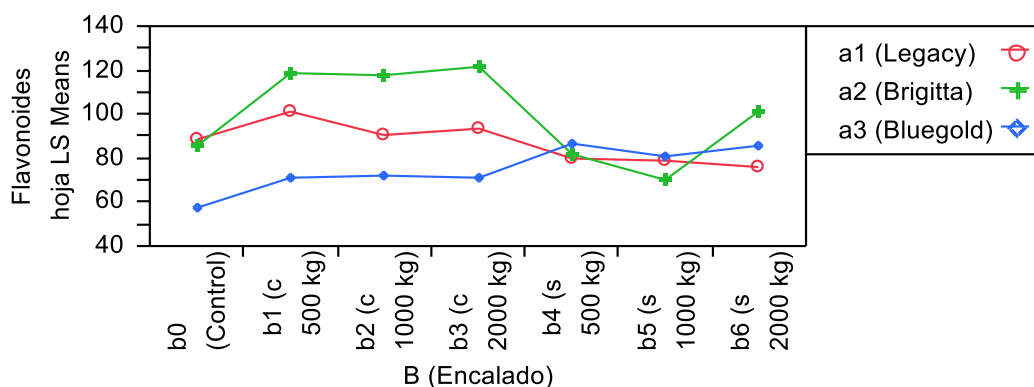
Level					Least Sq Mean
a1 (Legacy),b0 (Control)	A				0,83979570
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)	A	B			0,78415445
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)	A	B	C		0,72983655
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)	A	B	C		0,72229722
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)	A	B	C	D	0,70739694
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)	A	B	C	D	0,60167720
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)	A	B	C	D	0,56023324
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)	A	B	C	D	0,51782617
a3 (Bluegold),b0 (Control)	A	B	C	D	0,50286749
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)	A	B	C	D	0,49756387
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	D	0,45788420
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)	A	B	C	D	0,44689028
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)	A	B	C	D	0,43551519
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)		B	C	D	0,43036037
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)		B	C	D	0,39834922

Level					Least Sq Mean
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)		B	C	D	0,39204660
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)			C	D	0,37498612
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)			C	D	0,34970209
a2 (Brigitta),b0 (Control)			C	D	0,34165671
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)			C	D	0,32063606
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)				D	0,28126207

Anexo 13. ANOVA Flavonoides hoja

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	5,083	140,4186	<,0001*
B (Encalado)	6	6	30,94	7,5984	<,0001*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	50,92	6,9087	<,0001*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados altamente significativos.



Anexo 14. Prueba de Tukey

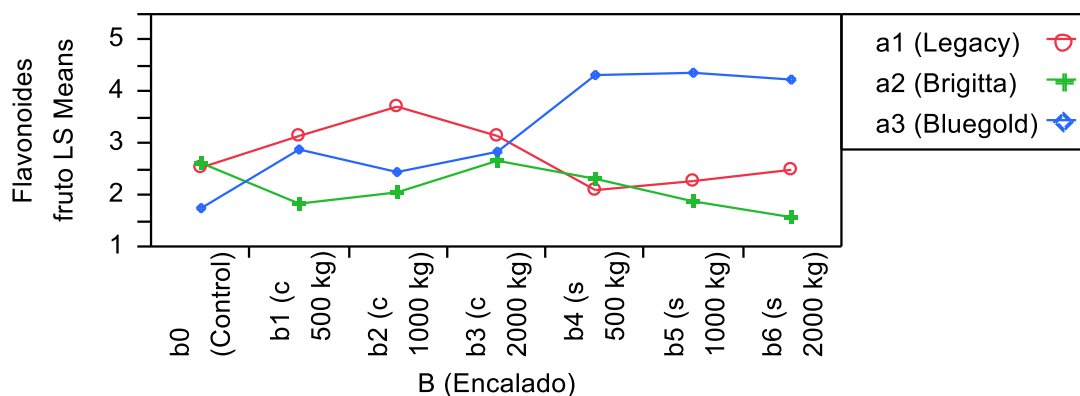
Level					Least Sq Mean
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)	A				121,15721
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)	A	B			118,46211
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)	A	B			117,40103
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)	A	B	C		101,29845
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)	A	B	C		100,82988
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)		B	C	D	93,48515
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)			C	D	90,29308
a1 (Legacy),b0 (Control)			C	D	88,52179
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)			C	D	86,59626

Level						Least Sq Mean
a2 (Brigitta),b0 (Control)			C	D		85,83900
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)			C	D	E	85,31159
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)			C	D	E	81,51000
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)			C	D	E	80,92114
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)			C	D	E	79,73641
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)			C	D	E	78,92548
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)			C	D	E	75,92839
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)				D	E	72,10991
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)				D	E	71,20028
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)				D	E	71,15863
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)				D	E	69,82333
a3 (Bluegold),b0 (Control)					E	57,21140

Anexo 15. ANOVA Flavonoides fruto

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	13,72	39,2320	<,0001*
B (Encalado)	6	6	13,64	5,5749	0,0041*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	41,76	12,7714	<,0001*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados altamente significativos.



Anexo 16. Prueba de Tukey

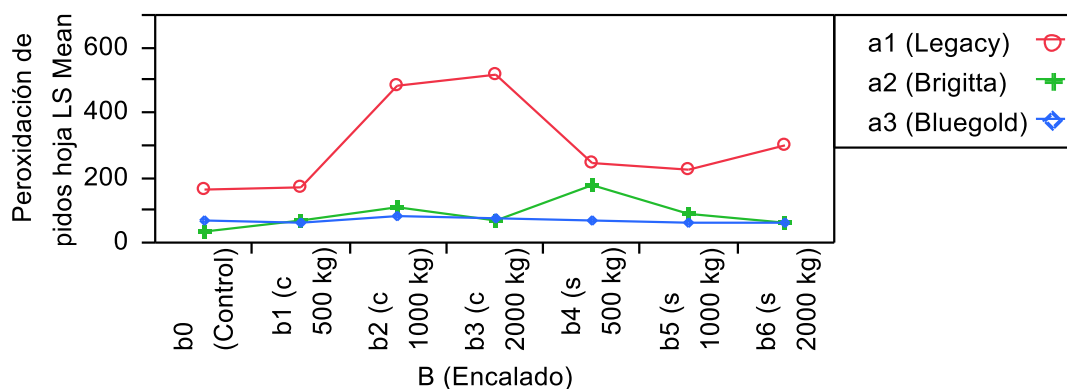
Level						Least Sq Mean
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)	A					4,3829275
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)	A					4,3084532
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)	A	B				4,2264008

Level							Least Sq Mean
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)	A	B	C				3,7034444
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)		B	C	D			3,1590212
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)		B	C	D			3,1543553
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)			C	D	E		2,8637801
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)			C	D	E		2,8171896
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)			C	D	E	F	2,6651329
a2 (Brigitta),b0 (Control)			C	D	E	F	2,6129270
a1 (Legacy),b0 (Control)				D	E	F	2,5259826
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)				D	E	F	2,4818041
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)			C	D	E	F	2,4254148
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)				D	E	F	2,3019030
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)				D	E	F	2,2636983
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)				D	E	F	2,0704893
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)				D	E	F	2,0378166
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)					E	F	1,8897132
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)					E	F	1,8162356
a3 (Bluegold),b0 (Control)					E	F	1,7304757
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)						F	1,5794863

Anexo 17. ANOVA peroxidación de lípidos hoja

Source	Nparm	DF	DFDen	F Ratio	Prob > F
A (Variedad)	2	2	9,15	1208,317	<,0001*
B (Encalado)	6	6	50,02	12,7386	<,0001*
A (Variedad)*B (Encalado)	12	12	49,64	9,8291	<,0001*

La interacción entre variedad y encalado es mayor a 0,05 lo que nos indica que rechazamos la hipótesis nula de igualdad de medias con resultados altamente significativos.



Anexo 18. Prueba de Tukey

Level						Least Sq Mean
a1 (Legacy),b3 (c 2000 kg)	A					514,79723
a1 (Legacy),b2 (c 1000 kg)	A					479,51959
a1 (Legacy),b6 (s 2000 kg)		B				298,48219
a1 (Legacy),b4 (s 500 kg)		B				243,10553
a1 (Legacy),b5 (s 1000 kg)		B	C			223,25338
a2 (Brigitta),b4 (s 500 kg)		B	C	D		175,56411
a1 (Legacy),b1 (c 500 kg)		B	C	D		168,46012
a1 (Legacy),b0 (Control)		B	C	D	E	165,67586
a2 (Brigitta),b2 (c 1000 kg)			C	D	E	106,16318
a2 (Brigitta),b5 (s 1000 kg)				D	E	88,99116
a3 (Bluegold),b2 (c 1000 kg)				D	E	78,64860
a3 (Bluegold),b3 (c 2000 kg)				D	E	73,46674
a3 (Bluegold),b4 (s 500 kg)				D	E	71,05760
a2 (Brigitta),b1 (c 500 kg)				D	E	70,98755
a2 (Brigitta),b3 (c 2000 kg)				D	E	69,32004
a3 (Bluegold),b0 (Control)				D	E	68,52346
a2 (Brigitta),b6 (s 2000 kg)				D	E	63,97971
a3 (Bluegold),b5 (s 1000 kg)				D	E	61,54343
a3 (Bluegold),b6 (s 2000 kg)				D	E	59,15594
a3 (Bluegold),b1 (c 500 kg)				D	E	58,55311
a2 (Brigitta),b0 (Control)					E	34,26795